

Utilização de metabólitos de fungos filamentosos na modulação dos biofilmes de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*

William Lopes^{1,2}, Marilene Henning Vainstein².

¹ Aluno de graduação em Farmácia; ² Centro de Biotecnologia, UFRGS.

INTRODUÇÃO

As leveduras patogênicas *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* são os agentes causadores da criptococose, uma infecção que acomete o sistema nervoso central, ocasionando meningite. Essas leveduras podem se desenvolver na forma de biofilmes aderidos a superfícies abióticas. Micro-organismos em biofilmes podem causar infecções difíceis de tratar, devido ao revestimento que protege as células da ação de antifúngicos ou do sistema imunológico do paciente. Biofilmes de *Cryptococcus* spp. podem estar associados a válvulas cerebrais, tubos de derivação (*shunts*) utilizados para drenar o excesso de líquido e também associados a outros dispositivos médicos.

Nesse contexto, esse trabalho tem o objetivo de modular os biofilmes de *C. neoformans* e *C. gattii* utilizando metabólitos produzidos por fungos filamentosos isolados de cascas de árvores. A modulação envolve a inibição do processo de formação do biofilme.

MATERIAIS E MÉTODOS

Linhagens: Nesse estudo, as linhagens utilizadas foram R265 (*C. gattii*), e H99 (*C. neoformans*).

Fungos filamentosos: Para buscar compostos com atividade antibiofilme, foram isoladas 50 espécies de fungos filamentosos associados à cascas de árvores.



Figura 1: Fungos filamentosos isolados I02, I07, I09, I11, I40.

Ensaio de inibição de formação de biofilme: Dentre os isolados, 12 espécies foram cultivadas em dois caldos diferentes: *Sabouraud* (SB), e *Yeast Sugar Extract* (YES). Após 21 dias, os caldos foram filtrados e a atividade de inibição de biofilme foi testada utilizando as linhagens através do método de viabilidade celular pela redução do sal XTT. Para realização dos testes, as células foram ajustadas para a concentração de 1×10^7 cel/mL em meio mínimo e incubadas na presença dos filtrados a 37°C por 48h.



Figura 2: Ensaio de inibição da formação de biofilme.

Avaliação da cápsula: Avaliou-se alterações na cápsula das leveduras decorrentes do tratamento com os filtrados. Células tratadas e controle foram incubadas a 37°C durante 48h em estufa a 10% de CO₂. A razão do diâmetro total da célula e da célula excluindo a cápsula foi determinada utilizando microscopia óptica.

CONCLUSÕES

Fungos isolados de cascas de árvores possuem alto potencial na produção de compostos bioativos; entre eles compostos inibidores da formação de biofilme.

A inibição da formação da cápsula de *Cryptococcus* spp., importante fator de virulência, corrobora para a inibição da adesão à superfícies.

