

Padronização de uma técnica de isolamento de bacteriófagos ambientais contra *Staphylococcus* spp. resistentes a múltiplas drogas

Faizan Ahmad¹, Samuel Sathler Martuchelle¹, Ana Luisa Andrade-Oliveira², Marcia Giambiagi-deMarval², Monalessa Fábria Pereira³, Ciro César Rossi¹

¹Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, ²Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, ³Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Minas Gerais

Introdução

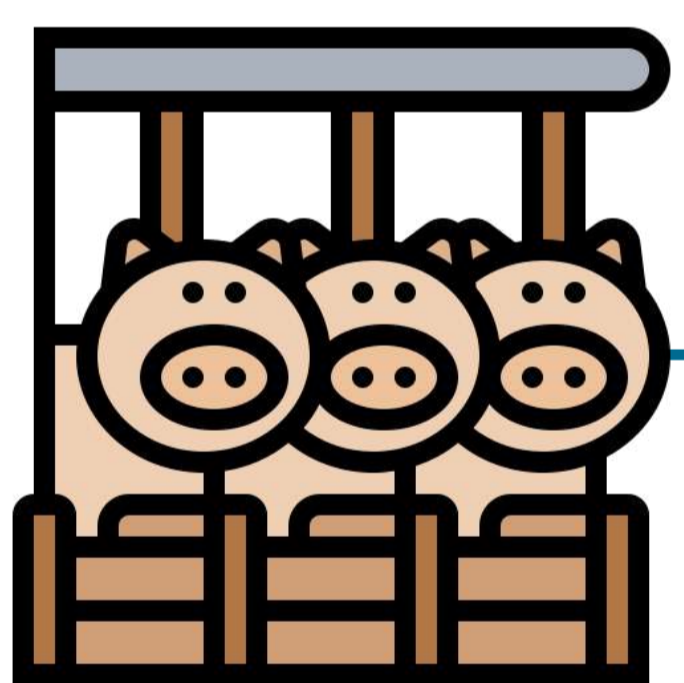
Staphylococcus são bactérias ubíquas e algumas espécies do gênero são **responsáveis por diversas infecções** em seres humanos e animais, variando de simples infecções de pele a graves infecções sistêmicas. O **uso inadvertido de antimicrobianos** no tratamento e prevenção de infecções causadas por elas tem **diminuído as opções terapêuticas**, havendo a emergência de **cepas resistentes** à maioria das drogas disponíveis atualmente. Portanto, o desenvolvimento de **terapias alternativas** aos antibióticos é urgente, dentre as quais a **fagoterapia** tem ganhado destaque. Esta consiste na utilização de bacteriófagos (ou fagos), vírus que atacam bactérias, como agentes terapêuticos altamente específicos e seguros.

Objetivos

Este trabalho teve como objetivo **padronizar uma técnica de isolamento de bacteriófagos** e testá-los **contra** diversas espécies de *Staphylococcus* **multirresistentes** e patógenos oportunistas de humanos e animais.

