

SUB-ÁREA: Patogênese, Virulência e Resistência

DNA extracelular contribui para a estrutura do biofilme maduro de *Leptospira*

Talita Gomes^a, Priscyla Ribeiro^a, Natália Barbosa^a, Charbel El-Hani^b, Cláudio Figueira^c, Paula Ristow^a

^aLaboratório de Bacteriologia e Saúde, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA.

^bLaboratório de Ensino, Filosofia e História da Biologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA.

^cPlataforma de Microscopia, Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz-BA, Salvador-BA.

A leptospirose é uma zoonose de importância mundial que afeta mais de um milhão de pessoas anualmente no mundo. Ao serem eliminadas na urina de animais, bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* contaminam o ambiente. Embora haja uma lacuna no conhecimento da sobrevivência dessas bactérias no ambiente, *Leptospira* foi isolada de biofilmes ambientais e nos rins do principal reservatório mundial, o *Rattus norvegicus*. Biofilmes são complexas comunidades microbianas, aderidas às superfícies e envolvidas por uma matriz exopolimérica (ME), que protege os microrganismos contra condições desfavoráveis no ambiente ou no hospedeiro. A ME é composta por água, sacarídeos, proteínas, DNA extracelular (DNAe) e outras moléculas. O DNAe possui função estrutural em diversos biofilmes bacterianos, por promover a adesão célula-célula e célula-superfície, além de formar redes com outros componentes da ME. O DNAe foi descrito como componente do biofilme de *L. interrogans* por microscopia de contraste de fase, porém, a compreensão do papel do DNAe permanece pouco explorada. Neste estudo realizamos uma análise estrutural e arquitetônica do biofilme de *L. biflexa*, espécie modelo, em relação ao papel do DNAe. Realizamos a digestão do DNAe com a enzima DNase nos biofilmes maduros de *L. biflexa*, seguida por análises da biomassa por espectrofotometria e de parâmetros estruturais por microscopia confocal. O tratamento com DNase levou à desorganização estrutural do biofilme, afetando parâmetros estruturais importantes. Comparando biofilmes tratados com DNase e não tratados, a densidade óptica da biomassa foi reduzida de 0,8 para 0,4 ($p= 1,89E-02$). Na mesma condição, obtivemos redução significativa de parâmetros estruturais, analisados pela microscopia confocal: biomassa do DNAe passou de $2,0 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ para $0,05 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$; ($p= 3,42E-04$), biomassa de *Leptospira* passou de $1,7 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ para $0,49 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ($p= 1,31E-02$); espessura média do DNAe passou de $4,5 \mu\text{m}$ para $0,09 \mu\text{m}$; ($p= 2,71E-05$), espessura média de *Leptospira* passou de $4,2 \mu\text{m}$ para $1,2 \mu\text{m}$ ($p= 6,17E-04$). Concluímos que o DNAe é um componente-chave para o biofilme maduro de *Leptospira biflexa*, por promover a estabilidade da arquitetura tridimensional do biofilme.

Palavras-chave: DNase, biomassa, espiroqueta.

Agências de Fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, INCT em Estudos Interdisciplinares e Transdisciplinares em Ecologia e Evolução (IN-TREE), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.