RESULTADOS

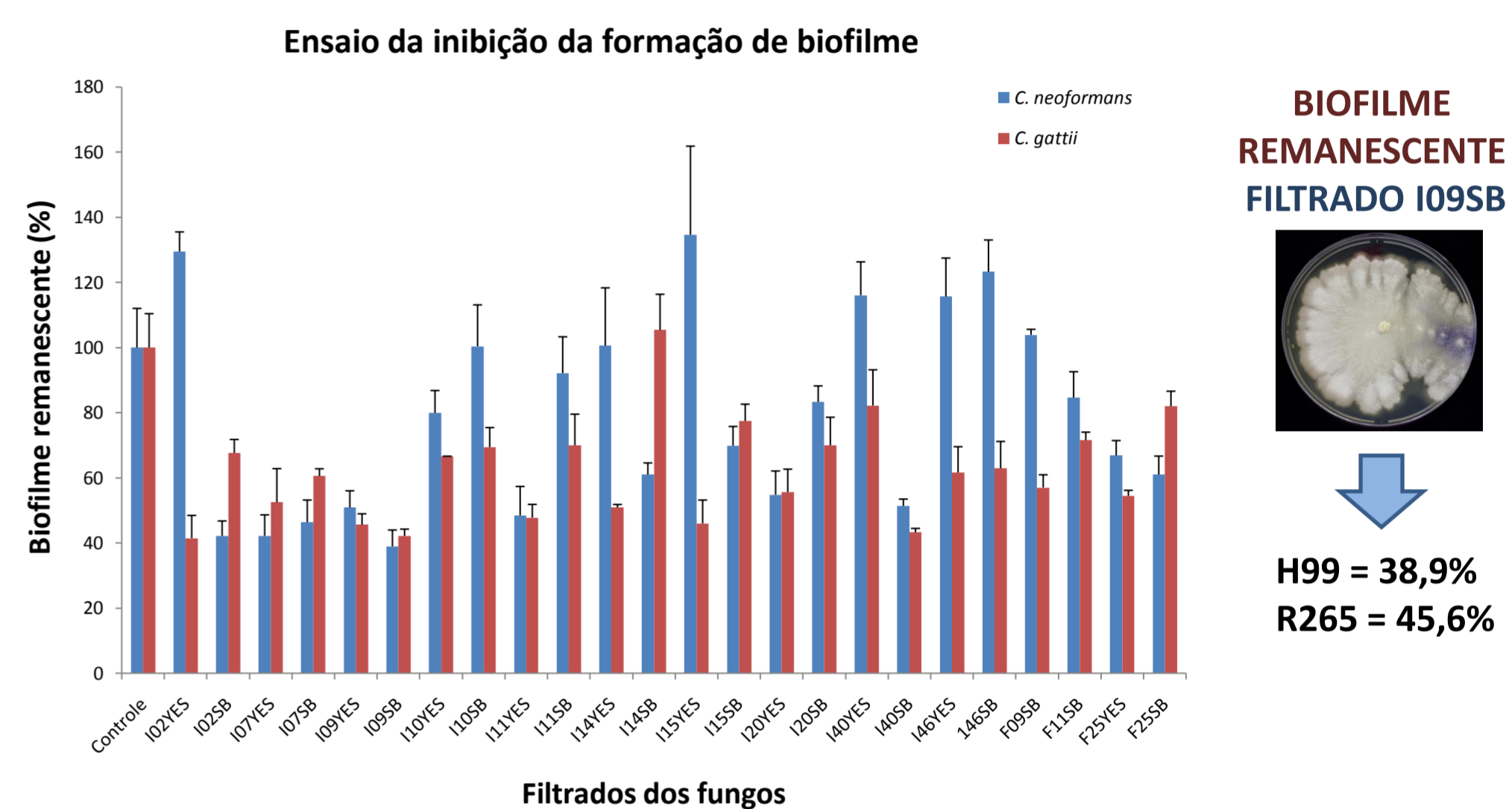


Figura 3: Rastreamento da atividade dos filtrados na inibição da formação de biofilme. Quantificação realizada através da redução de XTT pelas células aderidas à microplaca.