Metodologia

Etapa I: Coleta de amostras



Fazenda de suínos da Universidade Federal de Viçosa

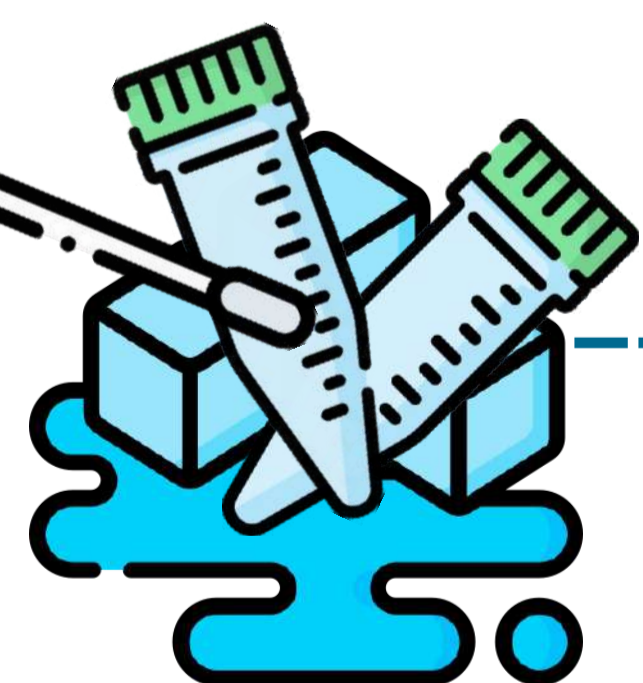


Coleta de amostras (50 mL) de efluentes da suinocultura

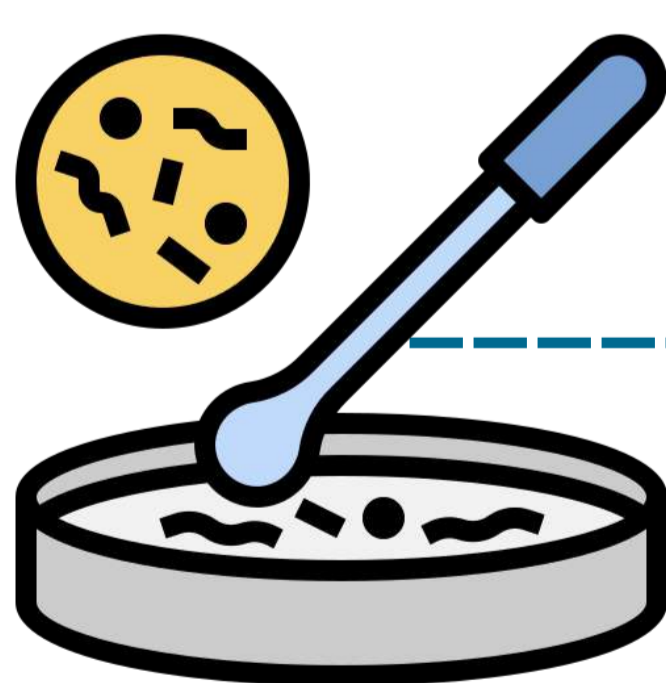


Manutenção em gelo até o processamento

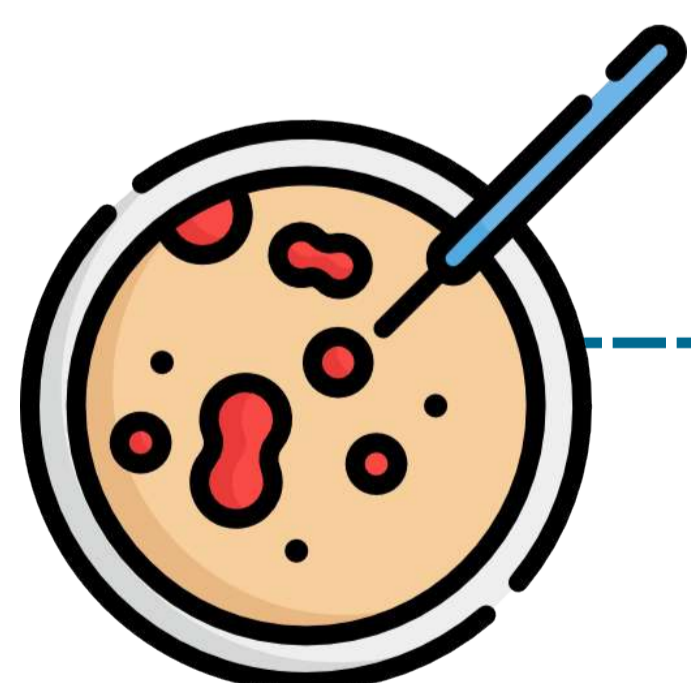
Etapa II: Isolamento de bactérias indicadoras



