



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

TIAGO DANELLI

**CARACTERIZAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS DA
MUCOSA NASAL DE PROFISSIONAIS E ESTUDANTES DE
UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

Londrina
2019

TIAGO DANELLI

**CARACTERIZAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS DA
MUCOSA NASAL DE PROFISSIONAIS E ESTUDANTES DE
UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado e Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial.

Orientadora: Profa. Dra. Sueli Fumie Yamada-Ogatta

Co-orientadora: Profa. Dra. Márcia Regina Eches Perugini

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Danelli, Tiago.

Caracterização de *Staphylococcus aureus* isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes de um hospital universitário / Tiago Danelli. - Londrina, 2019.
79 f. : il.

Orientador: Sueli Fumie Yamada-Ogatta.

Coorientador: Márcia Regina Eches Perugini.

Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, 2019.

Inclui bibliografia.

1. Colonização nasal - Tese. 2. *Staphylococcus aureus* - Tese. 3. MRSA - Tese. 4. Resistência antimicrobiana - Tese. I. Yamada-Ogatta, Sueli Fumie. II. Eches Perugini, Márcia Regina. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. IV. Título.

TIAGO DANELLI

**CARACTERIZAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS DA
MUCOSA NASAL DE PROFISSIONAIS E ESTUDANTES DE UM
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado
em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da
Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA:



Orientadora: Profa. Dra. Sueli Fumie Yamada-
Ogatta
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a. Eliana Carolina Vespero
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a. Gilselena Kerbauy Lopes Universidade
Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 12 de junho de 2019.

Dedico este trabalho a minha esposa G3ssica, que esteve ao meu lado em todos os momentos nesta jornada. Companheira desde o dia que a conheci, nos momentos felizes e nos nem tanto assim.

Se hoje estou aqui, ela 3 respons3vel por isso!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família que sempre me apoiou, que me ensinou que devemos sempre buscar o que é melhor pra gente. Lembro-me da minha mãe dizendo “que conhecimento não ocupa espaço e que dessa vida apenas levamos o que fomos”. Mãe, vovô e tio Sérgio, obrigado pela educação que me deram. Obrigado minha sogra Rosemari, meu sogro Givaldo e minha cunhada Ana Julia, pelo apoio quando estávamos de mudança para Londrina, esta ajuda foi muito importante pois foi uma fase muito conturbada para a Gêssica e eu.

Obrigado professores que tanto se empenham para que sejamos profissionais e seres humanos melhores. Agradeço a todos os professores que tive durante este mestrado, em especial sou grato aos professores Eliana Carolina Vespero, Gerson Nakazato e Gilselena Kerbauy Lopes por terem aceitado ser banca deste trabalho. Suas contribuições são imensuráveis.

Agradeço às minhas orientadoras, prof^ª. Sueli Fumie Yamada-Ogatta e prof^ª Marcia Regina Eches Perugini, que tanto se doaram para que este momento chegasse. Muito aprendi com seus ensinamentos, tanto científicos quanto para a vida. Sempre devemos lembrar de nossos mestres, pois se somos algo na vida é devido aos seus conhecimentos, tenho este pensamento comigo e sempre lembrarei disto. Obrigado novamente!

Sou grato aos meus colegas de laboratório por termos compartilhado conhecimento, dúvidas, alegrias, tristezas, vitórias, frustrações, palavras amigas, palavras duras, companheirismo, almoços no RU, lanches no refeitório da microbiologia do HU-UDEL e por todos os cafés que beberam comigo, estes últimos as vezes bom as vezes intragáveis, faz parte. Certo que levo muito de vocês comigo, espero que tenha doado um pouco de mim para vocês.

Em especial quero agradecer ao Felipe, por todo conhecimento que compartilhou comigo nestes anos, à memorável parceria, tanto no laboratório quanto fora dele. Sempre digo que quem não nos conhece pode duvidar da nossa amizade. Agradeço especialmente também à Thilara por toda a ajuda na primeira fase deste trabalho, sempre disposta a doar seu tempo e seu conhecimento. Tenha certeza que se não fosse sua ajuda, certamente teria sido muito mais difícil. Não poderia deixar de agradecer à Raquel por toda ajuda, conhecimento, companheirismo e por aguentar o Felipe e eu.

Agradeço aos funcionários do departamento de Patologia Análises Clínicas e Toxicológicas do HU-UEL, por toda a ajuda nos mais variados momentos. Em especial agradeço aos funcionários do setor de microbiologia do HU-UEL, obrigado pelo maravilhoso convívio destes anos todos.

Obrigado a todos que conheci desde que cheguei na UEL, todos fazem parte da minha vida e têm um lugar no meu coração.

Por fim, obrigado Deus pela saúde, pela minha família e amigos, pelas pessoas boas que colocaste em meu caminho, pela fé em um futuro melhor e pelas oportunidades!

“[...] sua origem diz muito sobre você. Seja bom, honesto e respeitoso, ensine isso a seus filhos, assim, quando dizer seu sobrenome todos saberão que é pessoa de bem!”

