

MICROBIOLOGIA

AValiação dos Níveis de Tolerância em Linhagens de *Staphylococcus aureus* Induzidas por Vancomicina

Ludmila Casagrande Andrade^{1*}; Jéssica de Cássia Teixeira Birro¹; Kênia Valéria dos Santos¹

(1) Universidade Federal do Espírito Santo - UFES. *e-mail para correspondência: ludmilacasagrande1@gmail.com.

A redução da susceptibilidade de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) frente a diferentes antimicrobianos há anos mostra associação com falhas subterapêuticas, principalmente em infecções crônicas. A tolerância é um mecanismo de sobrevivência no qual o microrganismo sensível se torna capaz de sobreviver na presença de concentrações elevadas de antimicrobianos bactericidas, podendo ocasionar falhas terapêuticas como recidivas e infecções crônicas. Desta forma o objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de tolerância de *S. aureus* a antimicrobianos, utilizando a técnica de disco-difusão modificado. Primeiramente foi feita a padronização com a linhagem de referência *S. aureus* (ATCC® 29213™ parental) considerada como não tolerante. A amostra parental foi exposta previamente à vancomicina em diferentes concentrações (10µg/mL e 100µg/mL) por 36 horas e 6 horas respectivamente, gerando as linhagens E10 e E100. Inicialmente foram testadas doses de 0,5µg a 2,5µg de cada antimicrobiano, considerando os valores de CIM de cada droga para estas linhagens (CIM = 1,0 µg/mL). Considerando o tamanho do halo de inibição, selecionamos a dose de 2,5 µg para vancomicina e ciprofloxacino e 5,0 µg para oxacilina. As amostras foram ajustadas na escala 0,5 McFarland (1,5x10⁸ UFC/mL) e semeadas em ágar Mueller-Hinton (MH) e Luria Bertani (LB). Foram adicionados os discos contendo antimicrobianos e incubadas (37°C) por 24 horas para posterior medição dos halos. Qualquer diminuição do halo ou aparecimento de colônias no último tempo de leitura seria indicativo de tolerância. Os níveis de tolerância seriam: baixa (0-10 colônias), média (10-centenas colônias) e alta (crescimento em tapete). Em meio MH, as amostras não apresentaram crescimento dentro do halo de inibição em nenhum dos antimicrobianos. Nossa hipótese foi que o meio MH é nutricionalmente rico e, portanto, não gerou estresse suficiente para alterar o metabolismo da *S. aureus*. Para testar esta hipótese, realizamos o teste em ágar LB, meio com menor quantidade de nutrientes. Foi observado que a amostra E10 apresentou crescimento em tapete para oxacilina e ciprofloxacino maior que a linhagem parental, ao passo que, a amostra E100 apresentou crescimento em tapete maior que a linhagem parental apenas para ciprofloxacino, indicando alta tolerância. Para vancomicina, em ambos os meios de cultivo foram observados tamanhos semelhantes de halo de inibição, porém a avaliação de tolerância por este método não foi possível devido, provavelmente, às características estruturais do antimicrobiano (estrutura molecular rígida da droga que prejudica sua difusão em meio sólido). Portanto, foi possível observar tolerância para oxacilina e ciprofloxacino nas linhagens derivadas.

Palavras-chave: Sobrevivência microbiana. Disco-difusão. Antimicrobianos.