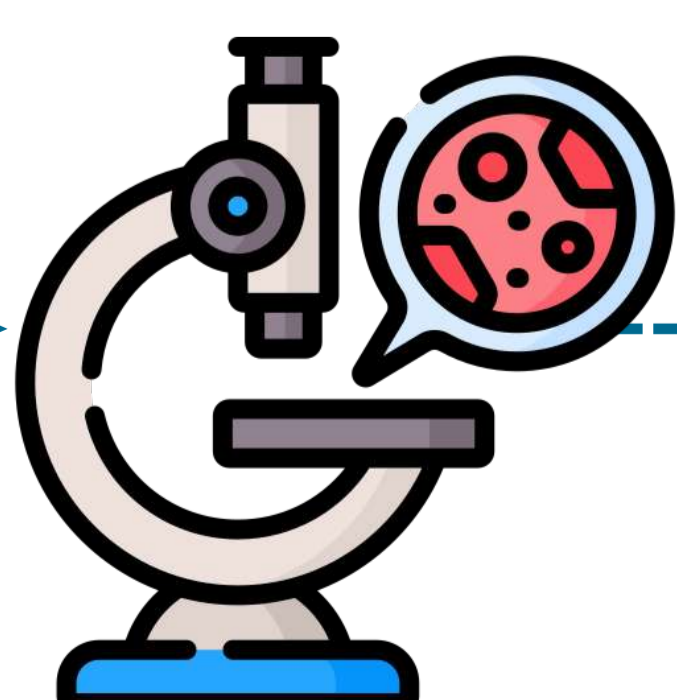
Obtenção de uma alíquota da amostra, com swabs estéreis



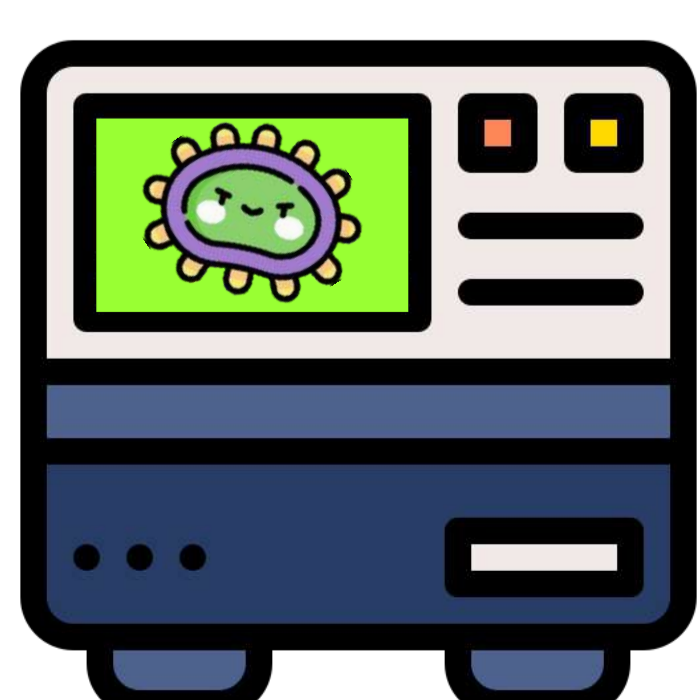
Plaqueamento em meio seletivo (ágar manitol salgado) e incubação por 24h-48h a 37 °C



