

XV Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o

Círculo de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a

Jornada de Iniciação Científica da UFF



UIII 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

Investigação sobre o efeito da ausência da glutatona peroxidase (GPx), uma tiol peroxidase, em fenótipos relacionados com a virulência de *Pseudomonas aeruginosa*.

Louyse Rangel Chagas¹, Júlia Mello da Silva¹, Igor Nascimento de Carvalho¹,
Luis Eduardo Soares Netto², Diogo de Abreu Meireles¹.

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

P. aeruginosa é uma bactéria gram-negativa, aeróbia, ubíqua que possui um metabolismo extremamente versátil. É um patógeno oportunista, podendo causar infecções graves em pacientes imunocomprometidos. É capaz de formar biofilme, o que dificulta a ação de agentes saneantes e antibióticos, estando na lista dos três patógenos mais críticos com relação à iminente escassez de terapias antimicrobianas disponíveis, segundo a OMS. Algumas espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas naturalmente pelo organismo por reduções parciais do O₂ durante a respiração celular ou pelas células fagocíticas do sistema imune inato que atuam na eliminação de patógenos. *P. aeruginosa* possui um vasto repertório enzimático dedicado à remoção desses oxidantes. As GPxs pertencem à família das tiol peroxidases que, em eucariotos, possuem um papel importante na detoxificação de hidroperóxidos orgânicos gerados pela ação de fontes endógenas e exógenas de EROs. Deste modo, este projeto visa estudar essa classe de enzimas, através da caracterização fenotípica do mutante nulo no gene *gpx*, cujo papel em *P. aeruginosa*, e em bactérias de maneira geral ainda não é bem compreendido. O mutante nulo não polar no gene *gpx* (Δgpx) foi criado a partir da linhagem PA14 pela metodologia de troca alélica no Instituto de Biociências da USP. Inicialmente, a deleção do gene *gpx* no cromossomo da linhagem PA14 foi confirmada pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Em seguida, foi analisado o perfil de crescimento das linhagens *P. aeruginosa* selvagem (*wt*) e Δgpx em meio LB e em meio mínimo M9 suplementado com glicose, citrato e casaminoácidos. Não foram observadas diferenças no crescimento em meio rico, contudo em meio suplementado com glicose, a linhagem Δgpx apresentou discreto defeito no crescimento quando comparada a linhagem *wt*. Embora não tenha sido observada diferenças no crescimento das linhagens em meio M9 suplementado com citrato e casaminoácidos, a linhagem Δgpx apresentou uma maior produção de piocianina em relação à linhagem selvagem quando cultivada na presença de citrato, fato que será investigado. Também foram realizados ensaios de formação de biofilme em tubos de vidro e não foram observadas diferenças entre as linhagens no biofilme formado após 24 horas de ensaio. O perfil de sensibilidade ao hidroperóxido tert-butil (tBOOH), um hidroperóxido orgânico, foi testado pelo ensaio de mínima concentração inibitória (MCI). Resultados preliminares, mostraram que a linhagem Δgpx não apresentou sensibilidade ao tBOOH. Será investigado também o efeito da ausência da GPx na motilidade do tipo twitching, swarming e swimming e no perfil de resistência a antibióticos.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: IC

Eixo temático: Biociências

Fomento da bolsa (quando aplicável): CNPq

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

Investigation of absence of glutathione peroxidase (GPx), a thiol peroxidase, on virulence-related phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa*.

Louyse Rangel Chagas¹, Júlia Mello da Silva¹, Igor Nascimento de Carvalho¹,
Luis Eduardo Soares Netto², Diogo de Abreu Meireles¹.

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

P. aeruginosa is a gram-negative, aerobic, ubiquitous bacterium with an extremely versatile metabolism. It's an opportunistic pathogen that can cause severe infections in immunocompromised patients and it has the ability to form antimicrobial-resistant biofilms. According to the WHO, *P. aeruginosa* are in the most critical group regarding the urgency of need for new antibiotics. Reactive oxygen species (ROS) are naturally produced by the body through partial reductions of O₂ during cellular respiration process or during host-pathogen interaction, by phagocytic cells of the innate immune system. *P. aeruginosa* possesses a robust enzymatic repertoire dedicated to the removal of these oxidants. The GPxs belong to the family of thiol peroxidases which, in eukaryotes, play an important role in the detoxification of organic hydroperoxides generated by the action of endogenous and exogenous sources of ROS. Thus, this project aims to study the role of this class of enzyme in virulences through the phenotypic characterization of the null mutant in the *gpx* gene, whose role in *P. aeruginosa*, and in other bacteria as well, is still not well understood. The non-polar null mutant strain in the *gpx* gene (Δgpx) was created from the wild-type PA14 strain (*wt*) using allelic exchange methodology at the Institute of Biosciences of the University of São Paulo. Initially, the genotype of Δgpx strain was confirmed using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. Then, the growth profile of the *wt* and Δgpx *P. aeruginosa* strains was analyzed in LB medium and minimal M9 medium supplemented with glucose, citrate, and casamino acids. No growth defects were observed in rich medium; however, in glucose-supplemented M9 medium, the Δgpx strain showed a slight growth defect compared to the *wt* strain. Although no differences in the growth rate were observed between the strains in M9 medium supplemented with citrate and casamino acids, the Δgpx strain exhibited increased pyocyanin production compared to the *wt* strain when cultivated in the presence of citrate. This result needs to be further investigated. Biofilm formation assays were also performed in glass tubes, and no differences were observed between the strains in the biofilm formed after 24 hours. The sensitivity profile to tert-butyl hydroperoxide (tBOOH), an organic hydroperoxide, was tested using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) assay. Preliminary results showed that the Δgpx strain did not exhibit increased sensitivity to tBOOH compared to *wt* strain. The effect of GPx absence on *P. aeruginosa*'s twitching, swarming and swimming motility and antibiotic resistance profile will also be investigated.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

