

DETECÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DA PRODUÇÃO DE BIOFILME POR *Staphylococcus* spp. ISOLADOS DA MUCOSA NASAL DE ANIMAIS INTERNADOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UEM

NAKADOMARI, Giovana Hashimoto¹; PAVAN, Ana Claudia Lemes²; VIGNOTO, Vanessa
Kelly Capoa³; WOSIACKI, Sheila Rezler⁴

¹ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – UEM. E-mail: giovana_hashimoto@hotmail.com; ² Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – UEM – E-mail: anaclaudiapavan@hotmail.com; ³ Bióloga, Técnica do Laboratório de Microbiologia Animal – UEM, Mestranda em Produção Sustentável e Saúde animal – UEM. E-mail: vanessacapoa@hotmail.com; ⁴ Docente do Departamento de Medicina Veterinária – UEM – E-mail: srwosiacki@uem.br

Em *Staphylococcus* spp. um importante fator de patogenicidade é a produção de biofilme, que pode ser constituído por uma ou mais espécies de microrganismos, os quais formam microcolônias aderidos uns aos outros e/ou a superfícies, sendo envoltos por exopolissacarídeos. Em estafilococos um dos principais componentes para adesão intercelular é a produção de adesina intercelular polissacarídica (PIA). A produção da PIA é codificada por genes organizados em um operon *ica*ADBC, mais o gene *icaR* com função regulatória. O gene *icaA* é responsável por codificar a enzima N-acetilglicosaminatransferase, utilizada na síntese da PIA. Quando apenas o gene *icaA* é transcrito há uma baixa atividade dessa enzima, porém quando transcrito em conjunto com o gene *icaD* há um aumento de sua atividade. O gene *icaC*, se expresso atua na exportação da PIA recém-sintetizada para o meio extracelular, e o gene *icaB* tem função de desacetilação, facilitando a adesão das células com a PIA e entre elas, sendo importante para sua função biológica. A co-expressão dos genes *icaA* e *icaD* é fundamental para síntese completa do biofilme, uma vez que aumenta a atividade da enzima e é relacionado com a completa expressão do fenótipo. O objetivo deste trabalho foi detectar fenotípica e genotipicamente a produção de biofilme *ica*-dependente em *Staphylococcus* spp. isolados da mucosa nasal de animais internados. Foram utilizadas 50 cepas de *Staphylococcus* spp. isolados da mucosa nasal de animais internados no Hospital Veterinário da UEM. A caracterização fenotípica da produção do biofilme foi realizada pelo Teste em Ágar Vermelho Congo (CRA), sendo consideradas positivas as colônias pretas e rugosas, e negativas para produção de biofilme colônias vermelhas e lisas. A detecção genotípica de biofilme foi realizada pela técnica de PCR (reação em cadeia pela polimerase) com primers do complexo *ica* (*icaA*, *icaC* e *icaD*). Todas as 50 cepas bacterianas foram positivas para produção de biofilme no ágar vermelho congo. Genotipicamente, 92% das cepas (n=46) foram positivas para o gene *icaA*, enquanto que 100% (n=50) foram positivas para o gene *icaD* e negativas para o gene *icaC*. Os genes *icaA* e *icaD* são importantes na formação dos biofilmes por *S. aureus* e *S. epidermidis*. O gene *icaA* codifica a enzima N-acetilglicosaminatransferase, envolvida na síntese de N-acetilglicosamina polimérica e o gene *icaD* é importante na expressão desta enzima, possibilitando a expressão fenotípica do polissacarídeo. Entretanto já foi descrito a produção de biofilme por *S. aureus* independente do operon *ica*. Foram detectadas 4 cepas bacterianas produtoras de biofilme fenotipicamente sendo *ica*-independentes, apesar das quatro conterem o gene *icaD*. O CRA se mostrou mais sensível para a detecção de biofilme pois além da produção do biofilme pelo complexo *ica*, pode ainda detectar a produção do biofilme por outro mecanismo. O CRA e a PCR são duas técnicas que devem ser associadas para uma identificação precisa dos produtores de biofilme a nível fenotípico e genotípico, uma vez que a técnica de PCR poderia fornecer resultados equivocados diante de outros mecanismos para produção de PIA e formação de biofilme *ica*-independente.

Palavras-chave: Complexo *ica*, CRA, PCR.