Seleção de colônias com características de *Staphylococcus*



Seleção de bactérias Gram-positivas e catalase positivas

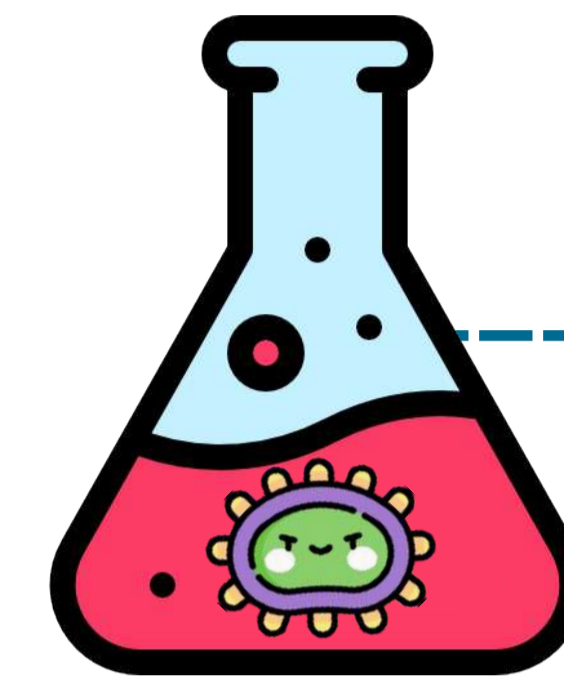


Identificação definitiva da espécie microbiana por MALDI-TOF

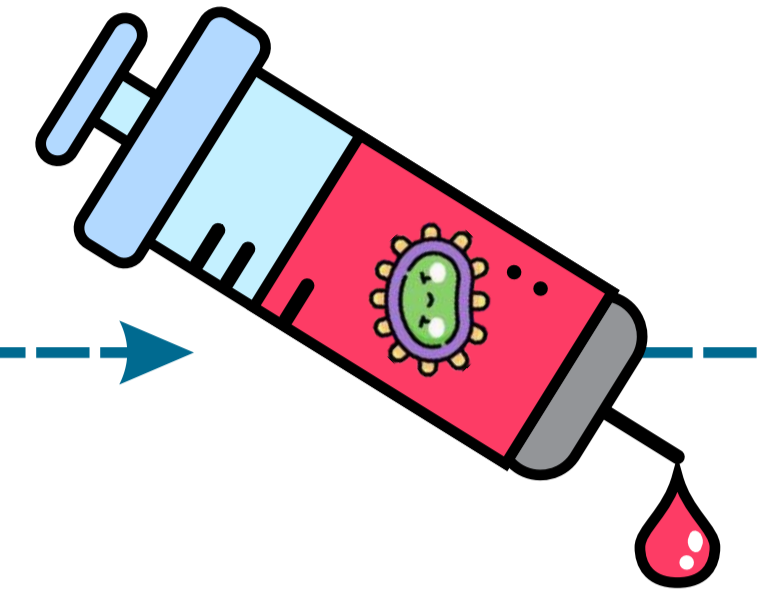
Etapa III: Isolamento e testagem de bacteriófagos



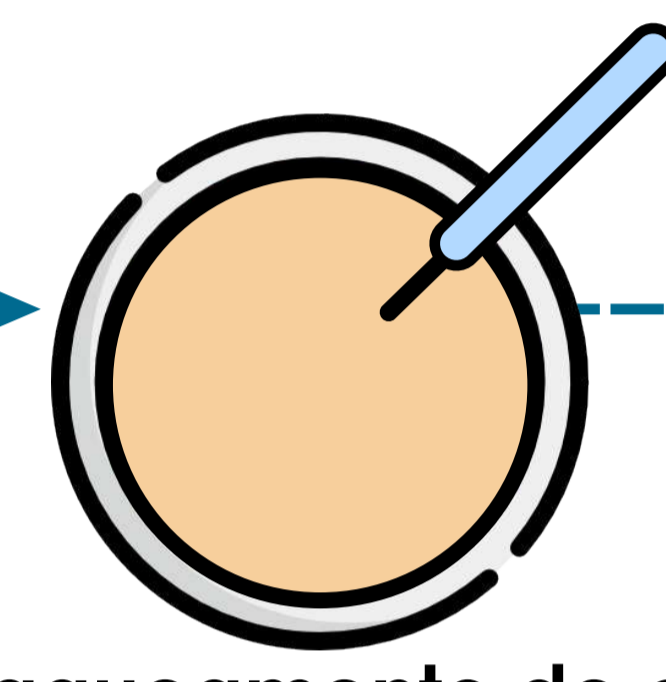
Concentração (10X) da amostra original com 10% de PEG8000



