

Metabolismo de ácidos siálicos por *Staphylococcus aureus*: uma abordagem para terapia antimicrobiana

ISABELA MARIANO CARDOSO¹, LIVIA SOARES ZARAMELA¹

¹. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO, RIBEIRÃO PRETO/SÃO PAULO, BRASIL

Introdução: Dermatite atópica é uma condição inflamatória multifatorial que afeta 20% das crianças no mundo, associada à disbiose cutânea e a uma alta prevalência de *Staphylococcus aureus*. Os ácidos siálicos (SIA) são glicídios presentes na superfície celular de vertebrados, cuja clivagem requer sialidases, enzimas que *S. aureus* não produz, embora possua o aparato metabólico para metabolizá-los. Dado que 43% das infecções por essa bactéria são cepas resistentes a antibióticos, demonstrar que *S. aureus* utiliza SIA de queratinócitos abre caminho para novas abordagens terapêuticas

Objetivo: Demonstrar que *S. aureus* utiliza SIA de queratinócitos humanos como fonte de carbono após clivagem por sialidases

Material e Métodos

Quantificação da viabilidade celular e crescimento bacteriano em co-cultura de HaCaT com *S. aureus*: Células HaCaT foram semeadas em placas de 96 poços (10^4 e 2×10^4 células/poço) e incubadas por 48h em DMEM+10% SFB. A infecção com *S. aureus* AH1263 foi realizada em PBS (OD600 0,2 e 0,3). A viabilidade celular foi avaliada nos tempos 0, 6 e 24h pelo kit CytoTox 96®, com grupos: células em PBS, células infectadas e células com solução de lise. O crescimento bacteriano foi determinado por CFU/mL via spot assay após diluições seriadas e plaqueamento em BHI ágar

Quantificação fluorescente de SIA em células HaCaT isoladas e submetidas à co-cultura: em placa de 24 poços, HaCaT (10^6 células/poço) foi cultivada em DMEM+10% SFB por 48h, diferenciada com 2 mM Ca^{2+} por 48h e incubada em PBS por 6h. Amostras foram obtidas de três condições: sobrenadante, sobrenadante após lise celular e células submetidas à hidrólise ácida (ácido acético glacial, 80°C, 3h). As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido, derivatizadas com DMB e quantificadas por fluorescência. Nas mesmas condições, HaCaT será cultivada e infectada com *S. aureus* (OD600 0,2 e 0,3), por 0, 3, 6 e 24h

Resultados e Discussão

S. aureus causa redução da viabilidade celular de HaCaT: co-cultura com *S. aureus* resultou em diminuição da viabilidade de células HaCaT, demonstrando que ela interfere na sobrevivência celular, conforme literatura. A redução mais acentuada ocorreu após 24h de incubação, indicando progressão do efeito citotóxico bacteriano. O uso de PBS como meio de incubação não apresentou impacto relevante sobre a

viabilidade

S. aureus não apresenta crescimento significativo em co-cultura com HaCaT: no spot assay, diluições $<10^{-4}$ inviabilizaram a contagem, restringindo a análise a 10^{-4} e 10^{-5} . UFC/mL indica tendência de manutenção/redução do crescimento bacteriano no tempo de co-cultura. Esse resultado é coerente: sem sialidase, SIA permanece conjugado à membrana das células e indisponíveis para metabolização por *S. aureus*. Sialidase será empregada para avaliar sua influência no crescimento bacteriano

Sobrenadante de HaCaT mantém baixos níveis de SIA mesmo após co-cultura: quantificação de SIA aumentou entre sobrenadante, lise e hidrólise ácida, indicando liberação de glicoconjugados. Em co-cultura, será avaliado se SIA ficará reduzida no sobrenadante de HaCaT, indicando metabolização por *S. aureus*

Conclusão: *S. aureus* utiliza SIA disponíveis no sobrenadante de HaCaT, mas apresenta crescimento limitado na ausência de sialidases capazes de clivar glicoconjugados dos queratinócitos. Ademais, a bactéria reduziu a viabilidade celular de HaCaT, indicando ação citotóxica. Achados destacam o metabolismo de SIA como possível alvo para terapias alternativas aos antibióticos

Agradecimentos: O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processos 2024/22238-3 e 2020/08554-9