(Gentil Danelli, meu avô)

DANELLI, Tiago. **Caracterização de *Staphylococcus aureus* isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes de um hospital universitário**. 2019. 79 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

Staphylococcus aureus é um dos principais patógenos relacionados a infecções hospitalares e está associado à alta morbidade e mortalidade. A colonização nasal persistente por este microrganismo pode aumentar o risco de infecções subsequentes. A colonização por *S. aureus* entre profissionais e estudantes da saúde pode ser a fonte para a transmissão e disseminação deste microrganismo nos serviços de saúde. O objetivo deste estudo foi avaliar a colonização por *S. aureus* isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes de saúde de um hospital universitário. De cada participante, de dezembro de 2017 a maio de 2018, uma amostra nasal foi coletada e processada para identificação de *S. aureus* de acordo com os métodos fenotípicos padrão e PCR multiplex visando o gene *nuc*. Os *S. aureus* isolados foram caracterizados quanto ao perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* e presença do gene que codificante da resistência a meticilina (*mecA*) e quatro fatores de virulência (*coa*, *icaA*, *tst*, *lukS-PV* e *lukF-PV*). Os isolados MRSA também foram caracterizados de acordo com a sensibilidade a oxacilina/cefotaxima, tipos SCC*mec* e REP-PCR. Análises descritivas e de regressão logística binária foram realizadas para determinar a razão de chances para a colonização nasal por *S. aureus* e MRSA. Dos 324 voluntários, 42,9% (139) estavam colonizados por *S. aureus*, dentre os quais a colonização foi mais frequente em estudantes do sexo masculino ($p = 0,001$). Entre os genes que codificam fatores de virulência, *coa* (coagulase) foi encontrado em 100% (139/139) dos isolados, seguido por *icaA* (biofilme) em 97,8% (136/139), *tst* (toxina da síndrome do choque tóxico-1) em 15,8% (22/139) e *lukS-PV* e *lukF-PV* (leucocidina de Panton-Valentine) em 6,5% (9/139). Todos os isolados foram sensíveis a vancomicina e a maior taxa de resistência foi observada para a penicilina (90,6%). De acordo com a presença do gene *mecA*, 28,8% (40/139) dos isolados foram classificados como MRSA, destes 45,0% (18/40) foram sensíveis a meticilina por ambos os métodos fenotípicos testados, sendo classificados como oxacilina-sensível *mecA*-positivo (OS-MRSA). De acordo com a tipagem SCC*mec*, todos os isolados MRSA foram classificados em seis tipos, sendo o mais frequente o tipo I, 62,5% (25/40), seguido do tipo IV, 22,5% (9/40), os tipos II, III, VI e VI foram identificados em 2,5% (1/40) cada e 5,0% (2/40) foram classificados como não tipáveis. Na análise da similaridade genética, 82,5% (33/40) das amostras MRSA foram agrupadas em 4 *clusters* com um mínimo de dois isolados, exibindo alta similaridade. Em conclusão, os resultados do presente estudo revelam uma alta frequência de *S. aureus* entre profissionais e estudantes da saúde do hospital estudado. É importante enfatizar que os isolados apresentam diferentes perfis de resistência antimicrobiana, incluindo MSSA multirresistente, MRSA e OS-MRSA, e a presença de genes codificadores de virulência. Ambos os grupos podem representar uma fonte potencial para o surgimento de *S. aureus* altamente adaptado ao ambiente hospitalar. Técnicas apropriadas devem ser empregadas para a identificação da resistência a meticilina em *S. aureus*. Esses dados destacam a importância do monitoramento contínuo da colonização nasal por *S. aureus* na comunidade hospitalar.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*. Colonização nasal. MRSA. Resistência. Antimicrobianos.

