

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ADESIVAS DE LINHAGENS DE
***Staphylococcus aureus* OBTIDAS DE LABORATÓRIOS DE ANÁLISES**
CLÍNICAS DA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE

Estudante: José Matias Anselmo

Av. Jean Emile Favre, nº 422, Imbiribeira, Recife - PE, CEP: 51.200-060

Faculdade Pernambucana de Saúde - FPS

Telefone: 081. 988608904

Email: chefj.matias@yahoo.com.br

Orientador: Prof. Dr. Luís Cláudio Nascimento da Silva

Av. Jean Emile Favre, nº 422, Imbiribeira, Recife - PE, CEP: 51.200-060

Faculdade Pernambucana de Saúde – FPS

Telefone: 081. 994508770

Email: luisclaudionsilva@yahoo.com.br

Co-orientador: Prof. Bel. Jose Adelson Alves do Nascimento Junior

Av. Tv. Prof. Moraes Rêgo, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901

Universidade Federal de Pernambuco

Telefone: 087. 999498687

Email: Junior.aalves@live.com

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ADESIVAS DE LINHAGENS DE *Staphylococcus aureus*
OBTIDAS DE LABORATÓRIOS DE ANÁLISES CLÍNICAS DA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE

RESUMO: O *Staphylococcus aureus* por ser um microorganismo versátil pode causar desde infecções assintomáticas até sepse. É um patógeno oportunista associado à colonização assintomática de pele e mucosa, provocando infecção quando as barreiras fisiológicas são rompidas causa infecções simples até graves e potencialmente fatais. Seu alto índice de infecção se dá graças a diversos fatores como virulência, enzimas, toxinas e outras proteínas que elevam a patogenicidade e permitem a aderência, resistência à fagocitose e lise de células eucarióticas. Entre os fatores, a formação de biofilmes e a capacidade de aderir a células hospedeiras são cruciais para o início e a manutenção da infecção, e estão diretamente ligados a hidrofobicidade da superfície. Neste contexto este trabalho teve como objetivo avaliar as propriedades adesivas de linhagens de *S. aureus* obtidas de diferentes laboratórios de Análises Clínicas da Região Metropolitana do Recife. A avaliação da hidrofobicidade da superfície celular foi realizada pelo Ensaio de Adesão Microbiana a Solvente, que consiste na afinidade bacteriana a um solvente apolar (hexadecano). Em seguida foi mensurada a formação de biofilmes através da adesão das células bacterianas a placas de polietileno (96 poços) utilizando uma solução de cristal violeta como revelador.

Palavras-chave: Biofilme, *Staphylococcus aureus*, adesão microbiana, relação parasito/hospedeiro.

ABSTRACT: The *Staphylococcus aureus* is the versatile microorganism that can cause asymptomatic infections to sepsis. It is an opportunistic pathogen associated with asymptomatic colonization of the skin and mucosa causing infection when the physiological barriers are broken in simple infections to severe and potentially fatal. Its high rate of infection is because to several factors such as virulence, enzymes, toxins

and other proteins that increase the pathogenicity and allow adherence, resistance to phagocytosis and lysis of eukaryotic cells. Among the factors, the formation of biofilms and the ability to adhere to host cells are crucial for the initiation and maintenance of infection and are directly attached to the surface hydrophobicity. In this context, this study aimed to evaluate the adhesive properties of strains of *S. aureus* obtained from different laboratories of Clinical Analyses of the Metropolitan Region of Recife. Evaluation of cell surface hydrophobicity was done by Microbial Adhesion Assay solvent, which constitutes bacterial affinity to a polar solvent (hexadecane). Then measured was the formation of biofilms by adhesion of bacterial cells to polyethylene plates (96 wells) using a crystal violet solution as developer.

Key words: Biofilm, *Staphylococcus aureus*, Microbial adhesion, Relation parasite / host.

