

INCIDÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES A OXACILINA NA MUCOSA BUCAL DE PACIENTES E ACADÊMICOS DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ – UEM

Larissa Cleucir Lower (PIBIC-AF-IS/CNPq-FA-UEM), Gabriel Quirino Dalpoz, Monica de Souza Ferreira de Mattos, Nathália Martins Morette de Carvalho, Franciele Viana Fabri, Sheila Alexandra Belini Nishiyama; Maria Cristina Bronharo Tognim (Orientador), e-mail: mcbtognim@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/ Departamento de Ciências Básicas da Saúde-DBS/ Maringá, PR.

Microbiologia/Microbiologia aplicada

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, cavidade bucal, cavidade nasal.

Resumo

Staphylococcus aureus são cocos Gram-positivos que podem colonizar a mucosa nasal e bucal de indivíduos da comunidade. O objetivo do presente estudo foi investigar a presença de *S. aureus* na cavidade nasal e bucal de pacientes e acadêmicos do Curso de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá e identificar o perfil de resistência à oxacilina dos isolados. Foram realizadas coletas com swabs na cavidade nasal e bucal de 35 pacientes e 36 acadêmicos. As amostras foram submetidas à identificação fenotípica, com confirmação método Reação em Cadeia da Polimerase - *Multiplex* (*Multiplex-PCR*). O perfil de sensibilidade dos isolados à oxacilina foi determinado pela obtenção da concentração inibitória mínima (CIM) em ágar diluição. Genes de resistência à oxacilina (*mecA*) e de virulência *Panton-Valentine Leucocidina* (PVL) também foram analisados. Entre as 142 amostras coletadas, 57 foram identificadas como positivas para *S. aureus*. A presença do microrganismo foi observada em 30 amostras nasais, provenientes de 11 pacientes e 19 acadêmicos, e em 26 amostras bucais, sendo de 7 pacientes e 19 de acadêmicos. Todos os isolados de *S. Aureus* apresentaram-se sensíveis à oxacilina, confirmados pela ausência do gene *mecA*. Nenhuma amostra analisada também apresentou o gene de virulência PVL. Nossos resultados demonstraram a presença de *S. aureus* na cavidade nasal e bucal, tanto nos acadêmicos quanto nos pacientes. Embora, nenhum isolado tenha apresentado perfil de resistência à oxacilina, foi possível observar que ambos os sítios podem ser importantes reservatórios desse microrganismo na comunidade, facilitando sua disseminação, inclusive durante o atendimento odontológico.

Introdução

Staphylococcus aureus são cocos Gram-positivos, catalase e coagulase positivos, com capacidade de colonizar pele e mucosa humana. Todavia, esse microrganismo também é capaz de destruir a barreira natural podendo causar infecções de pele e de partes moles, infecções sanguíneas, pneumonia, osteomielites, endocardites, entre outras (Lakhundie Zhang, 2018).

Esse microrganismo tem um importante papel como colonizador da cavidade nasal (Mehraj et al., 2016), com participação também na colonização da cavidade bucal, podendo estar associado a algumas infecções bucais como, por exemplo, quelite angular, parotidite e mucosite estafilocócica e também tem sido relacionado a falhas de implantes dentários (Smith et al., 2004).

O aumento de *S. aureus* resistente a múltiplos antimicrobianos vem sendo relatado, com destaque para o *S. aureus* resistente à oxacilina (*oxacillin resistant Staphylococcus aureus* - ORSA). ORSA hospitalar (H-ORSA) é um dos microrganismos resistentes mais comuns causadores de infecções relacionadas ao ambiente hospitalar, restringindo as opções terapêuticas e dificultando o tratamento. Entretanto, nos últimos anos, também tornou-se causa comum de infecções de comunidade (CA-ORSA) em pessoas sem fatores de risco para aquisição de infecção, diferindo do isolado hospitalar pelo gene de resistência, por ser mais sensível aos antimicrobianos e por ser mais virulento e expressar mais toxinas, como a produção de PVL (Lakhundie Zhang, 2018).

A resistência à oxacilina ocorre pela expressão de uma alteração na PBP2a (proteína ligante de penicilina) codificada pelo gene *mecA* que está localizado num cassete cromossômico móvel chamado *Staphylococcal Chromosome Cassette mec* (SCCmec) (Liu et al., 2016). Treze tipos diferentes de SCCmec já foram descritos na literatura, porém os mais prevalentes são os tipos I, II e III, encontrados em H-ORSA, enquanto os tipos IV e V são mais relacionados com CA-ORSA (Lakhundie Zhang, 2018).

A epidemiologia do *S. aureus* muda rapidamente a cada ano, assim compreender seu modo de disseminação pode ser muito útil para o controle deste patógeno, visto que os isolados resistentes à oxacilina tem sido importantes causadoras de infecções tanto relacionadas ao ambiente hospitalar quanto na comunidade. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo investigar a presença de *S. aureus* na cavidade nasal e bucal de pacientes da Clínica Odontológica e acadêmicos do Curso de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e identificar o perfil de resistência à oxacilina desses isolados comunitários.