DANELLI, Tiago. **Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from nasal mucosa of healthcare workers and students of a university hospital**. 2019. 79 p. Dissertation (Master's Program in Clinical and Laboratory Physiopathology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is one of the major pathogens of hospital infections and associated with high morbidity and mortality. Persistent nasal colonization by this microorganism may increase the risk of subsequent infections. Colonization by *S. aureus* among healthcare workers and biomedical students may be the source for the transmission and dissemination of this microorganism in healthcare services. The objective of this study was to evaluate the colonization by *S. aureus* isolated from the nasal mucosa of healthcare workers and students attending a university hospital. From each participant, December 2017 to May 2018, one nasal sample was collected and processed for *S. aureus* identification according to the standard phenotypic methods and multiplex PCR targeting the *nuc* gene. *S. aureus* isolates were characterized according to their *in vitro* antimicrobial susceptibility profile, and presence of genes encoding methicillin resistance (*mecA*) and four virulence factors (*coa*, *icaA*, *tst*, *lukS-PV* and *lukF-PV*). MRSA isolates were also characterized according to their oxacillin/cefoxitin susceptibility, SCC*mec* and REP-PCR types. Descriptive and binary logistic regression analyses were carried out to determine potential risk for *S. aureus* and MRSA carriage. Of the 324 volunteers, 42.9% (139) were colonized by *S. aureus*, of which colonization was more frequent in male students ($p=0.001$). Among the genes encoding virulence factors, *coa* (coagulase) was found in 100% (139/139) of the isolates, followed by *icaA* (biofilm) in 97.8% (136/139), *tst* (toxic shock syndrome toxin-1) in 15.8% (22/139) and *lukS-PV* and *lukF-PV* (Panton-Valentine leukocidin) in 6.5% (9/139). All isolates were susceptible to vancomycin and the highest rate of resistance was observed for penicillin (90.6%). According to the presence of the *mecA* gene, 28.8% (40/139) of the isolates were classified as MRSA, of these 45.0% (18/40) were susceptible to methicillin by both phenotypic methods tested, being classified as oxacillin-susceptible *mecA*-positive (OS-MRSA). According to the SCC*mec* typing, all isolates MRSA were distributed into six types, and the most frequent was type I, 62.5% (25/40), followed by type IV, 22.5% (9/40), types II, III, VI and VI were identified in 2.5% (1/40) each and 5.0% (2/40) were classified as non-typeable. In the analysis of genetic similarity, 82.5% (33/40) of the MRSA samples were grouped into 4 clusters with a minimum of two isolates, exhibiting high similarity. In conclusion, the results of the present study reveal a high frequency of *S. aureus* among healthcare workers and students attending the hospital studied. It is important to emphasize that the isolates present different profiles of antimicrobial resistance, including multiresistant MSSA, MRSA and OS-MRSA, and the presence of virulence encoding genes. Both groups may represent a potential source for the emergence of *S. aureus* highly adapted to the hospital environment. Appropriate techniques should be employed for identification of methicillin resistance in *S. aureus*. These data highlight the importance of continuous monitoring of nasal colonization by *S. aureus* in the hospital community.

Key words: *Staphylococcus aureus*. Nasal colonization. MRSA. Resistance. Antimicrobials.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Representação esquemática dos componentes e estrutura dos cassetes cromossômicos estafilocócicos *mec* (SCC*mec*) I ao XIII..... 20
- Figura 2** – Fluxo de resultados para colonização nasal por *Staphylococcus aureus*, coleta realizada com *swabs* em profissionais e estudantes da saúde 42
- Figura 3** – Sensibilidade antimicrobiana de 139 *Staphylococcus aureus* isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil..... 46
- Figura 4** – Perfil de similaridade genética entre 40 *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil..... 52

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Panorama da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* em diversas populações ao redor do mundo..... 27
- Tabela 2** – Tabela de contingência para as características associadas a 139 *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina e resistente a meticilina isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil..... 44
- Tabela 3** – Resultados de três modelos estatísticos realizados por regressão logística binária com colonização nasal por 139 *Staphylococcus aureus* como variável dependente e características demográficas como variáveis descritivas 45
- Tabela 4** – Distribuição dos perfis de resistência antimicrobiana fenotípica de 139 *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina e resistente a meticilina, isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil..... 47
- Tabela 5** – Distribuição de genes codificadores de fatores de virulência em 139 *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina e resistente à meticilina, isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil..... 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>blaZ</i>	Gene codificador de penicilinasas
BR-VRSA	<i>Brazilian Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus</i>
CA-MRSA	<i>Community-associated Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
CCB	Centro de Ciências Biológicas
CEP/UDEL	Comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Estadual de Londrina
CIM	Concentração inibitória mínima
ClfA	<i>Clumping fator A</i>
ClfB	<i>Clumping fator B</i>
EPM	<i>Extracellular polymeric matrix</i>
EUA	Estados Unidos da América
HA-MRSA	<i>Healthcare-associated Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
HU-UDEL	Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina
hVISA	<i>Heteroresistant vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus</i>
<i>ica</i>	Operon relacionado com a produção de biofilme
<i>icaA</i>	Gene que relacionado com a produção de biofilme
<i>icaB</i>	Gene que relacionado com a produção de biofilme
<i>icaC</i>	Gene que relacionado com a produção de biofilme
<i>icaD</i>	Gene que relacionado com a produção de biofilme
kDa	Kilodalton
<i>lukS-PV</i>	Gene que codifica a leucocidina de Pantón-Valentine
<i>lukF-PV</i>	Gene que codifica a leucocidina de Pantón-Valentine
MAMP	<i>Microorganism-associated molecular pattern</i>
<i>mecA</i>	Gene relacionado à resistência a meticilina
<i>mecB</i>	Gene relacionado à resistência a meticilina
<i>mecC</i>	Gene relacionado à resistência a meticilina
<i>mecD</i>	Gene relacionado à resistência a meticilina
MHA	Mueller Hinton ágar
MRSA	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>

