

ATIVIDADE ANTIBIOFILME E INDUÇÃO DE ROS POR CFS *Bacillus subtilis* CONTRA *Candida auris* E *albicans*

DÉBORA DE SOUZA SILVA¹, ANA LAURA BALDUINO TINTORI¹, ANNY FRANCIELLY SANTOS BATISTA¹, BEATRIZ SODRÉ MATOS², MARCOS VINICIUS DA SILVA², HUGO FELIX PERINI¹

¹. UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO, INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS, NATURAIS E EDUCAÇÃO, UBERABA/MG, BRASIL

². UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO, INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E NATURAIS, UBERABA/MG, BRASIL

Candida auris e *Candida albicans* são patógenos de grande preocupação na saúde pública mundial, especialmente em infecções nosocomiais e em indivíduos imunocomprometidos. A patogenicidade desses microrganismos está relacionada aos fatores de virulência e, dentre esses, a formação de biofilmes se destaca por comprometer a ação de medicamentos antifúngicos e auxiliar na manutenção de células em superfícies bióticas e abióticas. O uso de probióticos surge como uma alternativa aos tratamentos convencionais, uma vez que diversas espécies bacterianas com propriedades probióticas apresentam a produção de compostos antimicrobianos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade do sobrenadante livre de células (CFS) da cepa 118 de *Bacillus subtilis* sobre a inibição de biofilmes de *C. auris* e *C. albicans*, juntamente com a investigação da indução de espécies reativas de oxigênio (ROS). A cepa de *B. subtilis* foi cultivada em meio LB e seu sobrenadante, obtido por centrifugação (12.000 g) e filtragem (0,22 µm). No ensaio de biofilme, as leveduras foram cultivadas, ajustadas para 2×10^6 células/ml em meio YPD, transferidas para placas de microtitulação e tratadas com diluições decrescentes do CFS (1:2 – 1:1024 v/v). Após 48 horas de cultivo, a 37°C, a inibição da capacidade de formação de biofilme foi determinada pelo método de cristal violeta para quantificação da biomassa total. Para a análise do ROS, as células foram ajustadas para 5×10^6 células/ml e marcadas com a sonda fluorescente (DCFH-DA, 0,1 µM) durante 1 hora. Após o período de incubação, as células foram centrifugadas e ressuspensas em meio YPD para a remoção do excesso de sonda. Em seguida, os patógenos foram expostos a diferentes diluições do CFS (1:2 – 1:1024 v/v) e a produção de ROS foi determinada pelos comprimentos de onda Ex485/Em528nm, sendo os resultados expressos em unidade de fluorescência arbitrárias (AFU). Os resultados indicam que CFS de *B. subtilis* 118 apresenta atividade na inibição de formação de biofilme. Para *C. albicans*, houve redução da formação de biofilme em todas as diluições de 1:2 a 1:1024 ($p < 0,0001$), com destaque a diluição 1:2, que apresentou redução de 62,38% ($p < 0,0001$). Já para *C. auris*, verificou-se uma redução de 42,51% da diluição de 1:4 ($p = 0,0199$) e de 50,97% na diluição de 1:16 ($p = 0,0075$). Em relação à produção ROS, o CFS induziu um aumento nas diluições testadas. Para *C. albicans*, a indução de estresse oxidativo foi imediata após o tratamento, apresentando um aumento na diluição de 1:2 ($p = 0,0086$). O tratamento diluído 1:2 apresentou aumento de ROS em 20, 40 e 60 minutos. As diluições 1:4 e 1:16 demonstraram também redução nos mesmos períodos de tratamento. Para *C. auris*, levando em conta os mesmos tempos anteriores, também demonstraram aumento de ROS em comparação com o controle, nas diluições 1:2 e 1:4 ($p < 0,05$). Esses resultados evidenciam a eficácia do tratamento em várias diluições durante o tempo de leitura cinética para ambas as leveduras. Os

resultados indicam que a cepa probiótica de *B. subtilis* 118 secreta compostos capazes de interagir com as leveduras, inclusive na espécie multirresistente, inibindo sua capacidade de adesão e formação de biofilmes utilizando como um dos mecanismos de ação, a geração de espécies reativas de oxigênio.

Agradecimentos: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) APQ-03913-25