AGRADECIMENTOS

Obrigado, Pai, por tornar minha conquista expressão fiel de vossa vontade! Que sempre em nosso gesto, exista o vosso gesto! Que em minha fala, exista a vossa fala! Que eu saiba interpretar todas as vossas bênçãos e ouvir vossos ensinamentos! Sintonizai-me os sons com a força do mais puro amor, para que a regência da conversa possa Expandir a vida, na multiplicação da própria vida. “Obrigado, Pai, por vosso amor incondicional, pela força e amparo em momentos tão difíceis. Eu só tenho por Vós gratidão, porque sois para mim guarda, guia e adjutor.”

Obrigado Deus pai todo poderoso que me deu a oportunidade de vivenciar coisas tão maravilhosas em minha vida.

Aos meus queridos pais por terem se sacrificado tanto para que eu conseguisse chegar onde estou, eu não seria nada sem os ensinamentos deles. Minha querida irmã que mesmo distante sempre teve palavras de carinho e atenção.

Aos meus filhos que mesmo sem entender muito o que acontecia fizeram parte desta longa caminhada ajudando com todo afeto e carinho necessário.

O meu orientador, prof. Dr. Luís Cláudio, que acreditou em mim, que dividiu comigo as suas ideias, conhecimento e experiências e que sempre me motivou. Quero também expressar o meu reconhecimento e admiração pela sua competência profissional e minha gratidão pela sua amizade, por ser um profissional extremamente qualificado e pela forma humana que conduziu minha orientação.

A minha esposa Luciana que sempre que eu tinha algum problema, ela me dava forças para continuar, sendo uma pessoa especial na minha vida.

Meus amigos de turma Natalya Maia, Livia, Tiago, Colatino e José Gilberto a quem construí laços eternos. Obrigada por todos os momentos maravilhosos que

estivemos juntos, mesmo os mais difíceis foi um prazer para mim estar com todos vocês.

A meus Tutores e professores pela atenção e dedicação todos esses anos.

A meu amigo e co-orientador de pesquisas da UFPE José Adelson Junior por toda paciência, humildade, simplicidade, competência profissional, são pessoas como você que fazem disseminar o prazer da prática da ciência e o estudo de todos os seus correlatos, é um prazer imenso ter você como amigo.

A professora Márcia que disponibilizou os laboratórios do departamento de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, e a todos que fazem parte do mesmo.

A todos que fazem a Faculdade Pernambucana de Saúde, agradeço a cada um que me ajudou da melhor forma possível nesta longa caminhada.

I. INTRODUÇÃO

Produtor de coagulase e pertencente ao grupo das Eubactérias, o *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva. O gênero *Staphylococcus* faz parte da família *Staphylococcaceae* que inclui também os gêneros *Gamella*, *Micrococcus* e *Salinicoccus*^{1,2}. O gênero compreende 38 espécies; dessas 16 podem ser encontradas na pele e mucosas do ser humano, podem causar infecções localizadas ou sistêmicas, sendo *S. aureus* a espécie mais virulenta e estudada sendo uma das espécies de interesse humano que possui a enzima coagulase³.

S. aureus é um microorganismo de grande importância clínica, sendo considerado um dos principais agentes infecciosos do último século⁴. Visto como patógeno oportunista associado à colonização fisiológica de pele e mucosa, provoca infecção quando essas barreiras fisiológicas são rompidas, permitindo a proliferação bacteriana, podendo essas infecções serem simples até graves^{5,6}.

É um microorganismo versátil, responsável por um amplo espectro de doenças, como septicemia, endocardite, pneumonia, osteomielite, artrite séptica, infecções da pele, de feridas, do sistema nervoso central, do trato urinário e infecções associadas com dispositivos intravasculares e corpos estranhos^{7,8,9,10,11,12,13,14,15}. Infecção por *S. aureus* é uma das principais causas de morbidade e mortalidade pelo mundo^{16,17}.

Esta espécie representa um sério problema de saúde pública, sendo considerado o principal agente causador de infecções hospitalares, onde cepas resistentes a metilina e outras classes de antibióticos, são endêmicos e pode ocorrer uma diminuição da sensibilidade a vancomicina^{19,20}.