MSCRAMMs	<i>Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules</i>
MSSA	<i>Methicillin susceptible Staphylococcus aureus</i>
Mu3	Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> com resistência tipo hVISA
Mu50	Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> com resistência tipo VISA
NaCl	Cloreto de sódio
NIP5	Laboratório de biologia molecular de microrganismos
OS-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> oxacilina-sensível <i>mecA</i> -positivo
PAC	Pneumonia adquirida na comunidade
PAV	Pneumonia associada à ventilação mecânica
PBP	<i>Penicillin binding protein</i>
PBP2a	<i>Penicillin binding protein 2a</i>
PIA	<i>Polysaccharide intercellular adhesin</i>
PMNs	Polimorfonucleares
PVL	<i>Panton-Valentine leukocidin</i>
SAGs	Superantígenos
SCCmec	<i>Staphylococcal cassette chromosome mec</i>
SCN	<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativa
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
SST	<i>Toxic shock syndrome</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TSB	<i>Tryptone Soya Broth</i>
TSST-1	<i>Toxic shock syndrome toxin 1</i>
<i>tst</i>	Gene que codifica a toxina da síndrome do choque tóxico 1
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UTI	Unidade de terapia intensiva
<i>vanA</i>	Gene associado à resistência a vancomicina
VISA	<i>Vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus</i>
VRSA	<i>Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	<i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	15
1.2	INFECÇÕES POR <i>S. AUREUS</i>	17
1.3	RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E COLONIZAÇÃO POR MRSA.....	18
1.4	FATORES DE VIRULÊNCIA	24
1.5	EPIDEMIOLOGIA DA COLONIZAÇÃO NASAL POR <i>S. AUREUS</i>	26
2	JUSTIFICATIVA	29
3	OBJETIVOS	30
3.1	OBJETIVO GERAL	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS	31
4.1	LOCAIS DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO	31
4.2	DELINEAMENTO	31
4.3	BIOÉTICA	31
4.4	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	32
4.5	COLETA DAS AMOSTRAS	32
4.6	MÉTODOS FENOTÍPICOS	32
4.6.1	Isolamento e Identificação Fenotípica de <i>S. aureus</i>	32
4.6.2	Avaliação da Sensibilidade aos Antimicrobianos	33
4.6.3	Triagem para Identificação de Isolados VISA e h-VISA.....	33
4.6.4	Determinação da Concentração Inibitória Mínima para Oxacilina.....	34
4.7	MÉTODOS GENOTÍPICOS.....	34
4.7.1	Extração de DNA	34
4.7.2	PCR Convencional.....	34
4.7.3	Genotipagem	35
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
5	RESULTADOS	36

	ARTIGO – COLONIZAÇÃO NASAL POR <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ENTRE PROFISSIONAIS E ESTUDANTES DA ÁREA DA SAÚDE DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO NO SUL DO BRASIL	36
6	CONCLUSÃO	60
	REFERÊNCIAS	61
	APÊNDICES.....	71
	APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	72
	APÊNDICE B – Instrumento de coleta de dados.....	74
	ANEXOS	75
	ANEXO A – Parecer consubstanciado	76

1 INTRODUÇÃO

1.1 *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Staphylococcus é um gênero de bactérias pertencentes à família Staphylococcaceae, são anaeróbias facultativas que se apresenta na forma de cocos Gram-positivos, com tamanho aproximado de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro. Podem se agrupar na forma de cachos, aos pares, em tétrades ou em cadeias curtas (JORGENSEN et al., 2015). Esse gênero é composto por 53 espécies e 28 subespécies (LPSN, 2019). Dentre estes, *Staphylococcus aureus* é um microrganismo de grande importância na saúde humana, compõe a microbiota normal da pele e principalmente da mucosa nasal. Estima-se que 20-30% da população humana sejam portadores persistentes de *S. aureus* nas narinas, cerca de 30% são portadores intermitentes. Na pele e superfícies de mucosas pode ser um colonizante transitório em 20 a 90% da população saudável. Entretanto, em presença de fatores de risco, pode ser um patógeno oportunista com capacidade de infectar diversos tecidos do corpo humano (EMANEINI et al., 2017; OLUFUNMISO; TOLULOPE; ROGER, 2017; SARKAR et al., 2016).

A colonização por *S. aureus* nas superfícies do homem é resultado de um processo dinâmico que envolve: a) adesão às superfícies do hospedeiro; b) evasão do sistema de defesa do hospedeiro; c) competição com outros microrganismos componentes da microbiota local (FOSTER et al., 2014). A adesão inicial de *S. aureus* ao epitélio escamoso da mucosa nasal é mediada pelo ácido teicóico presente na parede celular bacteriana (BURIAN et al., 2010). Posteriormente, a bactéria expressa diferentes proteínas ancoradas à parede celular que são importantes para o processo de adesão ao epitélio nasal. As proteínas mais prevalentes são aquelas pertencentes à família de componentes microbianos de superfície que reconhecem moléculas adesivas da matriz (do inglês MSCRAMMs, *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*). Entre elas, o fator de aglutinação B (do inglês ClfB, *clumping factor B*) é importante para a colonização da mucosa nasal de roedores e do homem (SCHAFFER et al., 2006; WERTHEIM et al., 2008; YOUNG et al., 2017). ClfB liga-se a loricrina que é o componente proteico predominante do envelope córneo de células epiteliais escamosas (MULCAHY et al., 2012); bem como à citoqueratina 10, uma proteína que compõe os filamentos do citoesqueleto celular (WALSH et al., 2004).

