

Avaliação da capacidade de formação de biofilme de isolados de *Staphylococcus pseudintermedius* de amostras clínicas de cães em diferentes condições de pH

LOPES, B.C.¹; DRIEMEIER, D.¹

¹UFRGS Faculdade de Veterinária

Introdução

Staphylococcus pseudintermedius é um dos componentes da microbiota cutânea canina, constituindo cerca de 90% de *Staphylococcus* isolados de cães. Apesar de constituir a microbiota cutânea normal pode se comportar como um agente patogênico oportunista sendo a principal causa de piodermatite e podendo também provocar otites externas, contaminações de feridas e pododermatites.

Algumas espécies do gênero *Staphylococcus* possuem como fator de virulência a produção de biofilme. Baseado em resultados anteriores, foi evidenciado a produção de biofilme em 100% das amostras em uma coleção de 81 isolados clínicos. Infecções associadas a biofilme são caracterizadas pela dificuldade de perfusão de antimicrobianos e menor eficiência da ação do sistema imune. A produção de biofilme por *S. pseudintermedius*, possivelmente, está associada à refratariedade ao tratamento. Falhas terapêuticas são comumente observadas na prática clínica, mesmo quando apresentam suscetibilidade através do teste de sensibilidade *in vitro*.

A produção de biofilme é influenciada por diversos fatores como temperatura, concentração de fontes de carbono e pH. O pH da superfície cutânea dos cães é variável nas diferentes áreas do corpo mas, de maneira geral, apresenta pH mais alcalino que o da pele humana. O objetivo deste trabalho é comparar a formação de biofilme *in vitro*, através do método da placa de microtitulação, de 81 isolados clínicos de *Staphylococcus pseudintermedius* utilizando duas condições: produção em meio de cultura neutro (pH 7,2) e em meio de cultura básico (pH 8,0).

Materiais e Métodos

A partir de inóculo padronizado as amostras eram diluídas em TSB com 1% de glicose em pH neutro e básico, e inoculadas em triplicata em placas de microtitulação com poços de fundo plano. As placas eram então incubadas a 37° C por 18 horas. Após a incubação, os poços eram lavados com tampão fosfato-salino (PBS) e secos a 42°C. Após a secagem, os poços eram corados com solução 2% de Cristal Violeta e lavados novamente. No momento da leitura o corante era ressolubilizado com solução álcool-ácida de Ziehl-Neelsen. Para a determinação da absorvância foi utilizado espectrofotômetro com filtro de comprimento de onda de 620 nanômetros.

Resultados (parciais)

Até o momento, foram analisados 81 isolados, e através da análise das médias com o Teste de Wilcoxon, as amostras apresentaram, significativamente, maior formação de biofilme em pH básico ($p = 0,000$; $Z = -5,684$). Na avaliação dos isolados, 64 (79%) amostras apresentaram maior formação de biofilme em pH básico.

