

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Acinetobacter baumannii* EM AMOSTRAS BUCAIS E NASAIS COLETADAS NA COMUNIDADE. DETERMINAÇÃO PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPÊNEMICOS DOS ISOLADOS.

Nathália Martins Morette de Carvalho (PIBIC/FA/Uem); Sheila Alexandra Belini Nishiyama; Hugo Tokunaga Zerbinati; Monica de Souza Ferreira de Mattos; Luiza Camila da Silva, Pedro Marquetti Pereira; Maria Cristina Bronharo Tognim (Orientadora), e-mail: mcbtognim@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde / Maringá, PR.

Microbiologia, Microbiologia aplicada e Microbiologia médica

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*, comunidade, oxacilinas.

Resumo:

Acinetobacter spp. são cocobacilos Gram-negativos presentes tanto no ambiente como na microbiota de animais e seres humanos. A espécie *A. baumannii* destaca-se por ser um importante patógeno oportunista associado às infecções nosocomiais, com capacidade de sobreviver em superfícies inanimadas e de formar biofilmes, facilitando a sua disseminação no ambiente hospitalar. Além disso, apresenta elevada resistência a diversas classes de antimicrobianos, principalmente aos carbapenêmicos. Todavia, sua presença e seus possíveis reservatórios na comunidade ainda são pouco investigados. Assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar a presença de *A. baumannii* em indivíduos saudáveis não hospitalizados, a partir de amostras bucais e nasais coletadas de acadêmicos da área de saúde e de pacientes atendidos em uma clínica odontológica de ensino. Foram utilizados testes presuntivos e automação para a identificação da espécie, além de pesquisa molecular através da detecção dos genes bla_{OXA}-51, bla_{OXA}-23, bla_{OXA}-24, bla_{OXA}-58, bla_{OXA}-143 nos isolados. Das 180 amostras analisadas, nenhum foi identificado como *A. baumannii*. Entretanto, foi identificada a espécie *A. lwoffii* em uma amostra bucal, demonstrando que a comunidade apresenta um perfil de colonização diferente do hospitalar. Portanto, continua a necessidade de esclarecer o papel desse microrganismo em indivíduos não hospitalizados e ainda considerar o papel das demais espécies do gênero como potenciais carreadores e disseminadoras de genes de resistência.

Introdução

O gênero *Acinetobacter* foi descrito pela primeira vez em 1911, constituído por 58 espécies de cocobacilos, Gram-negativos, imóveis, aeróbios estritos,

não fermentadores de glicose e oxidase negativo, sendo amplamente distribuídos na natureza e presentes na microbiota humana. Dentre essas espécies *A. baumannii* é de maior interesse médico por ser um importante patógeno nosocomial, associado a quadros de pneumonia, bacteremia e infecções em diversos tecidos, com altas taxas de mortalidade. Trata-se de um microrganismo que apresenta elevada capacidade de resistir ao dessecação, podendo permanecer viável em objetos e superfícies inanimadas por longos períodos, além da facilidade em formar biofilmes, contribuindo para sua disseminação no ambiente hospitalar (PELEG et al., 2008).

O comportamento de resistência a diversas classes de antimicrobianos, principalmente aos carbapenêmicos, frequentemente indicados para o tratamento de infecções causadas por *A. baumannii*, tem tornado cada vez mais limitada as opções terapêuticas. O aumento na incidência de isolados resistentes tem sido associado a produção de enzimas de degradação de antimicrobianos, como as β -lactamases. Estas enzimas podem ser classificadas de acordo com Ambler em classes A, B, C e D, conforme a sua estrutura molecular. As oxacilinases (OXAs), ou classe D, são as enzimas mais encontradas nesse gênero bacteriano, conferindo resistência a ampicilina e cefalotina. Essa classe de enzima pode ser subdividida em grupos, das quais a OXA-23, OXA-24, OXA-51, OXA-58 e OXA-143 são frequentemente detectadas em surtos de infecções hospitalares e apenas o gene *bla*_{OXA-51} é cromossomal e intrínseco ao *A. baumannii*, podendo ser utilizado para identificação da espécie (POIREL et al., 2010). Embora a importância desse microrganismo no ambiente hospitalar seja frequentemente abordada, sua presença na comunidade ainda é pobremente discutida. Assim, o presente trabalho teve por objetivo investigar a presença desse microrganismo na cavidade nasal e bucal e determinar o perfil de resistência aos carbapenêmicos dos isolados.

Material e métodos

Esse estudo foi realizado com 90 indivíduos de ambos os gêneros, incluindo acadêmicos da área da saúde e pacientes atendidos em uma clínica odontológica de ensino. As amostras foram coletadas com *swabs* da mucosa nasal e mucosa jugal e transportados em meio Copan Amies sem carvão (Copan Diagnostics, Brescia, Itália) sendo semeadas o mais rápido possível em ágar MacConkey (BD Difco™, Becton Dickinson and Company, NJ, EUA) e incubadas em estufa a 37°C, em aerobiose, por 24-48 horas. Colônias suspeitas não fermentadoras de lactose foram selecionadas e repicadas novamente e submetidas a coloração de Gram, sendo selecionados apenas os cocabacilos Gram negativos. A partir da cultura pura dos isolados foram realizados os testes presuntivos e bioquímicos para detecção de espécies de *Acinetobacter*. Como método confirmatório, utilizou-se identificação por painéis combinados de bactérias Gram-negativas, modelo NMIC-94, no equipamento Phoenix BD™ (Becton Dickinson and Company, NJ, EUA), conforme instruções do fabricante.