As proteínas ancoradas à parede celular de *S. aureus* também são importantes para evasão do sistema de defesa do hospedeiro. Proteínas como, fator de aglutinação A (do inglês ClfA, *clumping factor A*) e proteína A interferem na ativação da via clássica do sistema

complemento, prevenindo a sua morte (FOSTER et al., 2014; HAIR et al., 2010). Além disso, *S. aureus* replica-se ativamente no epitélio nasal, o que previne sua remoção pela descamação celular e pelo fluxo de muco (FOSTER et al., 2014).

A competição de *S. aureus* com outras espécies da mucosa nasal tem um papel importante no processo de colonização, podendo ocorrer: 1) competição por locais de adesão e nutrientes. *S. aureus* pode sobreviver em ambientes com poucos nutrientes; 2) competição por antibiose, onde certas bactérias podem produzir moléculas antimicrobianas que inibem possíveis competidores. Por exemplo, *S. lugdunensis* produz um composto antimicrobiano que inibe e destrói *S. aureus*; 3) competição por indução das defesas do hospedeiro, ou seja, *S. aureus* induz a produção de proteínas antimicrobianas do hospedeiro que são mais prejudiciais a outros microrganismos do que a ele próprio (LEE et al., 2018).

Assim, *S. aureus* pode ter uma relação comensal com o homem, na qual desempenha um papel protetor, uma “barreira” contra outros microrganismos potencialmente patogênicos. Todavia, quando o hospedeiro é submetido a tratamento com antimicrobianos, o efeito protetor pode ser reduzido ou eliminado (KLUYTMANS; VAN BELKUM; VERBRUGH, 1997; NOBLE et al., 1964). Neste contexto, o indivíduo colonizado por *S. aureus* apresenta um risco potencial de desenvolver infecções por esta bactéria. Crucialmente, o estado imune do hospedeiro, a presença de doença subjacente, bem como o contato com o ambiente hospitalar, podem contribuir para colonização por *S. aureus* resistentes a antimicrobianos neste sítio anatômico, fato que pode levar a diminuição da variabilidade microbiana local (FARIA et al., 2014; PARK et al., 2016). Este é um fator preocupante, principalmente no ambiente hospitalar (CALFEE, 2012).

Apesar da relação comensal com os seres humanos, quando as barreiras primárias, pele ou mucosas, são rompidas, *S. aureus* pode estabelecer diferentes tipos de infecções em diversos locais, variando de pequenos abscessos a infecções de sítios profundos. Infecções sistêmicas geralmente surgem de focos primários, que incluem dispositivos médicos ou infecções locais de pele e partes moles, articulações, ossos e pulmões (BUCHAN; FOSTER; RENSHAW, 2019).

De fato, por estar em íntimo contato com os seres humanos, este microrganismo é um importante agente causador de infecções adquiridas no ambiente hospitalar. Além disso, a colonização nasal entre profissionais de saúde pode ser fonte de transmissão de *S. aureus* para pacientes e para o ambiente hospitalar (EMANEINI et al., 2017; FRANCOIS et al., 2007).

A higienização das mãos antes e depois do contato com pacientes e/ou os equipamentos que este utiliza, uso de paramentação padrão, uso de paramentação cirúrgica

para realização de procedimentos invasivos e evitar tocar o nariz durante o trabalho são medidas que reduzem a taxa de transmissão de patógenos. Medidas constantes de treinamento e educação dos profissionais acerca da manutenção da higiene e os efeitos do uso indiscriminado de antimicrobianos devem ser implementadas no controle das infecções (CDC, 2007; RONGPHARPI; HAZARIKA; KALITA, 2013)

1.2 INFECÇÕES POR *S. AUREUS*

Dentre os patógenos Gram positivos que causam infecções de pele e partes moles, *S. aureus*, incluindo *S. aureus* resistente a meticilina (*methicillin resistant S. aureus* – MRSA), figura como segundo agente mais frequentemente isolado em celulites depois de *Streptococcus* b-hemolíticos, podendo, em alguns casos ser o agente predominante. Entretanto, recentemente observou-se uma tendência de queda nas infecções comunitárias de pele e partes moles causadas por MRSA nos EUA (POULAKOU; LAGOU; TSIODRAS, 2019).

A ventilação mecânica é um recurso indispensável para salvar vidas de pacientes em condições críticas. Infelizmente, ser submetido a este procedimento representa alto risco de desenvolver complicações, como pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), com uma prevalência que varia de 6,6% a 32%, sendo que *S. aureus* é um dos patógenos mais comumente associados à PAV. Além disso, causa uma elevação nos índices de morbidade, mortalidade e tempo de permanência no hospital (particularmente em unidade de terapia intensiva - UTI), bem como aumento nos custos de cuidados (AYKAC; OZSUREKCI; TANIR BASARANOGU, 2017). A pneumonia adquirida na comunidade (PAC) causada por *S. aureus* é uma infecção pouco frequente, mas potencialmente letal. É frequentemente associada à produção de leucocidina de Panton-Valentine (*Panton-Valentine leukocidin* – PVL), que é responsável por extensa necrose tecidual e alta taxa de mortalidade (ELISABETH et al., 2014).

