

XV Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28º

Encontro de Iniciação Científica da UENF

20º

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16º

Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23ª

Mostra de Pós-Graduação da UENF

8ª

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8ª

Mostra de Pós-Graduação da UFF

Otimização das condições de cultivo de larvas de *Galleria mellonella* para investigar o papel de tiol peroxidases na virulência de *Pseudomonas aeruginosa*.

Júlia Mello da Silva¹, Louyse Rangel Chagas¹, Rafaela Pinheiro Coelho¹, Luis Eduardo Soares Netto², Diogo de Abreu Meireles¹

¹Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos, UENF ²Instituto de Bociências, USP.

A traça-da-cera, como é chamada *G. mellonella*, é muito utilizada como modelo de estudo *in vivo* em pesquisas científicas, sendo um modelo invertebrado que pode substituir o uso de mamíferos. *G. mellonella* possui o sistema imunológico semelhante em estrutura e função ao sistema imune inato de mamíferos. Dados na literatura corroboram este fato, já que genes sabidamente envolvidos com a virulência em mamíferos também se mostram importantes no modelo de infecção de *G. mellonella*. *P. aeruginosa* é uma bactéria ubíqua, gram-negativa com um metabolismo extremamente versátil. É um patógeno oportunista, capaz de causar infecções agudas e crônicas em indivíduos imunocomprometidos. Durante o processo de infecção, as células fagocíticas do sistema imune do hospedeiro produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) com o objetivo de eliminar o patógeno e, *P. aeruginosa* conta com um conjunto de enzimas antioxidantes para se proteger contra a ação de EROs. Existem cerca de 14 genes que codificam proteínas da família das tiol peroxidases anotados no genoma de *P. aeruginosa* cuja função ainda é pouco estudada. Este trabalho tem o objetivo de estabelecer e padronizar as condições de cultivo de larvas de *G. mellonella* para serem usadas no estudo do componente oxidativo envolvido com a resposta do hospedeiro à infecção, além de determinar o perfil de crescimento das linhagens de *P. aeruginosa* selvagem (PA14) e dos mutantes nulos nos genes *lasR* e *ahpC1*. As linhagens foram cultivadas em erlenmeyer contendo 20% do volume máximo do meio de cultura LB (Lysogenic Broth) e M9 suplementado com glicose. Os frascos foram incubados sob agitação de 175 rpm a uma temperatura de 37 °C e a DO_{600nm} medida em intervalos regulares até a fase estacionária. Durante o cultivo, não foram observados defeitos de crescimento entre as linhagens nos diferentes meios de cultura testados. As larvas de *G. mellonella* foram gentilmente cedidas e estão sendo cultivadas em recipientes adequados com temperatura, umidade e dieta controlada. As larvas foram submetidas a um ensaio experimental utilizando tampões MgSO₄, PBS e água ultrapura e não foi observado a morte significativa das larvas. Posteriormente, as larvas serão inoculadas com 10 µL de diferentes concentrações de células, na última proleg inferior à direita, em que será otimizado todo o processo de inoculação. Além disso, haverá a confirmação dos mutantes nulos pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e a confirmação fenotípica dos mutantes nulos por ensaio de sensibilidade aos hidroperóxidos pela determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) ou das unidades formadoras de colônias (u.f.c.).

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF

Eixo temático: Bociências

Fomento da bolsa (quando aplicável): PIBIC UENF

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



U III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Optimization of culture conditions for *Galleria mellonella* larvae to investigate the role of thiol peroxidases on *Pseudomonas aeruginosa* virulence.

Júlia Mello da Silva¹, Louyse Rangel Chagas¹, Rafaela Pinheiro Coelho¹, Luis Eduardo Soares Netto², Diogo de Abreu Meireles¹

¹Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos, UENF ²Instituto de Biociências, USP.

G. mellonella (greater wax moth) is widely used as an *in vivo* model organism in scientific research, being an invertebrate model that can replace the use of mammals. *G. mellonella* has an immune system similar in structure and function to the mammalian innate immune system. Indeed, it has been shown that genes known to be involved with virulence in mammals are also relevant in the *G. mellonella* infection model. *P. aeruginosa* is a ubiquitous, gram-negative bacterium with an extremely versatile metabolism. It is an opportunistic pathogen capable of causing acute or chronic infections in immunocompromised individuals. During the infection process, the phagocytic cells of the host's immune system produce Reactive Oxygen Species (ROS) to kill pathogens, and *P. aeruginosa* relies on a set of antioxidant enzymes to protect itself against the action of ROS. There are about 14 genes annotated in the genome of *P. aeruginosa* encoding for proteins from the family of thiol peroxidases whose function is still poorly studied. This work aims to establish and standardize the cultivation conditions of *G. mellonella* larvae to be used in the study of the oxidative component involved in the host response to infection. In addition we will compare the growth profile of wild type *P. aeruginosa* (PA14) with null mutants in the *lasR* and *ahpC1* genes. The strains were cultivated in an Erlenmeyer flask containing 20% of the maximum volume of LB (Lysogenic Broth) and M9 culture medium supplemented with glucose. The flasks were incubated under agitation at 175 rpm at a temperature of 37°C and the OD_{600nm} measured at regular intervals until the stationary phase. During cultivation, no growth defects were observed between the strains in the different culture media tested. *G. mellonella* larvae were kindly donated and are rearing in suitable containers with controlled temperature, humidity and diet. The larvae were submitted to an experimental test using MgSO₄ and PBS buffers and ultrapure water and no significant death of the larvae was observed. Subsequently, the larvae will be inoculated with 10 µL of different concentrations of bacterial cells, in the hindmost right proleg, where the entire inoculation process will be optimized. In addition, the genotypes and phenotypes of *P. aeruginosa* null mutant strains will be confirmed by the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique and by hydroperoxide sensitivity assay (MIC or c.f.u.), respectively.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF

Eixo temático: Biociências

Fomento da bolsa (quando aplicável): PIBIC UENF

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

