

INTRODUÇÃO

Bacteriófagos são vírus de bactérias estes podem ser lisogênicos ou líticos, os primeiros infectam bactérias e apenas se replicam em momentos de stress, já os líticos infectam a célula e causam lise na mesma [1]. Existem fagos líticos espécie específica [1]. *Staphylococcus intermedius* é uma bactéria com várias características patogênicas como coagulase positiva e produção de toxinas. Ele é encontrado em várias partes do corpo de caninos saudáveis fazendo parte da flora residente, entretanto também causa doenças graves nesta espécie e em outras como bovinos, equinos e felinos. É o principal agente de infecções supurativas de caninos, podendo atingir vários órgãos, sendo comumente encontrado em otite externa, piodermites e em infecções no trato urogenital. Em bovinos é associado a grande quantidade de casos de mastite [2].

Existem associações de doenças em humanos causadas por *S. intermedius* [2].

OBJETIVO

Isolamento e conservação de bacteriófagos líticos contra *S. intermedius* para posterior uso em terapia de caninos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todas as culturas bacterianas foram utilizadas em estado de crescimento exponencial (18-24 horas).

1) coleta, identificação (bioquímica de amostras de células hospedeiras (*S. intermedius*);

Coletamos amostras de caninos saudáveis e doentes. A coleta foi realizada com suabes e imediatamente inoculadas em ágar sangue e posteriormente identificadas com testes morfológicos e bioquímicos (Fig. 1).