Uma vez rompidas as barreiras primárias da pele e mucosas, *S. aureus* pode entrar na corrente sanguínea, replicar-se e disseminar-se para muitos locais diferentes, causando manifestações graves, como sepse, endocardite infecciosa e abscessos profundos em praticamente todos os tecidos. O principal fator de risco para infecção invasiva e bacteremia é o uso de dispositivos médicos, incluindo cateteres venosos centrais, materiais implantados cirurgicamente e próteses ortopédicas. Estes dispositivos fornecem um canal direto para o espaço intravascular. Além disso, comorbidades médicas subjacentes, como diabetes, terapia

imunossupressora e câncer, predispõem os indivíduos à bacteremias por *S. aureus* (THOMER; SCHNEEWIND; MISSIAKAS, 2016). *S. aureus* é um dos principais causadores de bacteremia, com uma incidência anual de 4,3 a 38,2 casos por 100.000 pessoas/ano nos Estados Unidos (HOLLAND; ARNOLD; FOWLER, 2014).

1.3 RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS E COLONIZAÇÃO POR MRSA

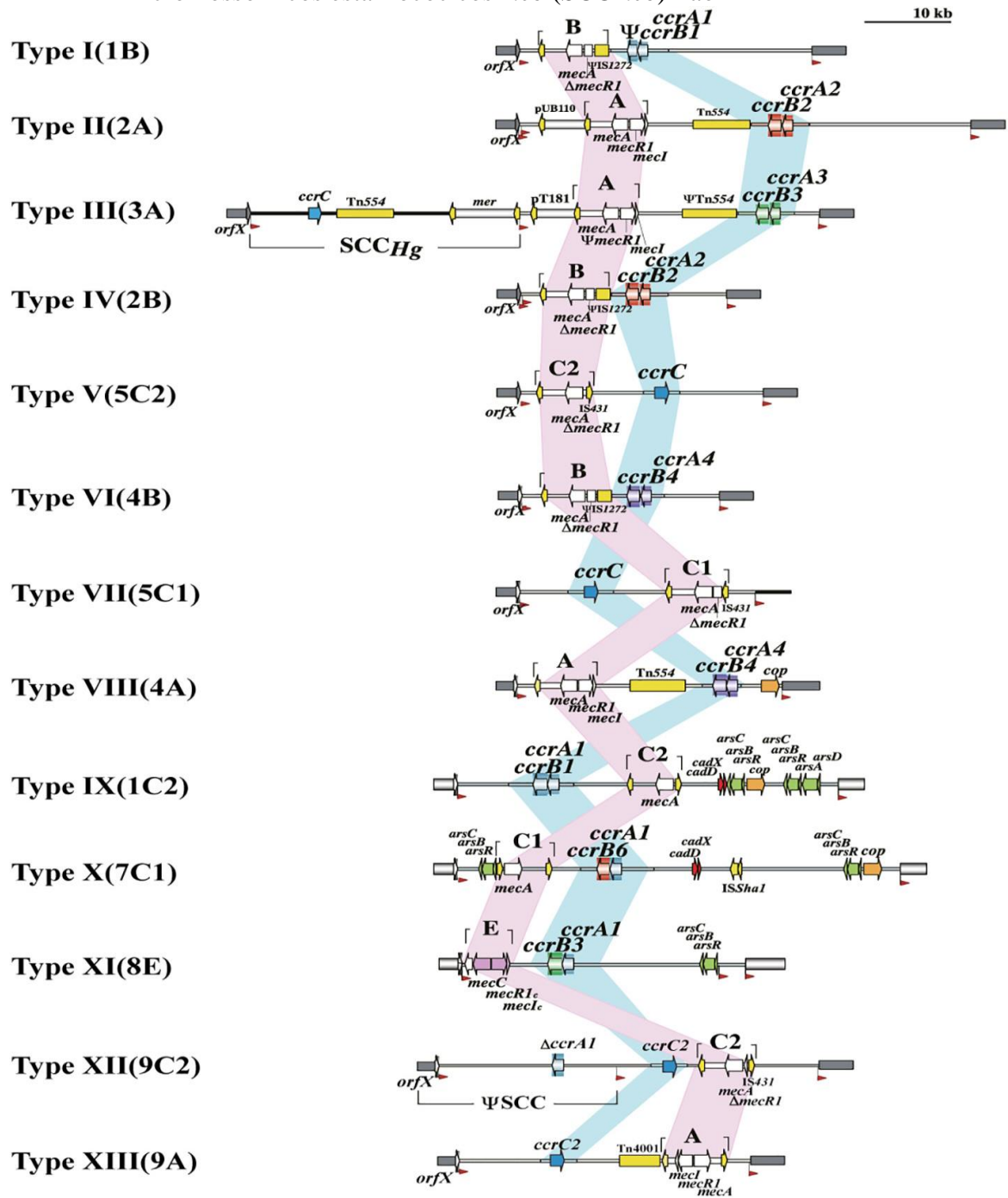
Em 1942, logo após a penicilina ser introduzida no mercado, já existiam relatos de *S. aureus* resistente a este fármaco (RAMMELKAMP; MAXON, 1942). Essa resistência é mediada por penicilinases que inativam o anel β -lactâmico, devido a aquisição de plasmídeo contendo o gene *bla_Z*. Para contrapor esta resistência, no final da década de 50 foi desenvolvida a meticilina (Celbenin), uma penicilina semissintética resistente a ação das penicilinases. Entretanto, em 1961, os primeiros isolados MRSA foram reportados no Reino Unido (HARKINS et al., 2017; JEVONS, 1961; LOBANOVSKA; PILLA, 2017).