Considerando como patógeno oportunista, o *S. aureus* pode causar doenças invasoras, devido à presença de fatores de virulência que aumentam sua possibilidade

de alcançar sítios normalmente estéreis^{18,21}. Infecções graves provocadas por este microorganismo podem ocorrer frequentemente em pacientes hospitalizados podendo gerar consequências preocupantes, principalmente com relação à antibioticoterapia²². Mais de 95% dos *S. aureus* em pacientes com infecções, em todo o mundo, não são sensíveis a tratamentos com antibióticos como penicilina e ampicilina²³.

Tendo a capacidade adesiva de *S. aureus* à célula hospedeira depende também do nível de hidrofobicidade de sua superfície celular²⁴.

A formação de biofilme é outro aspecto muito importante para muitas infecções por *S. aureus*, e infecções de dispositivos médicos implantados. Isto é verdade não só em relação à patogênese da infecção em si, mas também no que diz respeito à terapia antimicrobiana. É bem verdade, que a presença de um biofilme limita a eficácia da terapêutica antimicrobiana para o ponto que a intervenção cirúrgica é muitas vezes necessária para remover tecidos infectados e / ou dispositivos implantados²⁵.

II. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

II.1. Aquisição das Amostras Clínicas

As cepas bacterianas foram obtidas em Laboratórios da região metropolitana do Recife. As amostras foram selecionadas conforme a variação do sítio de infecção, como visto na tabela 1.

II.2. Antibiograma

Foram testados 9 antibióticos de diferentes classes para a avaliação do perfil de resistência das cepas, encontrados na tabela 2.

II.3. Avaliação da suscetibilidade a antimicrobianos

Os microrganismos testados foram inoculados por suspensão direta em água destilada autoclavados a partir de cultura com 24 horas de repicagem em meio ágar Mueller-Hinton para os microrganismos da coleção. A suspensão foi ajustada através da escala padrão 0,5 de McFarland. A avaliação da suscetibilidade a diversos antimicrobianos (cloranfenicol, eritromicina, ampicilina, clindamicina, oxacilina, linezolida, tetraciclina, vancomicina, gentamicina) foi realizada pelo método de difusão em disco proposto por Baur et al.²⁷. A determinação da Concentração Mínima Inibitória foi realizada através do método de microdiluição como descrito no CLSI²⁸, utilizando solução de Resazurina (0.01%) como indicador de crescimento bacteriano como mostrado na tabela 3.

II.4. Método do Vermelho Congo

A formação de biofilme também foi avaliada pelo método desenvolvido por Freeman et al. (1989). O cultivo foi feito no meio de cultura denominado Ágar Vermelho Congo, constituído de caldo infusão cérebro-coração 37g/L, sacarose 50g/L, ágar 10g/L e corante vermelho Congo 0,8g/L. O corante vermelho Congo foi preparado como solução aquosa concentrada, autoclavado separadamente a 120°C por 15 minutos, sendo adicionado ao ágar quando este atingiu a temperatura de 55°C. *S. aureus* foram semeados sobre o meio por estrias com alça bacteriológica, incubados em aerobiose a 35-37°C por 24 horas e após, deixados em temperatura ambiente por mais 18 horas. Os *S. aureus* produtores de colônias negras foram considerados slime positivo, enquanto que as colônias que mostraram cor vermelha foram consideradas *slime* negativo.

II.5. Avaliação da hidrofobicidade da superfície extracelular

A hidrofobicidade dos isolados de *S. aureus* foram avaliadas pelo Ensaio de Adesão Microbiana a Solvente proposto por Bellon-Fontaine e Rault²⁶, que consiste na afinidade bacteriana a um solvente apolar (hexadecano). Logo após as células bacterianas foram centrifugadas a 7000 g por 5 minutos e ressuspendidas em tampão fosfato de potássio (0,01 M; pH 6,5) a uma absorbância a 600 nm (Abs1) de 0,4 (~ 10⁸ UFC ml⁻¹). Esta suspensão foi misturada ao solvente (1:6 v/v) por agitação durante 90 s até formar uma emulsão. Após repouso em temperatura ambiente por 20 min (com separação de duas fases) a absorbância da fase aquosa foi mensurada (Abs2). A porcentagem de adesão microbiana ao solvente hidrofóbico (AMSH) foi expressa seguindo a fórmula:

$$\text{AMSH (\%)} = (1 - \text{Abs2}/\text{Abs1}) \times 100$$

II.6. Formação de Biofilme.