Material e Métodos

Foram realizadas coletas com swabs na cavidade bucal e nasal de pacientes da Clínica Odontológica e acadêmicos do Curso de Odontologia da UEM. Os critérios

de inclusão foram: idade superior a 18 anos, ser paciente da Clínica Odontológica ou acadêmico do Curso de Odontologia da UEM e não ter utilizado antimicrobianos nos últimos três meses que antecederam a coleta.

Os *swabs* nasais foram coletados de ambas as narinas por três movimentos circulares e os *swabs* bucais foram coletados por movimentos rotacionais contra mucosa jugal. Os *swabs* foram transportados em meio CopanAmies sem carvão (CopanDiagnostics®, Brescia, Itália) e enviados para o Laboratório de Microbiologia da UEM. O material coletado foi incubado em caldo *TrypticSoy* (Difco, Sparks, Maryland, EUA) com adição de 7,5% de NaCl por 24-48h à 37°C. Todas as amostras com crescimento em caldo foram semeadas em ágar Manitol Salgado (Difco) para obtenção de isolados fermentadores de manitol, característicos de cocos Gram-positivos (CGP). Foi realizada a identificação fenotípica desses isolados pela coloração de Gram, testes de catalase e coagulase, sendo confirmada pelo método *Multiplex-PCR* para determinação de espécies de *Staphylococcus* coagulase positivo. O perfil de sensibilidade à oxacilina foi realizado pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM) utilizando a metodologia de diluição em ágar de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015). A determinação da presença dos genes de resistência à oxacilina (gene *mecA*) e o gene PVL de virulência foram analisados em todos os isolados utilizando a metodologia de PCR.

Resultados e Discussão

Foram coletadas 142 amostras provenientes da cavidade nasal e bucal de 71 indivíduos (35 pacientes e 36 acadêmicos). Desse total, em 57 amostras analisadas pelos métodos fenotípicos foram identificados CGP, catalase e coagulase positivos, destes 56 isolados foram confirmados como *S. aureus* pelo método genotípico da *Multiplex-PCR*, sendo coletados em 18 pacientes e em 38 acadêmicos, nos dois sítios coletados, conforme é possível observar na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição de *S. aureus* na cavidade nasal e bucal de indivíduos da comunidade.

Sítio de isolamento	Grupos n (%)		
	Pacientes	Acadêmicos	Total
Cavidade nasal	11 (61,11)	19 (50)	30 (53,57)
Cavidade bucal	7 (38,88)	19 (50)	26 (46,42)
Total	18 (32,14)	38 (67,85)	56 (100)

Embora na cavidade nasal foi maior o isolamento de *S. aureus* (30/53,57%), a cavidade bucal apresentou-se também como um importante reservatório desse microrganismo (26/46,42%). É importante salientar que a realização de coletas pareadas, tanto na cavidade nasal quanto bucal, possibilitou umaumento na detecção desse microrganismo em indivíduos da comunidade.

Ainda foi possível observar que nenhuma amostra era resistente à oxacilina, pois todos os 56 isolados (100%) de *S. aureus* apresentaram CIM $\leq$ 2µg/mL, sendo

portanto isolados sensíveis, confirmados pela ausência do gene *mecA* na análise molecular. O gene de virulência PVL associado a isolados da comunidade, mais comumente associados a infecções de pele e tecidos moles, também não foi detectado em nenhum dos isolados. Apesar de não terem sido detectados isolados ORSA, foi possível observar a presença de *S. aureus* sensíveis na comunidade odontológica, alertando para o fato que cepas resistentes também poderiam estar presentes na comunidade entre pacientes e acadêmicos.

Conclusões

Embora nenhum isolado tenha apresentado perfil de resistência à oxacilina, foi possível observar que ambos os sítios podem ser importantes reservatórios desse microrganismo na comunidade, facilitando sua disseminação, inclusive durante o atendimento odontológico, uma vez que pacientes e acadêmicos podem carrear esse microrganismo.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq por proporcionar a realização desse projeto de iniciação científica e aos autores respectivamente.

Referências

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-tenth edition, Wayne, PA, M07-A10, 2015.

LAKHUNDI, S., ZHANGA, K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clin Microbiol Rev.** v. 31, n. 4, pii:e00020-18.2018.

LIU, J., CHEN, D., PETERS, B.M., LI, L., LI, B., XU, Z., SHIRLIFF, M.E. Staphylococcal chromosomal cassettes *mec* (SCC*mec*): A mobile genetic element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Microb. Pathog.**, v. 101, p. 56-67. 2016.

MEHRAJ, J., WITTE, W., AKMATOV, M.K., LAYER, F., WERNER, G., KRAUSE, G. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Patterns in the Community. **Curr Top Microbiol Immunol.** v. 398, p.55-87, 2016.

SMITH, A.J. , ROBERTSON D, TANG MK, JACKSON MS, MACKENZIE D, BAGG J. *Staphylococcus aureus* in the bucal cavity: A three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. **Br dent j.**, v.195, n.12, p.701-703, 2004.