

**JEPEX**13ª Jornada de Ensino,
Pesquisa e Extensão**INSTITUTO FEDERAL**Rio Grande do Sul
Campus Erechim

Metodologia de quantificação de biofilmes bacterianos: Uso do ImageJ associado à microscopia óptica

Eduardo Saccomori¹, Bruno Antônio Andrade¹, Mateus Biazus Biancini¹, Wagner Luiz Priamo^{1*}

*Orientador

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) –
Campus Erechim. Erechim, RS

Em ambientes hospitalares, diversas preocupações devem ser consideradas a fim de garantir o bem-estar dos pacientes. As infecções bacterianas são frequentemente causadas por bactérias formadoras de biofilmes, que são matrizes de exopolissacarídeos que conferem resistência às células bacterianas. Essa situação é particularmente preocupante em unidades de terapia intensiva, onde a presença de infecções nosocomiais pode agravar significativamente o estado dos pacientes. Desta forma, o estudo da formação e tratamentos de biofilmes é imprescindível, porém, a sua visualização em laboratório apresenta desafios, especialmente pela dificuldade em diferenciar realizar a quantificação do crescimento séssil. Metodologias convencionais utilizam microscopia confocal ou de fluorescência para análise e quantificação dessa matriz, entretanto esses equipamentos são de alto custo, limitando seu acesso em muitos laboratórios. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi propor uma metodologia alternativa para a quantificação de bactérias e biofilmes visualizados por microscopia óptica utilizando o programa ImageJ. Na pesquisa utilizou-se a espécie *Pseudomonas aeruginosa*, as quais foram cultivadas em sistema de fluxo contínuo desenvolvido pelos autores, corada utilizando o corante cristal violeta e tratadas com cloridrato de ciprofloxacina. As imagens foram capturadas através da câmera de um dispositivo móvel acoplado a um microscópio óptico contendo as objetivas x10 e x40. Posteriormente as imagens foram importadas ao aplicativo, no qual a área de interesse foi delimitada e a imagem convertida para o formato de 8 bits. A primeira medição consistiu na avaliação da coloração e na contagem dos *pixels* de cada cor em uma escala de cinza, que varia de zero (preto absoluto) a 255 (branco absoluto). Em seguida, foi realizada a análise de partículas, que exigiu a conversão da imagem em formato binário. Os limites de coloração das colônias bacterianas foram definidos manualmente para cada teste, geralmente variando entre 0 e 180. Os dados coletados foram analisados estatisticamente pelo *software* por meio do cálculo da área média em *pixels* e número total das colônias, além do percentual de colônias. Para isso, estas análises levam em consideração a proporção da área formada especificamente por bactéria em relação à área total da imagem capturada. As imagens analisadas apresentaram percentual de 5,56 e 2,11 %, 5080 e 2366 colônias com área média de 468 e 322 *pixels* para amostras antes e depois do tratamento, respectivamente. Com base nos resultados encontrados é possível evidenciar o potencial da metodologia para o objetivo proposto, não só comprovando a diminuição da quantidade de biofilmes com o tratamento, mas também devido ao baixo custo da análise e aplicabilidade, tornando-o uma alternativa para futuras etapas do projeto de modo a confirmar a formação e a aplicação de antimicrobianos no biofilme.

Palavras-chave: Biofilmes bacterianos; ImageJ; Microscopia óptica.

Modalidade: Pesquisa