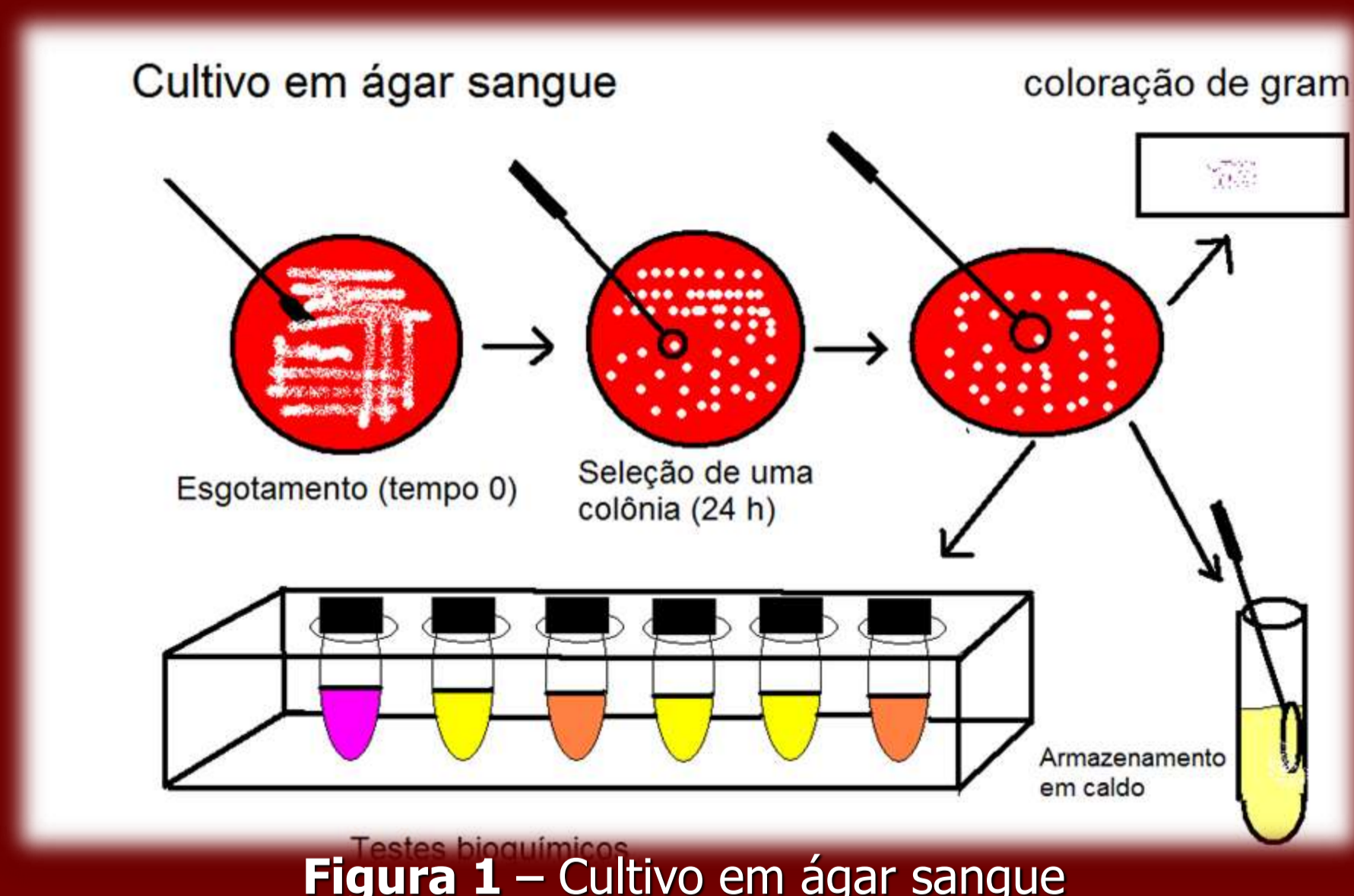


Figura 1 – Cultivo em ágar sangue

2) Amostras para isolamento foram coletadas de esgotos de canis e lavados de parede de canil (50 mL). O caldo dez vezes concentrado (caldo deca) foi filtrado com filtro de membrana 0,45 µm. As amostras foram centrifugadas a 2.500 X G por 15 minutos e filtradas em filtros com membrana 0,45 µm, 9 ml de cada uma dessas amostras foi adicionado a um tubo com 1 mL de caldo deca e 1 mL de caldo com cultura bacteriana. Enriquecimento (processo repetido 10 vezes) (fig. 2): Este material foi colocado em estufa por 24 horas e então submetido a nova centrifugação e 9 mL foram filtrados e adicionados a um tubo com caldo deca e 1 mL de cultura bacteriana [1].

