

RESISTÊNCIA DE *Enterococcus faecalis* AO ESTRESSE AMBIENTAL

Danuza Rossi, Maria Stella Gonçalves Raddi. – Microbiologia – Departamento de Análises Clínicas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Campus Araraquara

O ambiente hospitalar, incluindo as superfícies inanimadas que cercam o paciente é, atualmente, considerado uma importante fonte de agentes infecciosos, podendo estar relacionado com surtos de infecção hospitalar. Bactérias do gênero *Enterococcus* emergiram como importantes patógenos hospitalares oportunistas (TAVARES, 2000). Vários estudos demonstram que a sobrevivência desses microrganismos em superfícies secas facilita sua transmissão (BOULANGE-PETERMANN et al., 2004; DONSKEY, 2004). Uma estratégia de sobrevivência adotada por bactérias quando exposta ao estresse ambiental é manter-se no estado viável mas não cultivável (VBNC). Nesse estado, as células conservam atividade metabólica e integridade de membrana, mas apresentam modificações na parede que são interpretadas como um mecanismo de proteção para condições desfavoráveis, perdendo a capacidade de formarem colônias, mas que em condições favoráveis restabelecem a divisão celular (NEELY, 2000; LLEO et al., 2001).

A viabilidade de um microrganismo, independente da capacidade de formar colônia, é de grande importância principalmente quando se trata de materiais que entram em contato direto com o paciente. A literatura sugere que o tempo de sobrevivência em condições secas pode estar relacionado com o tamanho do inóculo, pois há, mecanisticamente, possibilidade de algumas células sobreviverem dos nutrientes de outras células secas ao redor (NEELY e MALEY, 2000).

O conceito de morte bacteriana vem sendo relacionado ao suicídio, que envolve o rompimento da parede celular, danos no DNA e em proteínas pela ação de espécies reativas de oxigênio (EROS), como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ânion superóxido (O_2^-), provenientes da atividade metabólica não controlada subsequente a um estresse (POTTS, 1994). Dessa forma, a oferta de oxigênio pode ser associada à produção dessas EROs pois quanto maior o aporte de oxigênio para as células maior será a taxa de suicídio bacteriano, uma vez que mais reativos oxigenados serão formados (ALDSWORTH et al., 1999).

O presente trabalho avaliou a resistência de *Enterococcus faecalis* ao estresse ambiental em diferentes suportes e concentrações, mantido em condições secas, quanto à capacidade de formar colônias e/ou restabelecer a divisão celular. Suspensão contendo diferentes concentrações (0,5 e 1 na escala de McFarland) de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), em fase exponencial de crescimento, foi inoculada sobre três tipos de suporte: piso de cerâmica, piso vinílico e tecido de algodão. Os suportes contaminados, armazenados em placas de Petri, foram deixados em condições ambientais (temperatura média de 23°C e umidade relativa de 50%). A técnica de contato, utilizada para avaliar a capacidade da bactéria em formar colônia, consistiu no carimbo da superfície contaminada do suporte sobre agar tripticaseína soja (TSA). As placas foram incubadas a 35-37°C por até 96 horas e o crescimento submetido a bacterisocopia após coloração pelo método de Gram. Para a determinação da capacidade de multiplicação bacteriana, os corpos foram imersos em caldo tripticaseína soja (TSB) e incubados nas mesmas condições. Os caldos que apresentaram turvação também foram submetidos a bacterioscopia após coloração pelo método de Gram. Os testes foram realizados 24 horas após a contaminação e semanalmente, em triplicata, até a ausência de crescimento em ambas técnicas.

Os experimentos demonstraram que, independente do método de recuperação e do tipo de suporte, maior concentração bacteriana permitiu maior resistência ao estresse ambiental. O tecido de algodão foi, dentre os materiais, o que demonstrou menor tempo para a sobrevida do *E. faecalis* (3 semanas) e o piso vinílico o maior (acima de 9 semanas), como apresentado na Figura 1. *E. faecalis* conserva a divisão celular mesmo não expressando a capacidade de formar colônias em meio sólido.

O estado de VBNC está relacionado ao estresse oxidativo, ou seja, capacidade de algumas bactérias produzirem superóxido e radicais livres. Nesse estado a virulência bacteriana pode não ser perdida, conforme demonstrado em espécies patogênicas de *Vibrio* (MIZUNOE et al., 2000). A incapacidade de detectar bactérias no estado VBNC no meio ambiente, através de métodos laboratoriais de rotina, pode implicar na transmissão de doenças.