Os isolados clínicos foram testados quanto a formação de biofilme através da metodologia descrita por Stepanovic et al. (2007). Os isolados apresentaram formação fraca, moderada e forte quanto a formação de biofilme como descrito por Trentinet al. (2011).

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na totalidade, foram utilizadas 17 cepas de *Staphylococcus aureus*, sendo uma cepa padrão do Departamento de Antibióticos da UFPE e as demais amostras clínicas, conforme a tabela 4.

Os resultados dos antibiogramas a classe das penicilinas apresentaram uma alta taxa de resistência, a ampicilina registrou 100%(16/16) de resistência, a oxacilina registrou 37,5%(6/16) e 63,5%(10/16) de sensibilidade. No grupo dos glicopeptídeos apresentou uma alta sensibilidade, avancomicina registrou 12,5%(2/16) de resistência e 87,5%(14/16) de sensibilidade. No grupo dos aminoglicosídeos, a gentamicina registrou 12,5%(2/16) de resistência e 6,25%(1/16) de resistência intermediária e 81,25%(13/16) de resistência. No grupo das lincosaminas, a clindamicina registrou 56,25%(9/16) de resistência e 43,75%(7/16) de sensibilidade. No grupo do cloranfenicol o registro foi de 18,75%(3/16) de resistência e 6,25%(1/16) de resistência intermediária e 75%(13/16) de resistência. No grupo da tetraciclina o registro foi de 31,25%(5/16) de resistência, 18,75%(3/16) de resistência intermediária e 50%(8/16) de sensibilidade. No grupo dos macrolídeos a Eritromicina registrou 50%(8/16) de resistência e 50%(8/16) de sensibilidade e por fim a Linezolida que registrou, 31,25%(5/16) de resistência e 68,75%(11/16) de sensibilidade.

Uma análise de amostras clínicas provenientes de infecções de pele e tecidos moles de pacientes ambulatoriais de um hospital universitário em Recife - PE, Brasil e avaliou o perfil de resistência antimicrobiana das linhagens de *S. aureus*, e foram observados resistência a diversas classes de antibióticos que corroboraram com o estudo proposto.(Carcido,2012)

Os *Staphylococcus* são reconhecidos por infecções causadas com a presença de biofilme que é um importante fator de virulência em várias bactérias. A etapa chave na formação de biofilme é a secreção de um componente extracelular "slime" denominado polissacarídeo de adesão intercelular (PIA).(OSMAN, 2015). O slime é definido como a substância polimérica extracelular, também conhecido como EPS, que é formada principalmente por PIA em *S. aureus* (FABRES-KLEIN, 2015).

De acordo com Raza et al(2008), a formação de biofilme é um mecanismo de resistência usado por bactérias para evitar antimicrobianos. O EPS secretadas pelas bactérias atua como uma barreira que pode desempenhar um papel de proteção, evitando a absorção e a penetração de agentes antimicrobianos.

Neste estudo a formação de biofilme foi avaliada de acordo com protocolo descrito por Stepanovic et al.(2007). Todos os isolados investigados conforme a metodologia utilizada, apresentaram forte formação de biofilme.

Em um estudo realizado por Meghrni (2014) foi investigada a produção de *slime* usando o método do ágar vermelho congo, por 21 linhagens de *S. aureus* isolados a partir da cavidade oral de pacientes da Tunísia e revelou que 91% das linhagens foram produtoras de *slime*.