Algumas colônias dos isolados selecionados foram suspendidas em 200 µL de água ultrapura e submetidas a técnica de extração do DNA por fervura. O DNA extraído foi estocado a -20°C até o momento de uso. Para a identificação de genes para oxacilinases foi realizada a reação Multiplex-PCR para detecção dos genes *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-58} e *bla*_{OXA-143}. As reações de amplificação foram realizadas em Termociclador SelectCycler II (Select BioProducts, Edison, EUA). Os produtos amplificados foram analisados após eletroforese em gel de agarose (1,5%).

Resultados e Discussão

Neste estudo um total de 180 amostras foram analisados e após submetidos a testes de identificação, apenas um isolado bucal apresentou-se resultados compatíveis de *Acinetobacter* sp. Todavia, na análise molecular por multiplex-PCR não foram detectados os genes, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{OXA-143} e especialmente *bla*_{OXA-51} intrínscio a espécie *A. baumannii*. Na sequência para determinar a espécie do isolado foi utilizado o equipamento Phoenix BD®, resultando na identificação da espécie *A. lwoffii*.

Apesar reconhecida importância *A. baumannii* no ambiente hospitalar, tendo sido recentemente classificado pela Organização Mundial de Saúde como o patógeno número um de prioridade crítica de uma lista de microrganismos que precisam urgentemente de novas opções terapêuticas a sua presença, bem como as demais espécies do gênero na comunidade ainda é pouco discutida. Além disso, esses microrganismo merecem especial atenção devido ao possível comportamento de resistência que podem apresentar, facilitando a disseminação diante das dificuldades de adoção de medidas de contenção na comunidade.

Apesar da não identificação de *A. baumannii* em nosso trabalho, as espécies do gênero têm sido consideradas parte da microbiota residente de indivíduos saudáveis, encontradas na pele e mucosa, colonizando cerca de 40% dos indivíduos. Todavia, a falta de definição do melhor sítio, coleta e as limitações das técnicas utilizadas para o isolamento e identificação de *A. baumannii* podem justificar a baixa ou divergências na detecção da espécie, tornando difícil a comparação das taxas de colonização, devido a variação na sensibilidade da técnica empregada. Diante os sítios de coleta propostos na literatura, nesse estudo foram coletados swabs de amostras bucais e nasais, objetivando apresentar melhor relação entre a sensibilidade de detecção e a facilidade de coleta, proporcionando o mínimo de desconforto ao paciente. A presença dessa espécie na cavidade bucal já foi relatada em trabalhos anteriores como o de Richards et al. (2015), que justificaram sua presença a elevada capacidade de formação de biofilme e interação com demais bactérias comensais locais. Assim, a cavidade bucal poderia se apresentar como um potencial reservatório de espécies do gênero, bem como de *A. baumannii* extra-hospitalar.

Geralmente espécies não-*baumannii* apresentam-se sensíveis à maioria dos antimicrobianos e embora o isolado encontrado nesse estudo tenha se mostrado sensível aos antibióticos testados e não tenha apresentado genes

para as oxacilinas pesquisadas, sabe-se que espécies de *Acinetobacter* possuem habilidade de incorporar genes por transferência horizontal de plasmídios e integrons, por isso a necessidade de vigilância contínua. Dessa forma, permanece a necessidade de esclarecer a participação desse microrganismo em indivíduos não hospitalizados e, ainda, considerar o papel das demais espécies do gênero como potenciais carreadoras e disseminadoras de genes de resistência.

Conclusões

Apesar da não identificação *A. baumannii* nas amostras analisadas nesse trabalho, identificamos na mucosa bucal a espécie *A. lwoffii* indicando assim que a comunidade apresenta um perfil de colonização diferente do ambiente hospitalar. Permanece a necessidade de esclarecer melhor o papel das espécies do gênero *Acinetobacter* em indivíduos não hospitalizados, especialmente como potenciais carreadoras e disseminadoras de genes de resistência.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação Araucária por proporcionar a realização desse projeto de iniciação científica.

Referências

DOI, Y., ONUOHA, E.O., ADAMS-HADUCH, J. M. et al. Screening for *Acinetobacter baumannii* Colonization by Use of Sponges. **Journal of Clinical Microbiology**, Pittsburgo, v. 49, n. 1, p. 154-158, 2011.

PELEG, A. Y, SEIFERT, H., PATERSON, D. L. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. **Clin Microbiol Rev**, Pittsburgo, v. 21, n. 3, p. 538-582, 2008.

POIREL, L., NAAS, T., NORDMANN, P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D β -lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Le Kremlin-Bicetre v. 54, n. 1, p. 24-38, 2010.

RICHARDS, A. M., KWAIK, Y. A., LAMONT, R. J. Code blue: *Acinetobacter baumannii* a nosocomial pathogen with a role in the oral cavity. **Mol Oral Microbiol**, Louisville, v. 30, n.1, p. 2-15, 2014.

SEIFERT, H., DIJKSOORN, L., GERNER-SMIDT, P. et al. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. **J. Clin. Microbiol**, Bélgica, v. 35, n. 11. p. 2819-2825, 1997.