

Comparação da via intranasal e intratraqueal para desenvolvimento de modelo de infecção pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa* em ratos Wistar imunocompetentes

Arielle Torres Turcatel ; Teresa Dalla Costa

Centro Bioanalítico de Medicamentos, Faculdade de Farmácia, UFRGS

INTRODUÇÃO

A fibrose cística (CF) é uma doença autossômica recessiva caracterizada por secreções anormais das vias respiratórias, infecção endobronquial crônica e obstrução progressiva das vias aéreas¹. O patógeno mais comum encontrado no pulmão de pacientes com fibrose cística é a *Pseudomonas aeruginosa*², que em infecções respiratórias desses pacientes assume o fenótipo de biofilme³. O biofilme é uma estratégia de sobrevivência das bactérias, pois conferem proteção frente à resposta imune do hospedeiro e a ação de antimicrobianos, limitando a penetração dos mesmos e a erradicação bacteriana⁴. Para melhor compreensão dos mecanismos de resistência dos biofilmes de *P. aeruginosa* aos antimicrobianos na infecção pulmonar, faz-se necessário o desenvolvimento de um modelo animal de infecção pulmonar. Previamente trabalhamos com modelo de infecção pulmonar com biofilme utilizando *beads* de alginato impregnados com essa bactéria. No momento pretende-se realizar a infecção em animais imunocompetentes sem a necessidade dos *beads*.

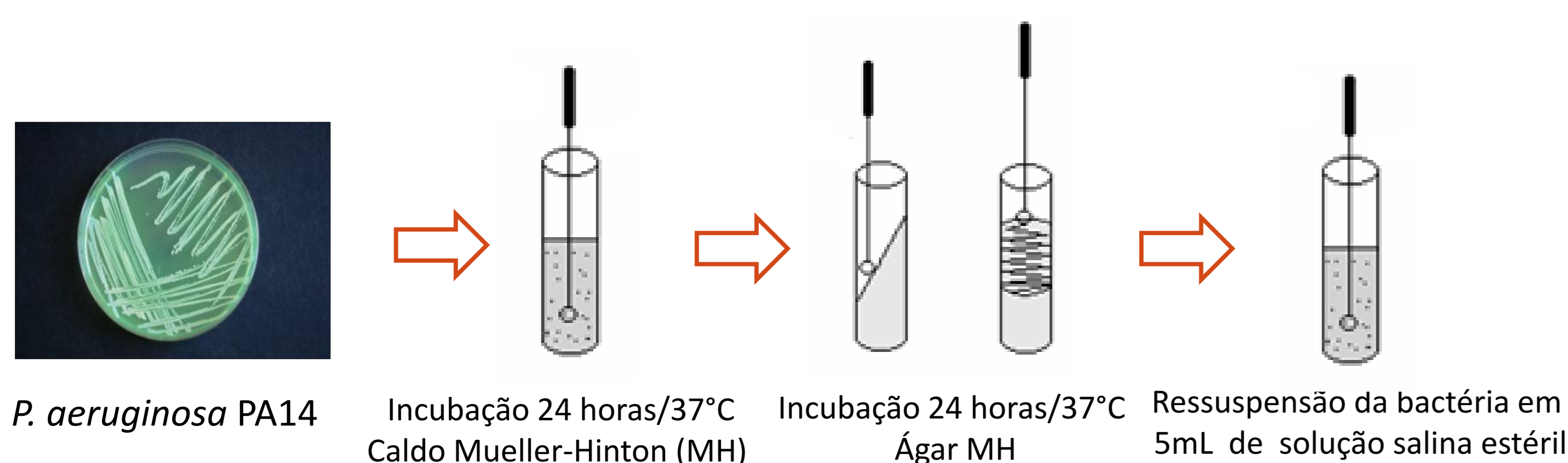
OBJETIVOS

Desenvolver modelo animal de infecção pulmonar com *P. aeruginosa* formadora de biofilme em ratos Wistar imunocompetentes através da inoculação por via intranasal (i.n.) e intratraqueal (i.t.) e determinar a via mais adequada para produzir a infecção.

MATERIAIS E MÉTODOS

Projeto aprovado pelo CEUA/UFRGS (27847).

Preparação do Inóculo



Diluições seriadas do inóculo foram plaqueadas em ágar MH e incubadas à 37 ± 1 °C por 24 horas para determinação da carga bacteriana do inóculo