Essa mesma técnica, ágar vermelho congo, utilizada para verificar a formação de biofilme (os resultados expostos na tabela 5) indicam que 81,25% (13/16) das linhagens estudadas foram positivas, apresentando coloração quase negra ou negra e consistência seca ou áspera seguindo a escala de cores estimada por Arciola (2002). (tabela5)

Segundo estudos realizados por Watts et al.(1994), a existência de microrganismos resistentes a antibióticos, deve-se em parte ao uso indiscriminados desses compostos, tanto na sua seleção quanto no cumprimento inadequado de sua administração. A necessidade de conhecimento dos patógenos e a farmacocinética dos antimicrobianos permitifazer um melhor uso dos antibióticos, de maneira que se possa evitar o uso errôneo desses fármacos que se dita sensível quando, na realidade, é possível que a bactéria se proteja da ação antimicrobiana pela atividade do biofilme.

Portanto, entender o comportamento de agentes infecciosos produtores de biofilme permitirá um melhor manejo das patologias que estes participam, assim como a implementação de medidas que conduzam sua prevenção e seu tratamento.

A hidrofobicidade é uma medida da resistência de compostos não polares para dissolução em água. Por conseguinte, a hidrofobicidade da superfície de uma molécula é a sua tendência para interagir com os grupos não polares (Rojas-Grau e et al.,2009; Murillo-Mart'inezand et al., 2011). As superfícies das células bacterianas são carregadas negativamente, entretanto contém componentes hidrofóbicos em sua superfície, variando de acordo com a espécie e a linhagem(GOULTER et al.,2009).

Alguns autores relacionam a dificuldade do controle de infecções hospitalares em decorrência da maior sobrevivência de bactérias em meio aquoso como sangue (Smith et al.,1996). Bactérias, ao persistirem no ambiente hospitalar, apresentam maior sobrevivência por tornarem-se mais adaptadas (Wagenvoort et al., 2000). Das cepas testadas, 70% obtiveram leitura de hidrofobicidade acima da cepa padrão (ATCC).

IV. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que queos isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*, são fortes formadores de biofilme, o que os atribui uma característica de resistência. As propriedades adesivas visualizadas nas cepas de *S. aureus* melhoram sua capacidade de formação de biofilme melhorando conseqüentemente sua resistência, quanto a esses estudos podemos verificar o aumento nas resistências de cepas de *Staphylococcus aureus* quanto a sua hidrofobicidade e formação de biofilme.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALCARÁZ, L.E.; SATORRES, S.E.; LUCERO, R.M. & CENTORBI, O.N.P. Species identification, slime production and oxacillin susceptibility in coagulase – negative staphylococci isolated from nosocomial specimens. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 34, p. 45-51, 2003.
2. ARCIOLA, C.R.; CAMPOCCIA, D.; GAMBERINIA, S.; CERVELLATIA, M.; DONATIA, E.; MONTANARO, L. Detection of slime production by means of an optimized Congo red agar plate test based on a colorimetric scale in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates genotyped for *ica* locus. **Biomaterials**, v. 23, p. 4233–4239, 2002.
3. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American J. Clin.**, n. 45, p. 493, 1996.
4. BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia Médica**. 21ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 609, 2000.
5. CALDERÓN E. J., MONTEROS L. E. E., BELTRAN R. A. Epidemiology of drug resistance: The case of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci infections. **Saúde Pública do México**, vol. 44, n. 2, mar.-abr. 2002.
6. CARACIOLO, F.B.; MACIEL, M. A. V.; SANTOS, J.B.; RABELO, M. A.; MAGALHÃES, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Staphylococcus aureus* provenientes de infecções de pele e tecidos moles de pacientes ambulatoriais de um hospital universitário em Recife - PE, Brasil. **AnBrasDermatol**, v. 87, n. 6, p. 857-6, 2012.
7. CARVALHO, C. et al. Monitoramento microbiológico sequencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica. **J Pediatr**, v. 81, n. 1, p. 29-33, 2005.
8. CASSETTARI, V. C.; STRABELLI, T.; MEDEIROS, E. A. S. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? **Braz J Infect Dis**, v. 9, n. 1, p. 70-6, 2005.
9. CAVALCANTI, S. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* introduced into intensive care units of a university hospital. **Braz J Infect Dis**, v. 9, n. 1, p. 5663, 2005.