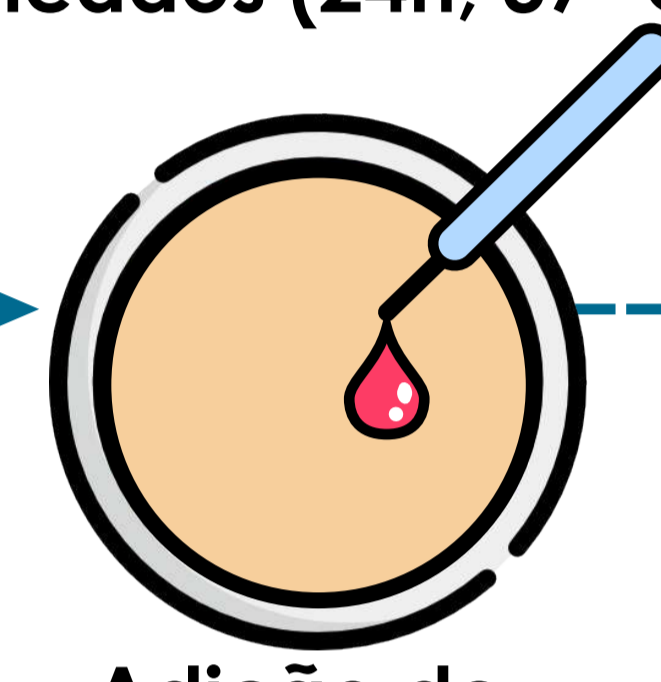
Enriquecimento da amostra de (possíveis) fagos por cultivo com os *Staphylococcus* identificados (24h, 37 °C)



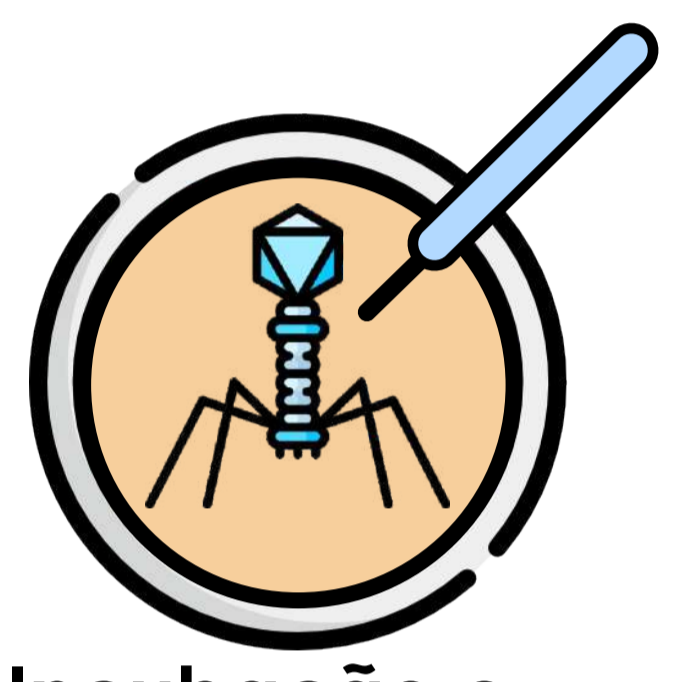
Filtração da solução de fagos, para remover bactérias



