

ATIVIDADES *IN VITRO* E *IN VIVO* DE NITRATO DE GÁLIO FRENTE A ISOLADOS DE *Klebsiella pneumoniae* RESISTENTE A POLIMIXINA

Julia Pimentel Arantes^{1*}, Luana Rossato¹, Simone Simionatto¹.

1. UFGD;

* Autor para contato: julia_pimentel@live.com

O Biofilme é um importante fator de virulência que promove proteção da comunidade bacteriana. O gênero *Klebsiella* pertencente à família Enterobacteriaceae é considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) um patógeno com prioridade crítica no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, pois infecções graves são comuns em pacientes internados em Unidades de Tratamento Intensivo (UTIs). Dada a importância do ferro na fisiologia bacteriana e na sua patogenicidade, a captação e o metabolismo do ferro tornaram-se alvos atraentes para o desenvolvimento de novos fármacos antibacterianos. Assim, o fármaco nitrato gálio atua interrompendo vias metabólicas dependentes de ferro, tornando-se um inibidor do crescimento microbiano. O presente estudo teve como objetivo explorar o uso de nitrato de gálio frente a isolados de *Klebsiella pneumoniae* resistentes à polimixina. Foram utilizados dois ensaios para a avaliação do nitrato de gálio frente aos isolados, sendo eles: Determinação da atividade antibiofilme e avaliação da atividade *in vivo* no modelo de infecção *Caenorhabditis elegans*. Para a avaliação da atividade antibiofilme foram utilizados dois isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* resistentes à polimixina B que apresentavam alta capacidade de formação de biofilme. A inibição da formação de biofilme foi avaliada por método preconizados pelo CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute). As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C em condições estáticas para permitir o crescimento bacteriano e a maturação do biofilme. O crescimento bacteriano foi quantificado usando um espectrômetro de microplacas (BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA) em um comprimento de onda de 600nm. O biofilme foi determinado utilizando a solução de cristal violeta (CV) à 0.1%. A inibição de biofilme foi calculada em relação à quantidade de biofilme cultivada na ausência de nitrato de gálio (definido como 100% biofilme) e ao controle de esterilidade do meio (definido

como 0% biofilme). Os resultados foram mediados por duas réplicas biológicas separadas. Para a avaliação da atividade *in vivo* utilizou-se nematoides *C. elegans* do tipo AU37 (*glp-4; sek-1*), onde foram sincronizados e infectados em placas de 6 poços com pelo menos 20 vermes por poço, e avaliados por um período de 5 dias. Os biofilmes e a atividade *in vivo* foram avaliados em diversas concentrações do nitrato de gálio que variaram de 0,5 a 16 µg/mL. O nitrato de gálio apresentou atividade antibiofilme significativa frente à isolados clínicos de *K. pneumoniae* resistentes a polimixina B revelando sua melhor atividade na concentração de 16 µg/mL. Além da boa performance do nitrato de gálio em testes *in vitro*, ele se mostrou eficiente em testes *in vivo*, sendo possível visualizar um aumento significativo na sobrevivência dos nematoides também em uma concentração de 16 µg/mL. A eficiência deste fármaco visualizada nos experimentos em baixa concentração frente aos microrganismos corroboram com estudos anteriores que utilizavam este composto como o principal agente antimicrobiano. Portanto, o nitrato de gálio demonstra ser uma promissora abordagem no combate aos biofilmes bacterianos formados por *K. pneumoniae* resistente a polimixina *in vitro* e *in vivo* revelando ser um fármaco seguro, pouco tóxico e com baixo potencial para desenvolvimento de resistência.

Palavras-chave: Antibiofilme, *C. elegans*, multirresistência, terapia.

Agradecimentos: Agradeço as minhas professoras Luana Rossato e Simone Simionatto pela disponibilidade de orientação durante o período da pesquisa. Também agradeço a UFGD pela disponibilização de infraestrutura e ao CNPq pelo apoio financeiro disponibilizado para a realização desta pesquisa.