10. CHRISTENSEN, G.D.; SIMPSON, W.A.; BISNO, A.L.; BEACHEY, E.H. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. **Infect Immun.** v.37, p. 318-26, and 1982.
11. COHEN, M.L. Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era. **Science.** v. 257, p. 1050-1055, 1992.
12. COSTERTON, J.W. *et al.* Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science.** n. 284, p. 1318-322, 1999.
13. COSTERTON, J.W.; STEWART, P.; GREENBERG, P. Bacterial Biofilms: a common cause of persistent infections. **Science.** v. 284, p. 1318-22, 1999.
14. DAVEY, M. E.; O'TOOLE, G.A. Microbial biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. **Microbiol. Molec. Rev.**v. 64, n.4, p. 847-867, 2000.
15. FABRES-KLEIN, M.H.; SANTOS, M.J.C.; KLEIN, R.C.; SOUZA, G.N.; RIBON, A.O.B. An association between milk and slime increases biofilm production by bovine *Staphylococcus aureus*. **BMC Veterinary Research**, v.205, n.3, p. 5-8, 2015.
16. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J. Clin. Pathol.* 42: 872-874
17. KOMATSUZAWA, H. Expression of Virulence Factors by *Staphylococcus aureus* Grown in Serum. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 77, n. 22, p. 8097-8105, Nov. 2011.
18. KONEMAN Winn, W.C.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Koneman, E.W.; Procop. G.W.; Schreckenberger, P.C.; Woods, G.L. **Diagnóstico microbiológico.** 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 11, parte 1, 2001.
19. LANDIS JR, K.G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, p. 159-174, 1977.
20. Stepanovic S, Vukovic D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukic S, Cirkovic I, et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS.* 2007
21. MEGHRNI, A.; NEJMAA, M.B; HENTATI, H.; MAHJOUBA, A.; MASTOURI, M. Adhesive properties and extracellular enzymatic activity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from oral cavity. **Microbial Pathogenesis**, v. xxx, p. 1-6, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2014.05.002>>

22. TRENTIN, D.S. et al. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. *Journal of Ethnopharmacology*
23. OOGAI, Y.; MATSUO, M.; HASHIMOTO, M.; KATO, F.; SUGAI, M.; OSMAN, K. M.; ABD EL-RAZIK, K. A.; MARIE, H. S. H.; ARAFA, A. Relevance of biofilm formation and virulence of different species of coagulase-negative staphylococci to public health. **Eur J ClinMicrobiol Infect Dis**. DOI 10.1007/s10096-015-2445-3
24. WATTS J.; YANCEN, R. A 4-year survey of antimicrobial susceptibility trends for isolates from cattle with bovine respiratory disease in NorthAmerica. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, p. 725-731, 1994.
25. Rojas-Grañu MA, Soliva-Fortuny R, Martín-Belloso O. 2009. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends Food SciTechnol* 20:438–47.
26. Bellon-Fontaine M-N, Rault J, Van Oss CJ (1996) Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells.
27. GOULTER, R.M.; GENTLE, I.R.; DYKES, G.A. Issues in determining factors influencing bacterial attachment: a review using the attachment of *Escherichiacoli* to abiotic surfaces as an example. *Letters in Applied Microbiology*, 2009. Inpress.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sítios de infecção dos isolados clínicos de *S. aureus* testados

Tabela 2. Grupos dos antibióticos usados na avaliação da suscetibilidade a antimicrobianos.

Tabela 3. Relação entre a concentração dos antibióticos no disco e leitura do diâmetro do halo de inibição para classificação do *Staphylococcus* em resistente(R), intermediário (I) e sensível(S).

Tabela 4. Resultados adquiridos através de teste de sensibilidade a antibióticos.

Tabela 5. Aparência e produção de Biofilme das colônias de *Staphylococcus aureus* no meio de cultura Ágar Vermelho Congo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aparência do *Staphylococcus aureus* no meio de cultura Ágar Vermelho Congo.