O mecanismo de resistência a meticilina, descrito em 1981, se dá pela produção de uma proteína de ligação a penicilina (PBP) modificada, conhecida como PBP2' ou PBP2a, a qual não se liga a maioria das penicilinas semissintéticas, por exemplo, meticilina e oxacilina, bem como a maioria das cefalosporinas. A PBP2a é codificada pelos genes *mecA*, *mecB* ou *mecC*, os quais encontram-se alocados em uma região do genoma bacteriano conhecida como cassete cromossômico estafilocócico *mec* (*Staphylococcal cassette chromosome mec* – SCC*mec*), um elemento genético móvel que pode ser facilmente transferido entre *Staphylococcus* spp. (BECKER et al., 2018; HARTMAN; TOMASZ, 1981; IWG-SCC, 2009; LEE et al., 2018). Os elementos SCC*mec* diferem quanto à organização genética e estrutural, sendo, até então, classificados em 13 tipos, como pode ser visualizado na Figura 1 (BAIG et al., 2018).

Becker et al. (2018), reportaram a presença do gene *mecB* alocado em um plasmídeo em *S. aureus*. O isolado foi recuperado de um swab nasal e garganta de um paciente sem sinais de infecção. O mecanismo de resistência codificado por este gene ainda não foi esclarecido. Em 2017, foi relatado outro homólogo de *mecA* em *Micrococcus caseolyticus* isolados de cães e bois, o qual foi denominado *mecD* e encontra-se alocado em uma ilha de resistência. Este gene confere resistência a todas as classes de antibióticos β -lactâmicos, incluindo ceftobiprole e ceftarolina, os quais foram desenvolvidos para serem utilizados em infecções causadas por MRSA. Análises da sequência nucleotídica mostraram que o gene

mecD compartilha 66% de identidade com o gene *mecB* (SCHWENDENER; COTTING; PERRETEN, 2017).

Figura 1 – Representação esquemática dos componentes e estrutura dos cassetes cromossômicos estafilocócicos *mec* (SCC*mec*) I ao XIII



As estruturas globais dos 13 tipos SCC*mec* reconhecidos por IWG-SCC são ilustradas com base nas seguintes seqüências nucleotídicas (tipo SCC*mec*), ID do isolado (número de acesso do *GenBank*): tipo I, NCTC10442 (AB033763); tipo II, N315 (D86934); tipo III, 85/2082 (AB037671); tipo IV, CA05 (AB063172); tipo V, WIS [WBG8318] (AB121219); tipo VI, HDE288 (AF411935); tipo VII, JCSC6082 (AB373032); tipo VIII, C10682 (FJ390057); tipo IX, JCSC6943 (AB505628); tipo X, JCSC6945 (AB505630); tipo XI, LGA251 (FR821779.1); tipo XII, BA01611 (KR187111); e tipo XIII, 55-99-44 (MG674089). As repetições diretas que compreendem seqüências do sítio de integração do SCC estão localizadas em ambas as extremidades do SCC*mec* (setas vermelhas). Os complexos do gene *mec* e *ccr* são sombreados de rosa e azul, respectivamente. Seqüências de inserção e transposons identificados são indicados em amarelo. Genes relacionados à resistência a metais pesados e plasmídeos integrados localizados nas regiões J também são indicados. Fonte: (BAIG et al., 2018).

MRSA pode ser caracterizado como: 1) presença de gene *mec*, em sua maioria *mecA*; 2) concentração inibitória mínima (CIM) para oxacilina $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ ou cefoxitina $\geq 8 \mu\text{g/mL}$; 3) halo de inibição $\leq 21 \text{ mm}$ em presença de disco de cefoxitina $30 \mu\text{g}$; 4) crescimento em meio Mueller Hinton ágar (MHA) suplementado com 4 % de cloreto de sódio (NaCl) e $6 \mu\text{g/mL}$ de oxacilina (CLSI, 2018).

A idade avançada, longos períodos de internação hospitalar, alimentação enteral, dispositivos intravenosos, presença de lesões cutâneas, úlceras e tratamento com antibióticos estão associados com a colonização por MRSA em pacientes hospitalizados. Não obstante, a permanência em um quarto de hospital anteriormente ocupado por um paciente infectado por MRSA também foi associada com o aumento do risco de aquisição de MRSA. Quanto ao desenvolvimento de infecções por MRSA, os fatores associados incluem história de colonização por MRSA, hospitalização prolongada e/ou cirurgia prévia, internação em UTI, terapia antimicrobiana prévia, hemodiálise, diabetes mellitus, câncer, entre outros (HUANG; DATTA; PLATT, 2006; LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

Desde meados da década de 1990, houve um aumento no número de infecções por MRSA relatadas em populações que não estavam expostas aos fatores de risco hospitalares. Estes isolados têm sido denominados MRSA associado à comunidade (*community-associated MRSA – CA-MRSA*) para diferenciar daqueles associados ao ambiente de assistência à saúde (*healthcare-associated MRSA – HA-MRSA*) (DAVID; DAUM, 2010).

