

estado de Minas Gerais, indicando a necessidade da realização de medidas de investigação, controle e prevenção da febre Q no Brasil, onde ela ainda é negligenciada e subnotificada.

<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.101415>

EP-338

### DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA CELL-SELEX PARA SELEÇÃO DE APTÂMEROS CONTRA CÉLULA BACTERIANA



Marina Farrel Côrtes, Taniela Marli Bes, Ester Sabino, Silvia Costa, Carlos Santos

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Ag. Financiadora: FAPESP

**Introdução:** As infecções causadas por agentes multirresistentes são um problema de saúde mundial, levando a com altas taxas de mortalidade. A rápida identificação dessas infecções é crítica, pois podem ser altamente contagiosas, difíceis de tratar e ter altos custos de hospitalização. Nesse contexto, o desenvolvimento de metodologias de detecção rápidas e economicamente viáveis, bem como o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas são desafiadors. Uma das soluções promissoras pode ser o desenvolvimento de aptâmeros de ácido nucleico capazes de interagir com bactérias. Esses aptâmeros podem ser usados para o reconhecimento específico de agentes infecciosos ou mesmo para bloquear suas funções. A tecnologia Cell-SELEX atualmente permite a seleção e identificação de aptâmeros.

**Objetivo:** Desenvolver uma metodologia in-house para identificação de aptâmeros.

**Metodologia:** Inicialmente cinco cepas de *A. baumannii* multirresistente (MDR) foram incubadas com uma biblioteca de aptâmeros de DNA sintetizada quimicamente. Na primeira rodada de seleção, a biblioteca inicial foi incubada células bacterianas à temperatura ambiente por 25 min. Após a reação de ligação, aptâmeros não ligados foram removidos após 3 lavagens em tampão de lavagem. Então, a fim de gerar moléculas de DNA de fita simples, o produto foi utilizado como modelo para PCR assimétrica com apenas um iniciador com objetivo de gerar uma nova biblioteca para próxima rodada de SELEX. Após 7 rodadas, quando aptâmeros de DNA de fita simples ligados a células bacterianas dominaram o pool de DNA, eles foram então clonados e sequenciadas.

Finalmente, a estrutura secundária do aptâmero foi prevista usando as ferramentas de estrutura de RNA versão 6.0.1.

**Resultados:** Aqui, descrevemos uma metodologia interna, baseada em célula inteira-SELEX, para identificação de aptâmeros com rápida execução e baixo custo. Além disso, este protocolo permitiu a identificação do aptâmero A01 com toda a célula *Acinetobacter baumannii* como alvo. Apesar de sua capacidade de se ligar à célula da bactéria, o aptâmero não afetou o crescimento bacteriano nas condições analisadas. A01 também mostrou a capacidade de se ligar a outras células bacterianas e fúngicas.

**Discussão/Conclusão:** Embora as tecnologias de aptâmeros ainda enfrentam muitos desafios, incluindo a dificuldade do processo de triagem, estes dados indicam que pode se tor-

nar uma alternativa tangível às abordagens tradicionais para diagnóstico e terapia de doenças infecciosas.

<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.101416>

EP-339

### EFEITOS ANTIFUNGICOS DOS INIBIDORES DA PROTEASE DO HIV ATAZANAVIR E DARUNAVIR EM CANDIDA ALBICANS: ESTUDO IN VITRO E IN VIVO



Juliana de Camargo Fenley, Patrícia Pimentel de Barros, Juliana Campos Junqueira, Rodnei Dennis Rossoni

Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José dos Campos, SP, Brasil

**Introdução:** Portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) são propícios a apresentar candidoses na cavidade bucal. Os Inibidores de Protease do HIV (IP-HIVs) podem interferir na produção enzimática das aspartil proteases (SAPs) de *C. albicans*. Estudos com drogas mais modernas, com enfoque em outros fatores de virulência, e em modelos in vivo podem acrescentar conhecimento para potenciais estudos clínicos.

**Objetivo:** Avaliar os efeitos do Atazanavir (ATV) e Darunavir (DRV), dois IPs-HIV em uso clínico atual no Brasil, em diferentes fatores de virulência de *C. albicans*.

**Metodologia:** Foram realizados estudos com duas cepas clínicas de *C. albicans* isoladas de lesões de candidose orofaríngea de pacientes portadores de HIV para avaliar a ação in vitro das drogas na morfogênese e formação de biofilme (contagem de células viáveis e quantificação de biomassa), e in vivo no efeito protetor desses medicamentos na infecção experimental por *C. albicans* em modelo de *Galleria mellonella*. Os dados foram analisados por teste t, ANOVA e Kaplan-Meier ( $p < 0,05$ ).

**Resultados:** A Concentração Inibitória Mínima (CIM) para ambos os IPs-HIV testados foi 512  $\mu\text{g/mL}$ . Nos biofilmes, a redução na contagem de UFC/mL de *C. albicans* nos grupos tratados com IPs-HIV foi de até 6,81 Log contra 0,56 Log quando se utilizou o fluconazol. A biomassa dos biofilmes tratados também sofreu reduções significantes para ATV (82%), DRV (81%) e fluconazol (53%) comparado ao grupo controle. Em relação à morfogênese de *C. albicans*, ATV e DRV inibiram significativamente a formação de hifas ( $p = 0,0183$ ). No estudo in vivo, o uso profilático de ATV e DRV em *G. mellonella* infectadas com *C. albicans* prolongou em até 40% a sobrevivência das larvas ( $p = 0,0004$ ).

**Discussão/Conclusão:** Conclui-se que ATV e DRV apresentaram atividade antifúngica, sendo capazes de inibir o crescimento, a morfogênese, a formação de biofilme de *C. albicans* e prevenir a candidose em *G. mellonella*.

<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.101417>