Figura 2. Leitura do diâmetro do halo de inibição para classificação do *Staphylococcus* em resistente(R), intermediário(I) e sensível(S).

TABELA 1. Sítios de infecção dos isolados clínicos de *S. aureus* testados

Amostras	Sítio de infecção
FPSB01	Sangue
FPSB02	Ponta de cateter
FPSB03	Ponta de cateter
FPSB04	Secreção de ferida operatória
FPSB05	Secreção nasal
FPSB06	Ponta de cateter
FPSB07	Secreção traqueal
FPSB08	Sangue
FPSB09	Secreção de úlcera
FPSB10	Ferida operatória
FPSB11	Secreção nasal
FPSB12	Secreção de ferida operatória
FPSB13	Ponta de cateter
FPSB14	Sangue
FPSB15	Secreção traqueal
FPSB16	Ponta de cateter
ATCC 02	UFPEDA

TABELA 2. Grupos dos antibióticos usados na avaliação da suscetibilidade a antimicrobianos.

Grupos	Antibióticos	Concentração
Macrolídeos	Eritromicina	25 µg
Lincosaminas	Clindamicina	2 µg
B-Lactâmicos	Oxacilina	1 µg
B-Lactâmicos	Ampicilina	10 µg
Oxazolidinonas	Linezolida	30 µg
Tetraciclínas	Tetraciclínas	30 µg
Glicopeptídeos	Vancomicina	30 µg
Cloranfenicol	Cloranfenicol	30 µg
Aminoglicosídeos	Gentamicina	10 µg

TABELA 3. Relação entre a concentração dos antibióticos no disco e leitura do diâmetro do halo de inibição para classificação do *Staphylococcus* em resistente(R), intermediário(I) e sensível(S).

Agente	Código	Halos de inibição		
		R	I	S
Ampicilina	AMP	28	-	29
Eritromicina	ERI	13	14	18
Clindamicina	CLI	14	15	21
Cloranfenicol	CLO	12	13	18
Gentamicina	GEN	12	13	15
Linezolida	LIN	20	21	23
Oxacilina	OXA	10	11	13
Tetraciclina	TET	14	15	19
Vancomicina	VAN	-	-	17

Este teste não é mais recomendado pelo CLSI, para verificação da sensibilidade do *S. aureus*, por não apresentar resultados confiáveis pelo método de difusão em disco.

TABELA 4. Resultados adquiridos através de teste de sensibilidade a antibióticos.

Amostras	Eritromicina	Clindamicina	Oxacilina	Ampicilina	Linezolida	Tetraciclina	Vancomicina	Cloranfenicol	Gentamicina
FPSB01	R	S	R	R	R	S	S	S	S
FPSB02	S	R	S	R	R	R	S	S	R
FPSB03	R	R	R	R	S	S	S	S	S
FPSB04	R	R	S	R	S	S	S	S	S
FPSB05	S	S	R	R	R	I	S	S	S
FPSB06	S	S	S	R	S	I	S	S	S
FPSB07	S	S	S	R	R	S	R	S	S
FPSB08	S	S	S	R	S	S	S	S	S
FPSB09	R	R	R	R	S	S	S	R	I
FPSB10	R	R	S	R	S	R	R	S	S
FPSB11	R	R	R	R	S	R	S	S	S
FPSB12	S	S	S	R	S	R	S	R	S
FPSB13	R	R	S	R	S	S	S	R	S
FPSB14	S	R	S	R	S	S	S	S	S
FPSB15	R	R	R	R	R	I	S	I	R
FPSB16	S	S	S	R	S	R	S	S	S

TABELA 5. Aparência e produção de Biofilme das colônias de *Staphylococcus aureus* no meio de cultura Ágar Vermelho Congo.