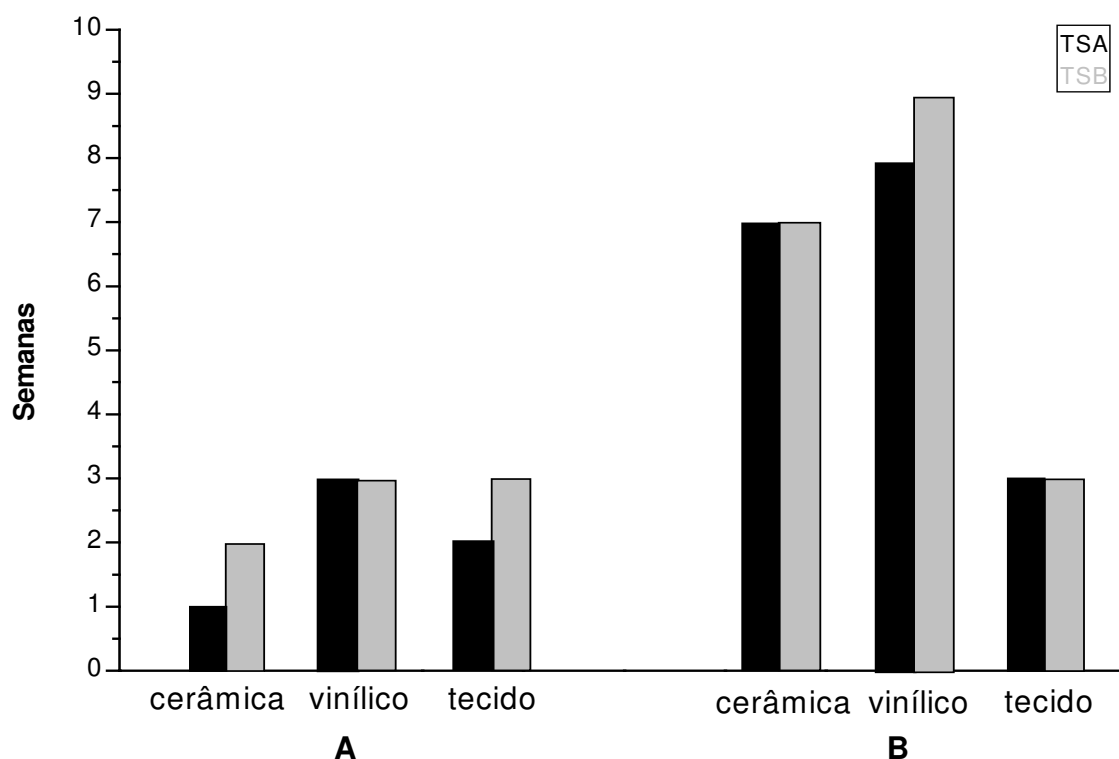


Figura 1 - Tempo de sobrevivência de *Enterococcus faecalis* em (A) baixa concentração e (B) alta concentração nos diferentes corpos de prova em meio sólido (TSA) e meio líquido (TSB)

Referências Bibliográficas

- ALDSWORTH, T. G.; SHARMAN, R. L.; DODD, C. E. R. Bacterial suicide thought stress. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 56, p. 378 -383, 1999.
- BOULANGE-PETERMANN, L; ROBINE, E.; RITOUX, S.; CROMIERES, B. Kinetics of bacterial survival on polymer coatings with particular reference to indoor air quality. **Biofouling**, v. 20, p. 203-210, 2004.
- DONSKEY, C. J. The role of the intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. **Clin. Infect. Dis.**, v. 39, p. 219-226, 2004.
- LLEO, M. M.; BONATO, B.; TAFI, M. C.; SIGNORETTO, C.; BOARETTI, M.; CANEPARI, P. Resuscitation rate in different enterococcal species in the viable but non-culturable state. **J. Appl. Microbiol.**, v. 91, p.1095-1102, 2001.
- MIZUNOE, Y.; WAI, S. N.; TAKADE, A.; YOSHIDA, S. Restoration of culturability of starvation-stressed and low-temperature-stressed *Escherichia coli* 0157 cells by using H₂O₂-degrading compound **Arch. Microbiol.**, v. 172, p. 63-67, 1999.

NEELY, N.A. A survey of gram-negative bacteria survival on hospital fabrics and plastics. **J. Burn Care Rehabil.**, v. 21, p. 523-527, 2000.

NEELY, N. A.; MALEY, M. P. Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastics. **J. Clin. Microbiol.**, v. 38, p. 724-726, 2000.

POTTS, M. Desiccation tolerance of prokaryotes. **Microbiol. Reviews**, v. 58, p. 755-805, 1994.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemáticas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 33, p. 281-301, 2000.

WAI, S. N.; MIZUNOE, Y.; TAKADE, A.; YOSHIDA, S. A comparison of solid and liquid media for resuscitation of starvation- and low-temperature-induced monoculturable cells of *Aeromonas hydrophila* **Arch. Microbiol.**, v. 173, p. 307-310, 2000.

Bolsa: CNPq/PIBIC