Plaqueamento de cepas de *Staphylococcus* em ágar semi-sólido



Adição de microgotas da solução de fagos

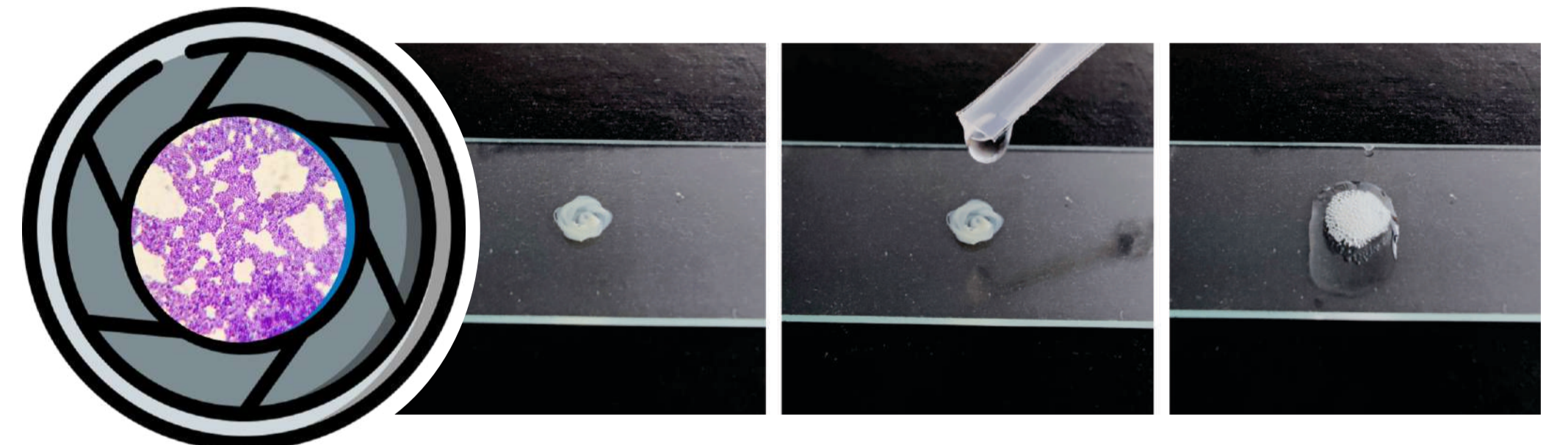


Incubação e observação de placas de lise

Resultados

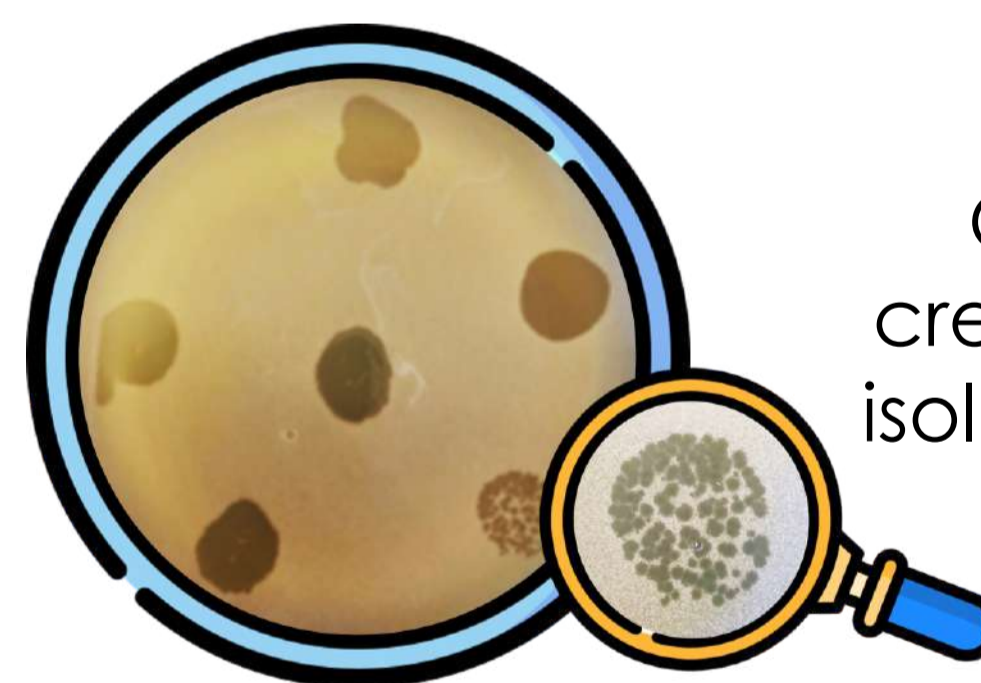
Isolamento bacteriano e identificação

Uma cepa Gram-positiva e catalase positiva (**abaixo**) foi identificada como *S. xylosus* PE2 e selecionada como hospedeira e indicadora