Isolado	Coloração	Consistência	Slime
FPSB01	Quase negra	Seca e áspera	+
FPSB02	Negra	Seca	+
FPSB03	Vermelha	Áspera	-
FPSB04	Quase Negra	Áspera	+
FPSB05	Vermelha	Cristalina	+
FPSB06	Quase negra	Áspera	+
FPSB07	Quase Negra	Seca	+
FPSB08	Negra	Áspera	+
FPSB09	Quase negra	Áspera	+
FPSB10	Negra	Áspera	+
FPSB11	Vermelha	Áspera	-
FPSB12	Quase Negra	Áspera	+
FPSB13	Quase Negra	Seca e Áspera	+
FPSB14	Vermelha	Cristalina	-
FPSB15	Quase negra	Seca e áspera	+
FPSB16	Negra	Seca	+

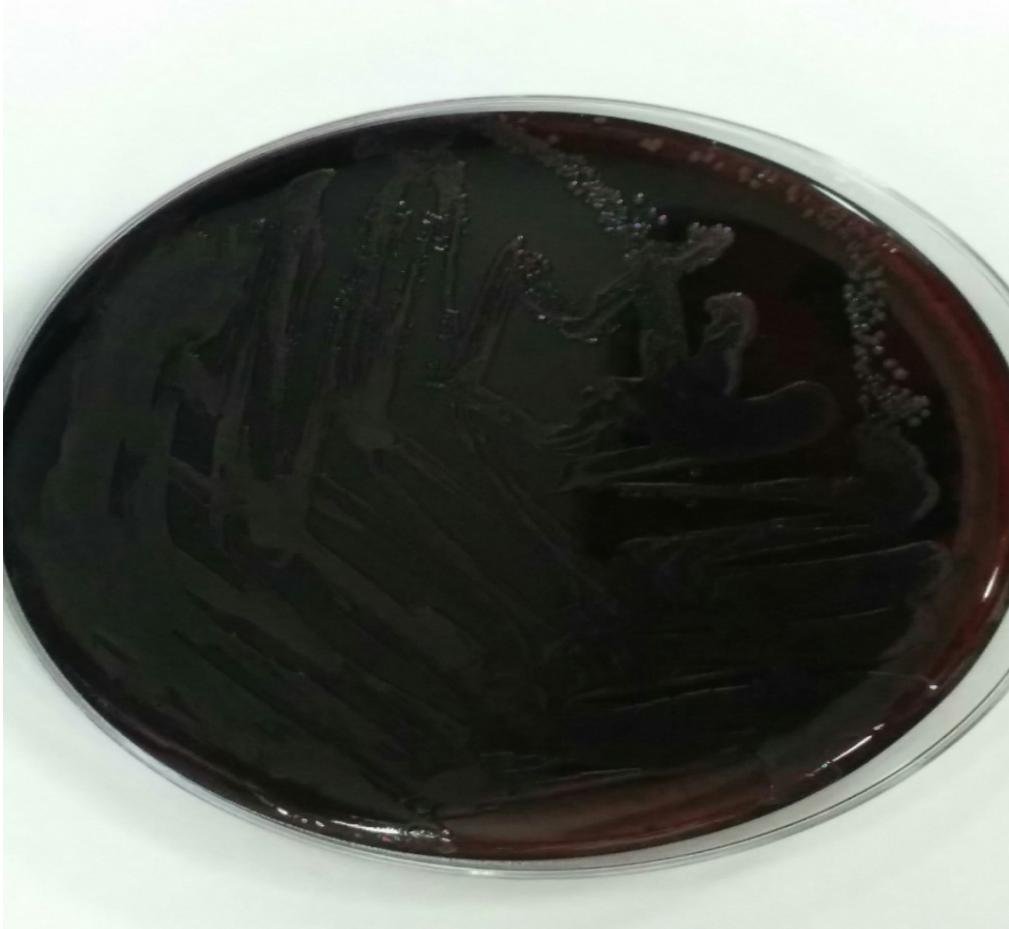


FIGURA 1. Aparência do *Staphylococcus aureus* no meio de cultura Ágar Vermelho Congo



FIGURA 2. Leitura do diâmetro do halo de inibição para classificação do *Staphylococcus* em resistente(R), intermediário (I) e sensível(S).

RESUMO