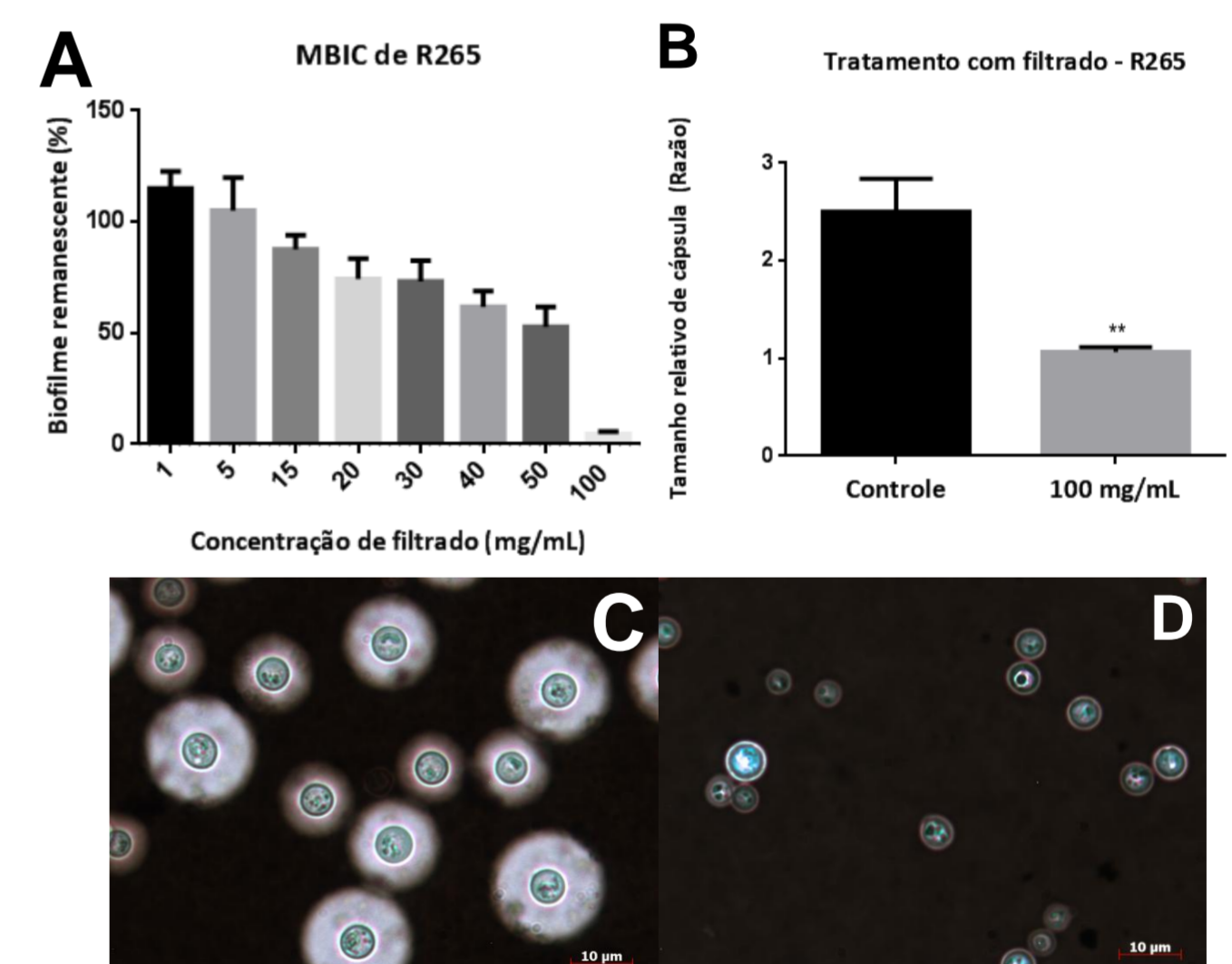


Figura 4: Avaliação do filtrado I09SB em *C. gattii* R265 (A) Concentração mínima inibitória de biofilme (MBIC). (B) Tamanho relativo da cápsula após tratamento com filtrado na concentração de MBIC. (C) Controle de indução de cápsula. (D) Inibição da indução de cápsula.

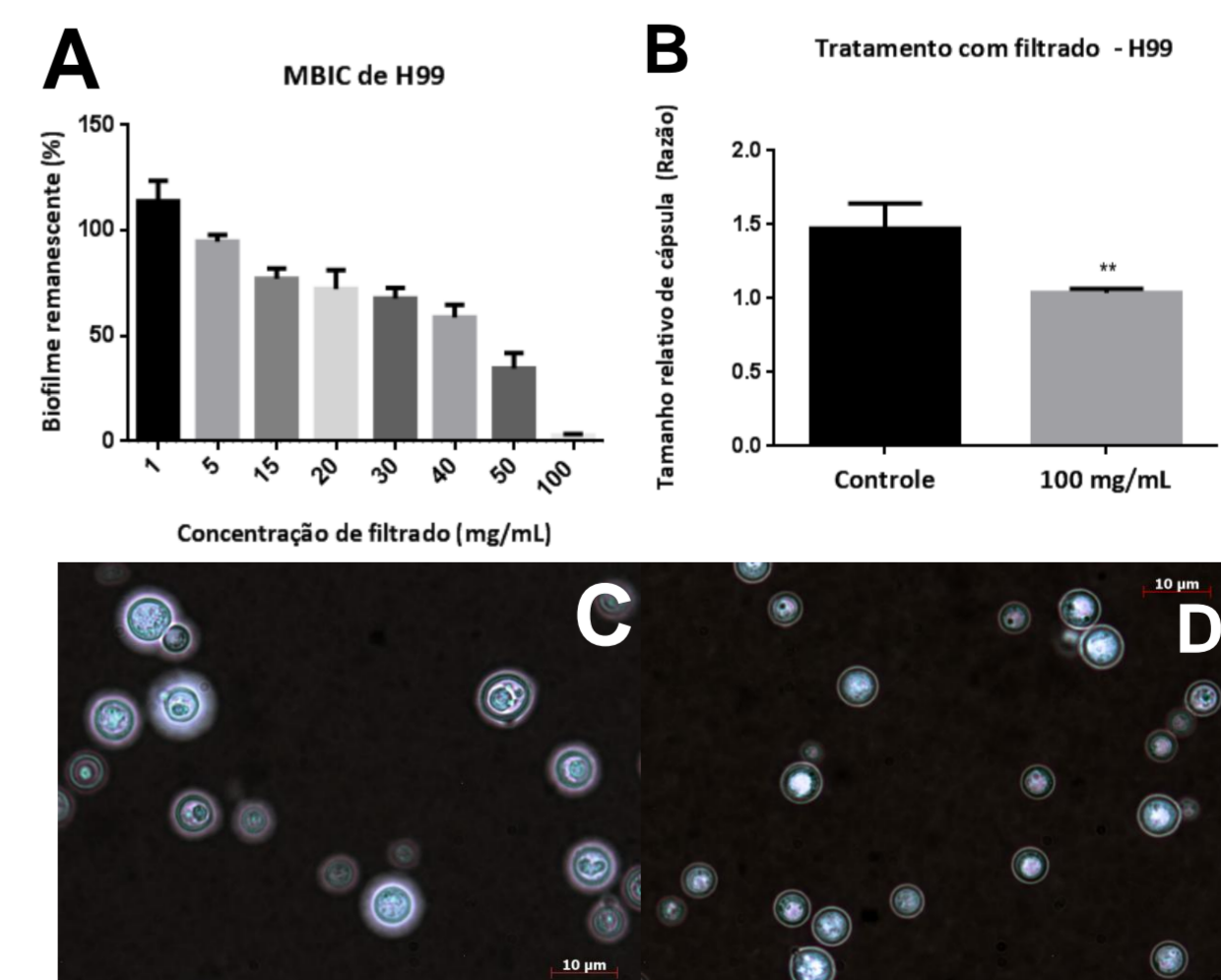


Figura 5: Avaliação do filtrado I09SB em *C. neoformans* H99 (A) Concentração mínima inibitória de biofilme (MBIC). (B) Tamanho relativo da cápsula após tratamento com filtrado na concentração de MBIC. (C) Controle de indução de cápsula. (D) Inibição da indução de cápsula.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Martinez, L. R., and A. Casadevall. 2006. Susceptibility of *Cryptococcus neoformans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother*