

PESQUISA DO ESTADO DE PORTADOR NASAL DE *Staphylococcus aureus*

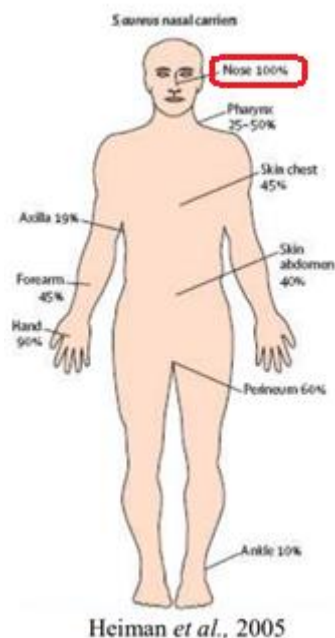
1- Objetivos:

Esta aula objetiva demonstrar a técnica de **Pesquisa do Estado de Portador Nasal de *Staphylococcus aureus***. O estado de **Portador** se caracteriza pela presença, **na microbiota residente**, de uma bactéria **tipicamente patogênica** de forma assintomática, ou seja, sem que o indivíduo apresente sinais/sintomas de doença relacionada ao microrganismo.

S. aureus é um microrganismo considerado como **tipicamente patogênico do homem**, sendo um dos agentes prevalentes tanto em Infecções Comunitárias como em Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), causando diferentes infecções na pele, em tecidos moles e profundos.

Diferentes sítios anatômicos podem ser colonizados por *S. aureus*, sendo **o mais frequente a mucosa das cavidades nasais** (veja figura ao lado). Diferentes estudos mostram que a partir das cavidades nasais *S. aureus* pode se disseminar para outros sítios anatômicos como faringe, a boca e a pele, em particular das mãos.

O estado de portador nasal pode ser classificado como **Persistente** ou **Intermitente**, como base no resultado de **culturas feitas sequencialmente**. Outra característica observada nos **Portadores Persistentes** é que a **quantidade de colônias** observadas nessas culturas é muito superior à dos **Portadores Intermitentes**. Essas observações podem ser complementadas por técnicas de genotipagem das amostras isoladas. Em **Portadores Persistentes** é observado a persistência de amostras como o mesmo genótipo nas culturas sequenciais, enquanto que em **Portadores Intermitentes** existe, muitas vezes, a alternância de genótipos das amostras.



Na população em geral cerca de 20% dos indivíduos são **Portadores Persistentes** e 30% **Portadores Intermitentes**. Esses valores apresentam aumentos importantes em alguns grupos da população como, crianças, estudantes e profissionais da área de saúde, e pacientes portadores de doenças crônicas que fazem tratamento hospitalar regularmente.

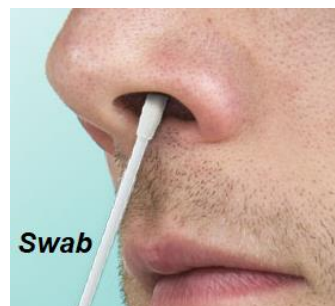
A importância do estado de **Portador de *S. aureus*** já foi reconhecida em várias áreas. No ambiente hospitalar existe a possibilidade de transmissão da bactéria por profissionais da área de saúde portadores aos pacientes (ex.: **médico → paciente**), contribuindo com a prevalência desta bactéria nas IRAS. Além disso, o estado de portador em pacientes é considerado um fator de risco para ocorrência de infecções por *S. aureus* no próprio paciente (ex.: **paciente → feridas ou sitio cirúrgico**).

Em microbiologia de alimentos, os portadores desempenham um papel fundamental contaminando, **através da manipulação**, os alimentos (ex.: **mãos do manipulador de alimentos → alimentos**) ou mesmo utensílios/equipamentos empregados na produção de alimentos (ex.: **mãos do manipulador de alimentos → fatiador de frios**).

Observe que para um surto de DTA ocorrer em função do consumo deste alimento, não basta só a contaminação do alimento com *S. aureus*, a bactéria deve possuir a capacidade de produzir a enterotoxina estafilocócica (**enterotoxigênica**) e se multiplicar no alimento, isto porque a produção da enterotoxina ocorre durante a multiplicação após populações de cerca de 10^5 ufc/g serem alcançadas.

2- Procedimento de Coleta:

A coleta de material das cavidades nasais será realizada pelos alunos pela introdução e fricção de um *swab* estéril na mucosa das cavidades nasais (veja a figura ao lado).



O material coletado será semeado diretamente em **Agar Salgado Manitol (ASM)**. Esse meio de cultura foi escolhido pois é um **meio seletivo-indicador**. Sua **seletividade** decorre da elevada concentração de sal (**7,5%**) que seleciona o crescimento de bactérias do **gênero Staphylococcus**, por serem tipicamente **halotolerantes**. Além de seletivo, o **ASM é um meio de cultura indicador**, isto porque **diferencia colônias que utilizam ou não o manitol**. Esta diferenciação decorre da acidificação do meio em função da utilização do manitol que irá modificar a cor do indicador de pH (vermelho de fenol) do meio de cultura de vermelho (pH neutro ou alcalino) para amarelo (pH ácido). Esta reação permite diferenciar **presuntivamente** as duas principais espécies deste gênero, ***S. aureus* (manitol positivo)** e ***S. epidermidis* (manitol negativo)**.

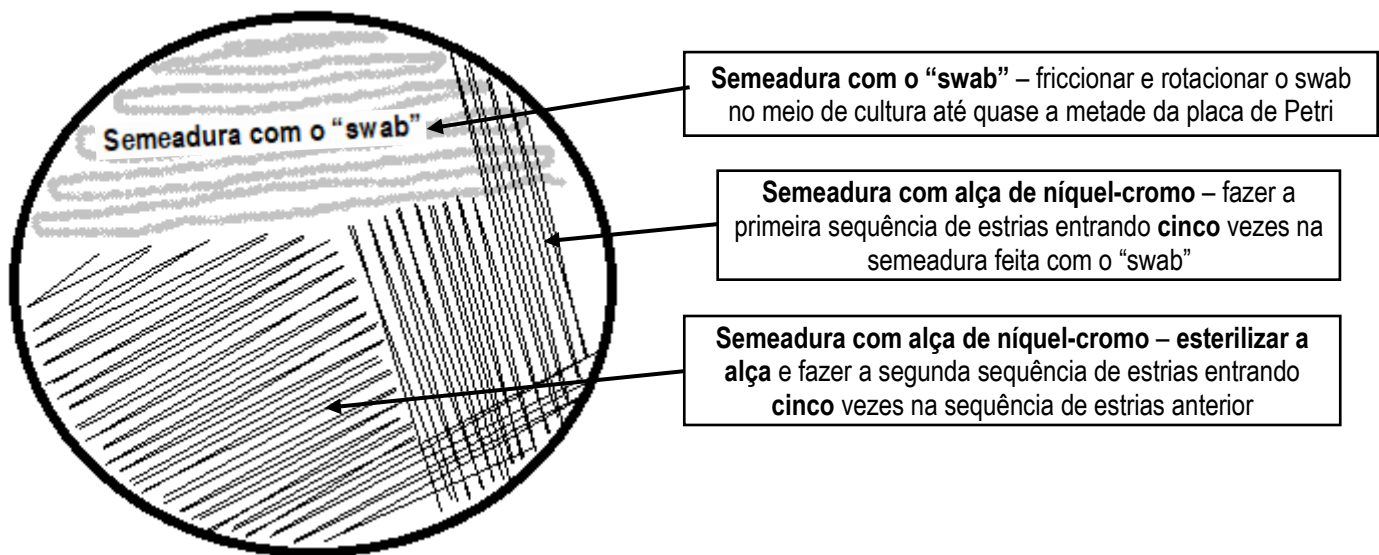
Observe que além da cor do meio, poderá ser observada também a pigmentação da colônia da bactéria, auxiliando na identificação presuntiva das espécies. Tipicamente ***S. aureus* produz pigmento amarelo**, enquanto que ***S. epidermidis* produz pigmento branco**.

Esta **identificação presuntiva** da bactéria deverá sempre ser confirmada com emprego de testes como por exemplo: **Coloração de Gram** (cocos Gram positivos agrupados em cachos de uva); **Teste da Catalase** (positivo); **Teste da Coagulase** (positivo para *S. aureus* e negativo para *S. epidermidis*). Outros testes de identificação menos usuais podem identificar características de *S. aureus*, como a Detecção da produção de **Termonuclease**, Teste de detecção da presença de **Proteína A**; Teste de detecção da presença de **Fator de Agregação**.

A- Coleta e Semeadura de Material das Cavidades Nasais:

- Umedecer um “swab” estéril com água destilada estéril;
- Introduzir ≈ 2 cm na narina direita (vestíbulo nasal) e rotacionar por pelo menos 5x – (veja figura ao lado);
- Repetir o procedimento acima na narina esquerda;
- Semear o material coletado em uma placa de Agar Salgado Manitol identificada com o nome/número do aluno empregando a técnica representada na figura a seguir;





- Incubar a placa a 35°C por 48 horas;
- Fazer a leitura e interpretação dos resultados.

B- Leitura dos Resultados:

- Observe o crescimento das colônias nas diferentes áreas semeadas da placa de Ágar Salgado Manitol;
- As colônias de bactérias do gênero **Staphylococcus** terão 2 a 3 mm de diâmetro;
- Observe a cor do meio ao redor das colônias isoladas (veja a figura abaixo):
 - ⇒ cor do meio ao redor da colônia **AMARELO** = **Utilização do Manitol (Manitol Positiva)** = presuntivamente ***S. aureus***;
 - ⇒ cor do meio ao redor da colônia **VERMELHA** = **Não Utilização do Manitol (Manitol Negativa)** = presuntivamente ***S. epidermidis***.



C- Interpretação dos Resultados:

- Ausência de colônias Manitol +: Não Portador;
- Presença de um número reduzido de colônias Manitol + = possivelmente Portador Intermitente;
- Presença de numerosas colônias Manitol + = possivelmente Portador Persistente;