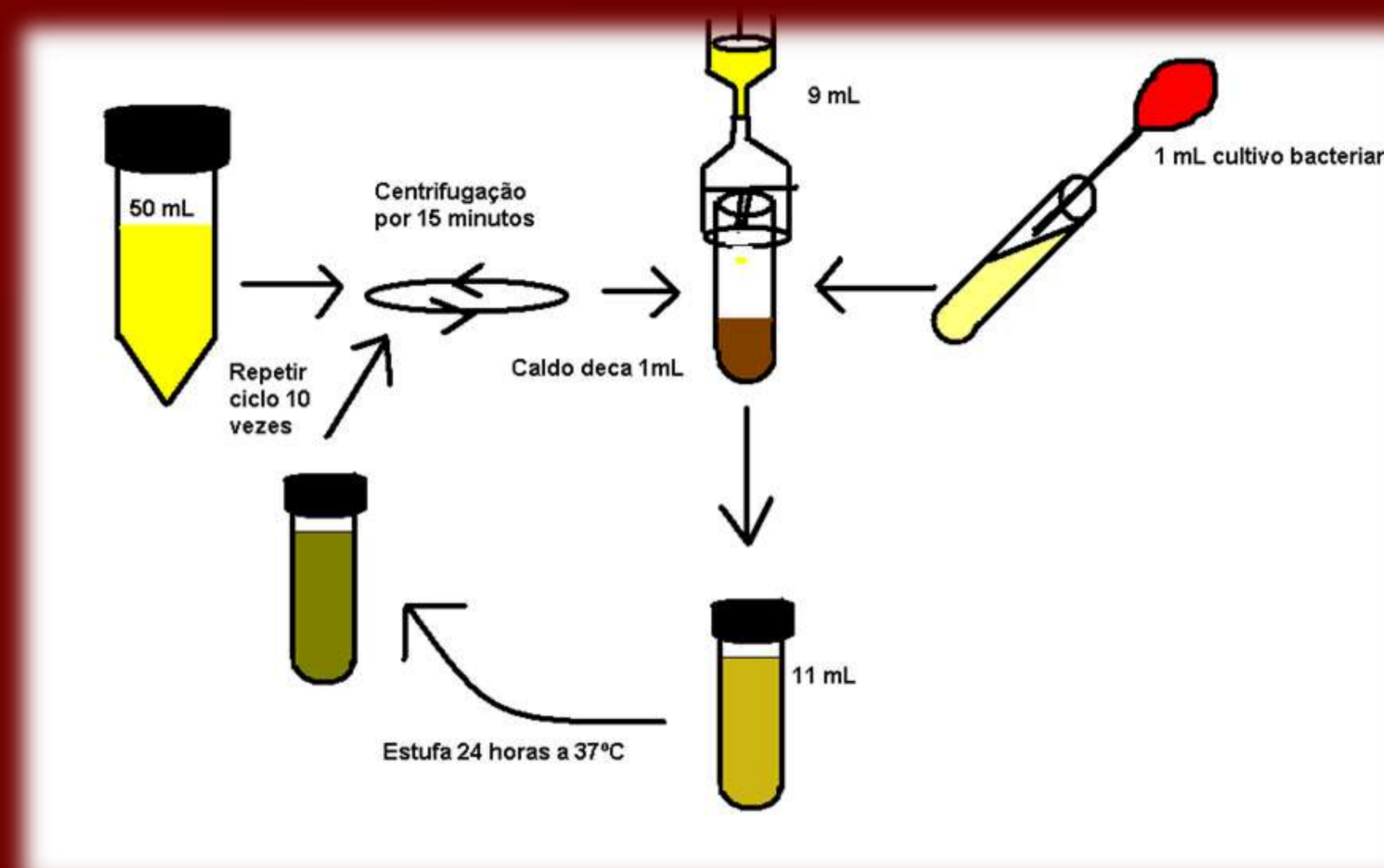


Figura 2 – Enriquecimento

"Spot test" [1]: um suabe embebido em caldo da bactéria alvo é passado em toda a superfície de uma placa de Mueller-Hinton, no verso da placa são feitas marcações para locais onde se colocou 1 gota do último enriquecimento. Após 24 horas foram analisadas a presença de áreas de não crescimento ao redor das marcações (placas líticas). As placas líticas indicam spot teste positivo e presença de bacteriófago para a célula hospedeira.

3) Purificação e armazenamento para posterior uso no tratamento de caninos. Do último caldo isolado, em caso de "spot test" positivo, serão feitas diluições seriadas e estas plaqueadas em dupla camada de ágar pelo método padrão. O filtrado final vai ser obtido após repetir 3 vezes os passos a seguir: recorte de placa lítica, suspensão em caldo triptose, agitação por 10 minutos, 4 horas de repouso a 6-7°C e filtragem com membrana 0,22 ou 0,45 µm. Alíquotas do fago isolado serão diluídas em Tampão Tris 0,01 M, pH 7,2-7,4 contendo 0,1M de NaCl e 0,001M de MgCl₂; mantidas sob temperatura de refrigeração (8 - 12°C) e outra parte será congelada em vapores de nitrogênio líquido; estocadas a menos 196°C em botijões nitrogênio líquido para posteriores estudos.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Até o presente momento foram enriquecidas e processadas 4 amostras de esgoto mas nenhuma delas evidenciou placas de lise. São necessários maior número de enriquecimentos.

Palavras-chave: Bacteriófagos, *Staphylococcus intermedius*, fagos

REFERÊNCIAS

- [1] KUTTER, E., SULAKVELIDZE, A. **Bacteriophages: Biology and Applications**. Boca Raton: CRC Press, 2005.
- [2] EUZÉBY, J. P. *Staphylococcus intermedius*. In: J.P. EUZÉBY: Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/ss/intermedius.html>>. Acesso em: 26 set. 2011.