

UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde

BRENDA VIEIRA FERREIRA

**IMPORTÂNCIA DO TRANSPORTADOR DE POLIAMINAS
PotABCD E POLIAMINAS NA FORMAÇÃO DE
BIOFILME POR *Streptococcus pneumoniae***

Bragança Paulista
2023

BRENDA VIEIRA FERREIRA – R.A.:202220897

**IMPORTÂNCIA DO TRANSPORTADOR DE POLIAMINAS
PotABCD E POLIAMINAS NA FORMAÇÃO DE BIOFILME
POR *Streptococcus pneumoniae***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Thiago Rojas Converso

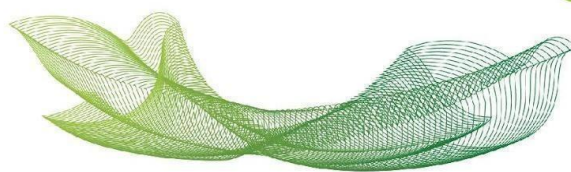
Bragança Paulista
2023

WC 217 Ferreira, Brenda Vieira.
F439i Importância do transportador de poliaminas potABCD e poliaminas na formação de biofilme por *Streptococcus pneumoniae* / Brenda Vieira Ferreira. – Bragança Paulista, 2023.
39 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco.

Orientação de: Thiago Rojas Converso.

1. *Streptococcus pneumoniae*. 2. Transportador de poliaminas. 3. Biofilme. I. Converso, Thiago Rojas. II. Título.



Educando
para a paz

FERREIRA, Brenda Vieira. “Importância do transportador de poliaminas PotABCD na formação de biofilme por *Streptococcus pneumoniae*”. Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em 12 de dezembro de 2023 pela Banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Thiago Rojas Converso - Orientador e Presidente Universidade
São Francisco

Profa. Dra. Carina Carvalho dos Santos
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Lúcio Fábio Caldas Ferraz Universidade
São Francisco

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os meus ancestrais, familiares, professores, orientadores, colegas de profissão e a todas as pessoas que um dia cruzaram meu caminho para que pudesse ser a pessoa que sou hoje tanto no profissional quanto no pessoal. Dedico também este a minha fé, mas não somente a uma fé de cunho religioso, mas sim aquela fé intrínseca no dia de amanhã, no acreditar que vai dar certo, na fé de não desistir.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento: 88887.666340/2022-00.

RESUMO

O *Streptococcus pneumoniae* é uma bactéria de significativa relevância global, causador de mais de um milhão de mortes anuais pelo mundo. Geralmente, contraído nos anos iniciais de vida, o pneumococo realiza a colonização de forma assintomática no trato respiratório superior, desenvolvendo biofilmes que mantêm sua presença no local por meses. Porém, em condições que modificam o ambiente bacteriano, como à semelhança de infecções virais, os pneumococos podem romper o biofilme e infiltrar-se em outros tecidos, causando diversas doenças de diferentes gravidades. O transportador de poliaminas a proteína do complexo PotABCD, PotD é um fator crucial de virulência do pneumococo, sendo que a imunização de murinos com o transportador de poliaminas recombinante reduz eficientemente a colonização bacteriana. Além disso, sugere-se que o PotABCD seja participante crucial no desenvolvimento de biofilmes por pneumococos. Nesse contexto, considerando o papel protetor de PotD na limitação da colonização bacteriana e sua provável contribuição para a formação de biofilme, este estudo visa avaliar o papel de PotABCD, da espermidina e putrescina na produção de biofilme por pneumococo. Na primeira etapa da pesquisa, avaliou-se a formação de biofilmes na presença de poliaminas, produtos captados pelo transportador PotABCD, em comparação com um meio sem adição de poliaminas. Posteriormente, comparou-se a formação de biofilmes em pneumococos selvagens e mutantes que não expressam o transportador PotABCD, utilizando ensaios de formação de biofilme em placas de 24 poços. Dada a relação identificada entre a formação de biofilmes e os pneumococos estar ligada à colonização da nasofaringe, realizou-se um ensaio para avaliar a formação de biofilmes em células. A cepa mutante exibiu uma redução da formação de biofilme *in vitro* e em culturas de células, em comparação com a estirpe selvagem. No teste de qualidade dos biofilmes, observou-se uma redução de aproximadamente 3-4 logs na viabilidade bacteriana, indicando a formação de biofilmes estáveis. Além disso, foi observada uma ampliação na formação de biofilme pela cepa selvagem após a introdução das poliaminas. Em conjunto, os resultados deste estudo têm o potencial de contribuir para a compreensão dos mecanismos de formação de biofilme em pneumococos e sua potencial associação com o processo de colonização, reforçando a importância de estudos de formação de biofilmes em modelos fisiológicos.

Palavras-chave: *Streptococcus pneumoniae*. transportador de poliaminas. Biofilme.

ABSTRACT

The *Streptococcus pneumoniae* is a bacterium of significant global relevance, causing over a million deaths annually worldwide. Typically contracted in the early years of life, pneumococcus colonizes asymptotically in the upper respiratory tract, developing biofilms that maintain its presence at the site for months. However, under conditions that modify the bacterial environment, such as viral infections, pneumococci can disrupt the biofilm and infiltrate other tissues, causing various diseases of different severities. The polyamine transporter protein of the PotABCD complex, PotD, is a crucial virulence factor of pneumococcus, and immunization of mice with the recombinant polyamine transporter efficiently reduces bacterial colonization. Additionally, it is suggested that PotABCD plays a crucial role in the development of biofilms by pneumococci. In this context, considering the protective role of PotD in limiting bacterial colonization and its likely contribution to biofilm formation, this study aims to evaluate the role of PotABCD, spermidine, and putrescine in pneumococcal biofilm production. In the first stage of the research, biofilm formation was evaluated in the presence of polyamines, products captured by the PotABCD transporter, compared to a medium without the addition of polyamines. Subsequently, biofilm formation in wild-type pneumococci and mutants that do not express the PotABCD transporter was compared using biofilm formation assays in 24-well plates. Given the identified relationship between biofilm formation and pneumococcal colonization of the nasopharynx, an assay was conducted to evaluate biofilm formation on cells. The mutant strain exhibited a reduction in *in vitro* and cell culture biofilm formation compared to the wild-type strain. In the biofilm quality test, a reduction of approximately 3-4 logs in bacterial viability was observed, indicating the formation of stable biofilms. Additionally, an increase in biofilm formation was observed in the wild-type strain after the introduction of polyamines. Overall, the results of this study have the potential to contribute to the understanding of biofilm formation mechanisms in pneumococci and their potential association with the colonization process, reinforcing the importance of biofilm formation studies in physiological models.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, polyamine transporter, Biofilm.