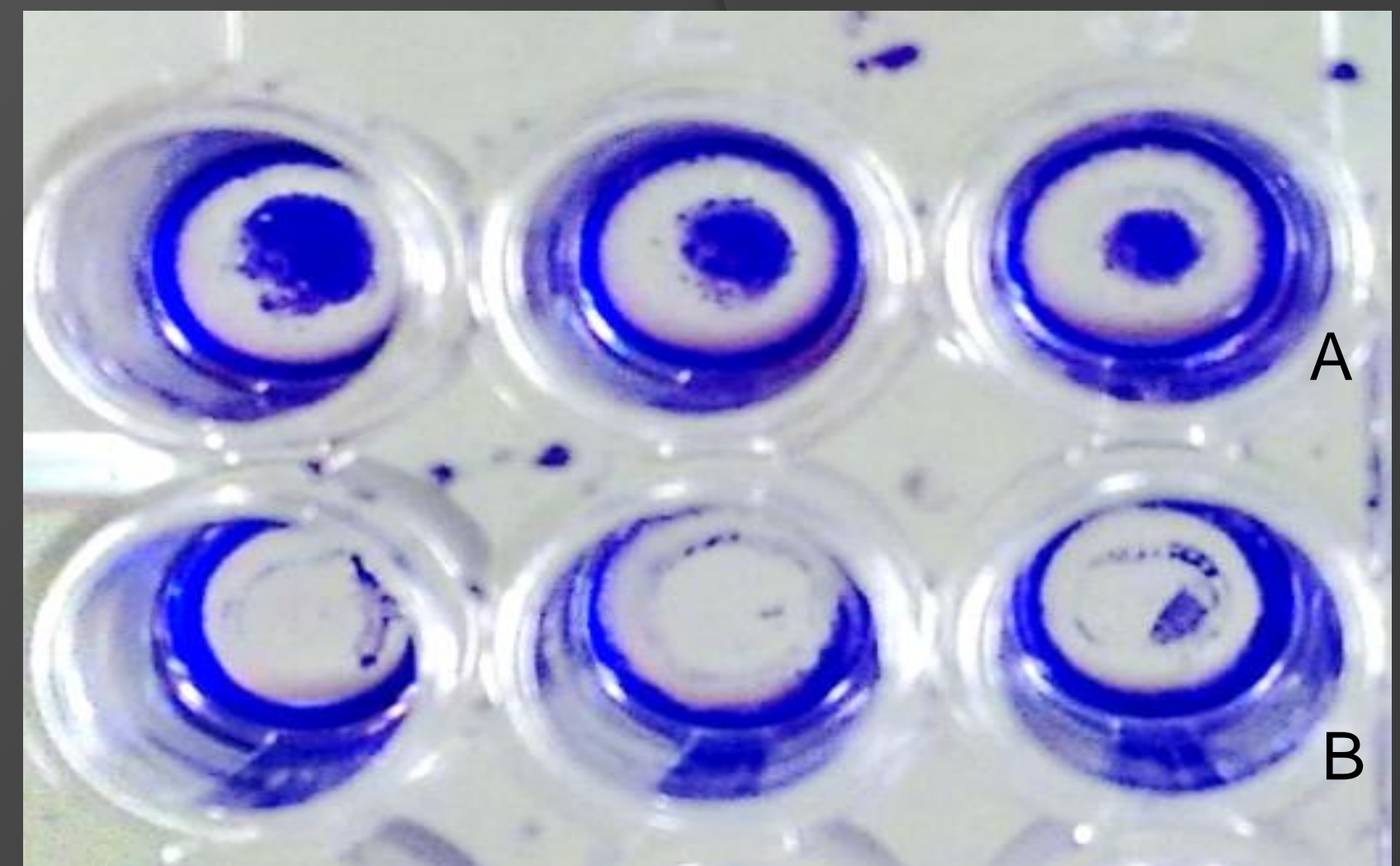


Figura 1. Comparação de duas amostras produtoras de biofilme. A: Amostra de *S. pseudintermedius* forte produtora de biofilme. B: Amostra de *S. pseudintermedius* fraca produtora de biofilme.

A maioria das amostras analisadas apresentaram maior formação de biofilme em pH alcalino. O metabolismo do *S. pseudintermedius* em caldo glicosado gera acúmulo de produtos ácidos devido a utilização da glicose como fonte de energia. É possível que a alcalinidade tenha retardado a acidificação excessiva do meio, danosa à multiplicação bacteriana. Dessa forma, o crescimento em meio alcalino auxiliaria o desenvolvimento do biofilme e a manutenção do mesmo.

Novos experimentos usando diferentes condições (pH, concentração de carboidratos, inibidores) serão realizados com o intuito de elucidar a influência desses fatores na produção de biofilme e sua potencial aplicação em protocolos alternativos para o tratamento de infecções crônicas.

Agradecimentos

Agradecimento ao Laboratório Pathos por ceder gentilmente os isolados e ao pós-doutorando Gustavo Snel pelo apoio técnico.

Referências

- Stepanovic et al.: A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods* 2000 175-179.
- Singh et al.: Characterization of the biofilm forming ability of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. *BMC Veterinary Research* 2013 9:93.
- Bannoehr et al.: *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Veterinary Dermatology* 2012, p. 23.