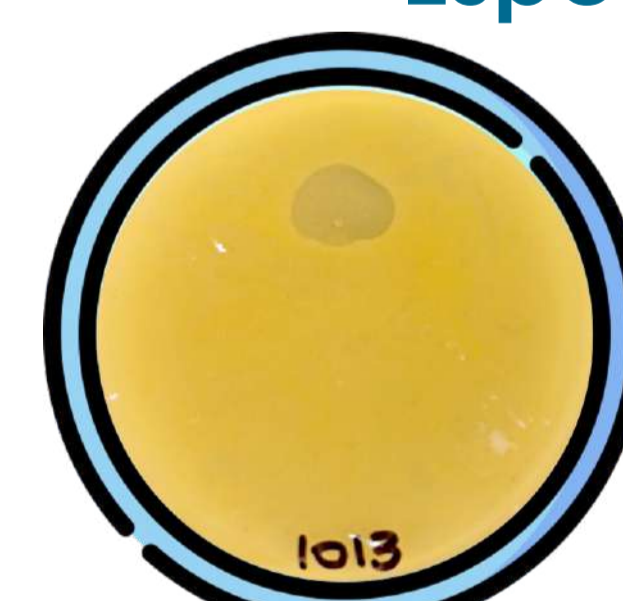
Isolamento de bacteriófagos

O enriquecimento da solução de fagos, em crescimento com a cepa de *S. xylosus* permitiu o isolamento de um bacteriófago (ou uma solução de bacteriófagos) líticos (**esquerda**).



Espectro de ação viral

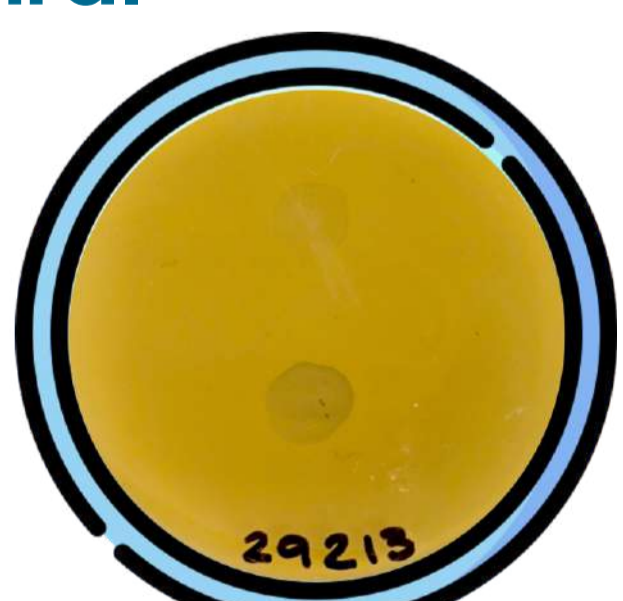
A solução de fagos foi capaz de inibir o crescimento de outras espécies de *Staphylococcus* (**direita**), sendo esses multirresistentes e patógenos de humanos.



Staphylococcus aureus resistente a oxacilina e ciprofloxacina



Staphylococcus epidermidis resistente a cloranfenicol, ampicilina, tetraciclina, oxacilina, eritromicina e cefoxitina



Staphylococcus aureus resistente a oxacilina e cefoxitina

Conclusões e Perspectivas

A metodologia proposta aqui foi **eficiente** no isolamento de fagos e sua atividade contra bactérias multirresistentes demonstra que a **fagoterapia é uma abordagem promissora** no combate à resistência antimicrobiana. Estudos futuros irão caracterizar melhor os fagos e seu espectro de ação.

Agradecimentos