

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – UNISO

***TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS. AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS**

RESUMO

Os bacteriófagos são vírus que infectam única especificamente bactérias, sendo totalmente desprovidos de atividade metabólica. Ao contrário dos agentes antibióticos de amplo espectro, que funcionam indiscriminadamente, os bacteriófagos visam especificamente apenas certas espécies/cepas de bactérias, e é precisamente esta especificidade que torna os bacteriófagos muito atrativos para o combate de infecções por bactérias multirresistentes aos antibióticos. O trabalho de pesquisa desenvolvido objetivo e o isolamento (a partir de fontes ambientais) e caracterização de um novo bacteriófago com amplo espectrolítico capaz de infectar *Klebsiella pneumoniae*. Foram utilizadas fontes de esgoto hospitalar na região de Sorocaba(Brasil), para a pesquisa e isolamento de bacteriófagos líticos. A caracterização físico-química das partículas bacteriofágicas isoladas incluiu análises via verificação de lise bacteriana (em cepas de *Klebsiella pneumoniae* e resistentes a antibióticos, provenientes de isolados clínicos), varredura espectral UV-Vis para determinação do coeficiente de extinção molar das partículas fágicas, DRX, eletroforese SDS-PAGE e MET, enquanto a caracterização biológica abrange a avaliação da gama de hospedeiros usando culturas bacterianas de *Klebsiella pneumoniae* tanto provenientes de coleção como de 26 isolados clínicos (humanos) assim como de outras espécies bacterianas provenientes de coleção, determinação da eficiência de plaqueamento (EOP), determinação da curva de crescimento em um só ciclo síncrono(OSGC para cálculo do período latente, período de eclipse, período de acumulação intracelular e tamanho de explosão, determinação da curva de adsorção para cálculo da taxa de adsorção das partículas bacteriofágicas em sua célula hospedeira bacteriana, e avaliação da capacidade de inativação bacteriana *in vitro* pelas partículas fágicas utilizando valores de MOI de 10^3 . As partículas do bacteriófago isolado exibiram um amplo espectrolítico contra as cepas multirresistentes da bactéria em estudo. O uso do bacteriófago isolado possui vantagens inerentes pelo fato de ser um predador bacteriano natural, específico e estritamente lítico, que reconhece rápida e especificamente seu hospedeiro bacteriano, o que leva a um resultado cada vez mais difícil de obter como antibióticos químicos atuais.

Palavras-chave: bacteriófagos, resistência bacteriana aos antibióticos, caracterização de bacteriófagos, bactérias patogênicas ESKAPE

ABSTRACT

Bacteriophages are viruses that solely and specifically infect bacteria and are completely devoid of metabolic activity. Unlike broad-spectrum antimicrobial agents, which work indiscriminately, bacteriophages specifically target only certain species /strains of bacteria, and it is precisely this specificity that makes bacteriophages very attractive for combating infections by multi-drug resistant bacteria. In the research effort entertained herein, the isolation (from environmental sources) and characterization of a novel bacteriophage with broad lytic spectrum capable of infecting *Klebsiella pneumoniae* was entailed, departing from Hospital sewage in the region of Sorocaba (Brazil). Physicochemical characterization of the isolated bacteriophage particles included analysis via verification of (antibiotic-resistant) bacterial lysis, UV-Vis spectral scanning for molar extinction coefficient determination, XRD, SDS-PAGE electrophoresis and TEM, whereas biological characterization encompassed evaluation of its host range using both a collection strain of *Klebsiella pneumoniae* and 26 strains originating from (human) clinical isolates, efficiency of plating assays, determination of the one-step growth curve (OSGC) for latent period, eclipse period, intracellular accumulation period and burst size determinations, determination of the adsorption curve for calculation of the bacteriophage adsorption rate onto its bacterial host cell, and evaluation of the *in vitro* bacterial inactivation ability of the phage particles at two different MOI values, viz. 1 and 1000. The isolated bacteriophage particles exhibited a broad lytic spectrum against the multi-drug-resistant strain tested. The use of the isolated bacteriophage in Hospital settings would possess inherent advantages in that specific and strictly lytic bacteriophages are natural self-replicating predators of bacteria that quickly and specifically recognize their particular bacterial hosts and lead to their death, an outcome more and more difficult to achieve with current chemical antibiotics.

Keywords: bacteriophages, bacterial resistance to antibiotics, bacteriophage characterization, pathogenic ESKAPE bacteria.