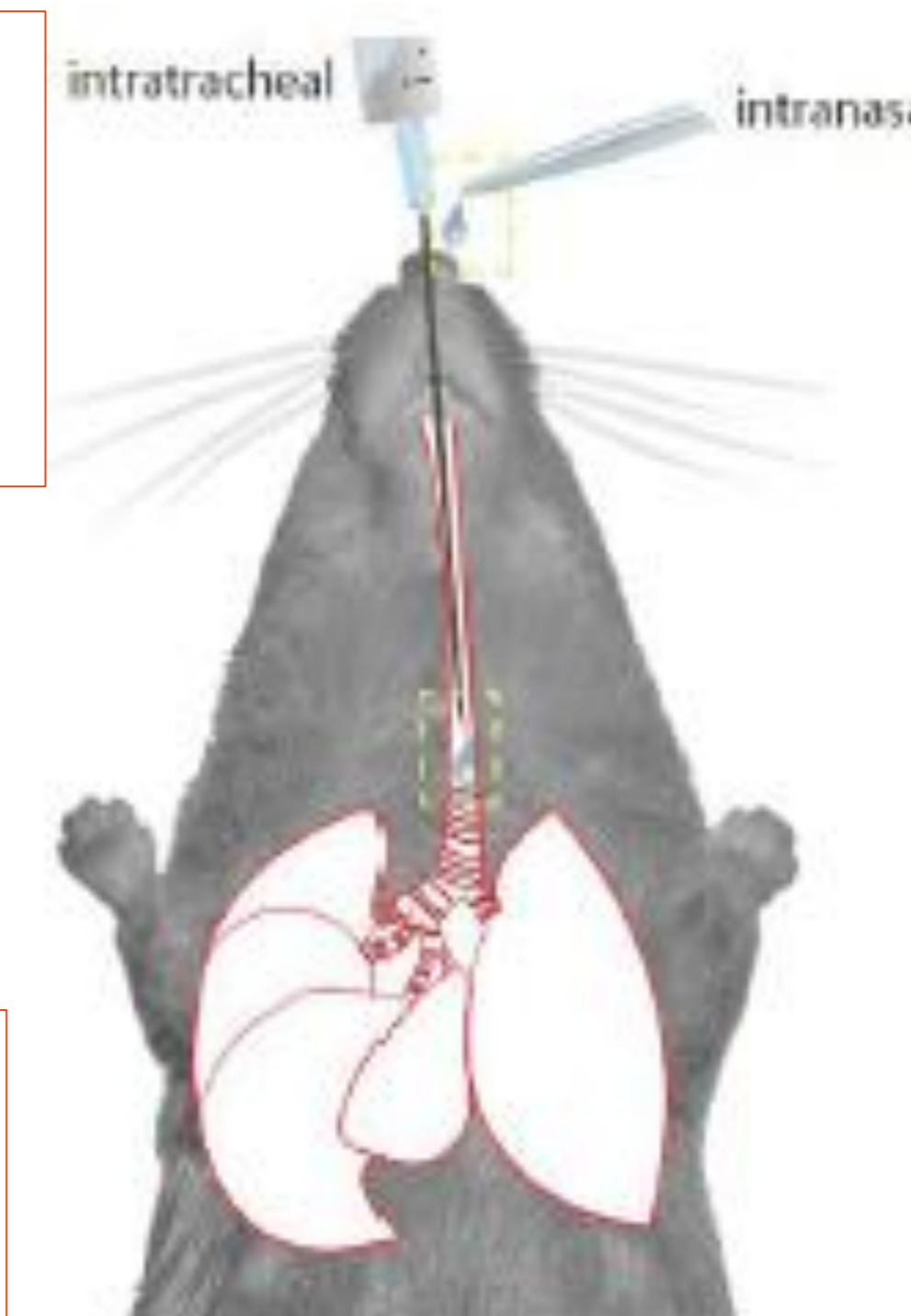
Carga bacteriana do inóculo 10⁹ UFC/mL

Inoculação pulmonar e determinação do número de UFC/pulmão

- Ratos Wistar machos com seis semana de idade (≈ 250 g)
- Anestesia com cetamina/xilazina (100 mg/kg +10 mg/kg)
- 50 µL de suspensão bacteriana
- Vias de inoculação: i.n. com pipeta e i.t. com auxílio de seringa MicroSprayer® Aerosolizer

1, 3, 7, 10 e 14 dias após a inoculação

- Pulmões foram retirados assepticamente
- Homogeneizados em 5 mL de solução salina estéril
- Diluições seriadas do pulmão foram plaqueadas em ágar MH e incubadas à 37 ± 1 °C por 24 horas
- Após 24 horas o número de unidades formadoras de colônia (UFC/pulmão) foi determinado



RESULTADOS E DISCUSSÕES

O número de UFC determinado no pulmão dos ratos 1, 3 e 7 dias após a inoculação i.n. é mostrado na Tabela 1. Na Tabela 2 são mostrados os resultados do número de UFC determinados no pulmão de ratos, nos mesmos tempos de coleta, após inoculação i.t. Após 10 dias da inoculação, observou-se o completo *clearance* da bactéria, nas duas vias de inoculação. Os animais inoculados via i.n. apresentaram dificuldades respiratórias logo após a administração, devido a obstrução das vias aéreas.

Tabela 1. Número de UFC/pulmão após inoculação intranasal.

Dias	Número de UFC/pulmão
1	>10 ⁷
3	>10 ⁷
7	>10 ⁷

(n = 3/tempo)

Tabela 2. Número de UFC/pulmão após inoculação intratraqueal

Dias	Número de UFC/pulmão ± DP
1	1x10 ⁸ ± 6,6x10 ⁷
3	5x10 ⁸ ± 1,3x10 ⁸
7	4x10 ¹⁰ ± 6,6x10 ⁹

(n = 3/tempo; média ± DP)

CONCLUSÕES

Ambas as vias de inoculação utilizadas mostraram-se efetivas no desenvolvimento de uma infecção pulmonar com *P. aeruginosa* formadora de biofilme por até 7 dias. Entretanto a via intratraqueal mostrou-se mais adequada pois há garantia de entrega total do inóculo nas vias áreas baixas.

REFERÊNCIAS

1. MOGAYZEL, P.J. et al. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.*, 187(7): 680–689, 2013.
2. YAN, P. et al. *J. Nanjing Med. Univ.*, 22(1): 34-38, 2008.
3. MACIA, M.D. et al. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 55(11): 5230-5237, 2011.
4. HOFFMANN, N. *Drug Discov. Today: Disease Models*, 4(3): 99-104, 2007.

AGRADECIMENTOS

Bolsa PIBIC CNPq e financiamento CNPq/Brasil.