Com o decorrer do tempo, o aumento de infecções por CA-MRSA conduziu a sua disseminação em ambientes hospitalares. Acreditava-se que CA-MRSA substituiria HA-MRSA tradicionais nos hospitais. Isso acarretou grande preocupação, porque as graves infecções ocasionadas por isolados CA-MRSA, que têm por característica um grande potencial de virulência, ocorriam entre pacientes hospitalizados os quais apresentam uma série de comorbidades (D'AGATA et al., 2009; POPOVICH; WEINSTEIN; HOTA, 2008).

Em 2005 nos Estados Unidos da América (EUA) foi criada uma definição padrão para CA-MRSA, determinando que uma cultura positiva para MRSA de qualquer parte do corpo de um paciente vindo da comunidade ou dentro de 48 horas de hospitalização classifica o isolado como CA-MRSA. Este paciente não deveria ter histórico de hospitalização, cirurgia ou residência em instituição de cuidados prolongados no último ano, diálise no último ano, nenhum cateter de demora no momento do isolamento e nenhuma cultura de MRSA positiva anterior, independentemente se for oriunda de colonização ou infecção (BUCK et al., 2005).

Definir um isolado como CA-MRSA pela ausência de fatores de risco para a exposição dos cuidados de saúde subestima enormemente a epidemiologia desta bactéria.

Além disso, pode ser difícil determinar a origem da infecção por MRSA na comunidade, pois a colonização por MRSA persiste durante meses ou anos e pode não ser detectada, levando ao desenvolvimento de infecção meses e/ou anos após a alta hospitalar. Entretanto, a definição de CA-MRSA, foi útil, inicialmente, para detectar a emergência desta bactéria. (DAVID et al., 2008; LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

Em geral, taxas de colonização nasal MRSA geralmente são mais baixas na comunidade e tendem a aumentar no ambiente hospitalar (FARIA et al., 2014). Contudo, atualmente, isolados historicamente associados a infecções comunitárias podem ser identificados tanto no ambiente hospitalar quanto no ambiente comunitário, o que faz com que as classificações clínicas de CA-MRSA e HA-MRSA não sejam mais distintas, dificultando a sua diferenciação. (DAVID et al., 2008; POULAKOU; LAGOU; TSIODRAS, 2019). Atualmente, definições epidemiológicas moleculares são consideradas as mais confiáveis (WANG et al., 2010).

Isolados CA-MRSA são resistentes a um menor número de classes de antimicrobianos em comparação a HA-MRSA; também exibem um perfil característico quanto ao tipo de SCC*mec*. Na maioria das vezes, isolados HA-MRSA apresentam SCC*mec* tipos I, II ou III, enquanto os CA-MRSA geralmente contêm os tipos IV, V e VI. As diferenças não ficam restritas somente aos perfis de resistência, pois CA-MRSA apresentam maior virulência que HA-MRSA (CDC, 2013).

Outra população de MRSA tem despertado atenção, uma vez que os isolados se apresentam como sensíveis à oxacilina em testes fenotípicos, mas possuem o gene *mecA*. Este fenômeno foi relatado pela primeira vez por Kampf et al. (2003) em amostras obtidas da mucosa nasal de profissionais da saúde, onde foi denominado como MRSA dormente, ou seja, *S. aureus* sensível à oxacilina positivo para o gene *mecA*. Posteriormente, Hososaka et al. (2007), introduziram o termo *S. aureus* oxacilina-sensível *mecA*-positivo (OS-MRSA), o qual é usual até hoje. Estes autores sugeriram que estas bactérias seriam um novo tipo de MRSA e que estariam mais próximas de CA-MRSA, podendo até ser classificado como uma subclasse.

Hoje sabe-se que OS-MRSA têm sido crescentemente relatado em todo o mundo, não apenas entre os isolados comunitários e clínicos, mas também naqueles isolados de produtos alimentícios de origem animal (ANDRADE-FIGUEIREDO; LEAL-BALBINO, 2016; CHEN et al., 2012; CONCEIÇÃO et al., 2015; CORRENTE et al., 2007; HE et al., 2013; SONG et al., 2017). Devido ao fenótipo de sensibilidade à oxacilina, isolados OS-MRSA podem ser erroneamente interpretados como *S. aureus* sensível a meticilina (*methicillin susceptible S.*

aureus – MSSA) por laboratórios clínicos de microbiologia de rotina, levando à falha terapêutica e até ao óbito caso o tratamento seja feito com oxacilina (DUARTE et al., 2019).

À medida que laboratórios clínicos passam a usar equipamentos automatizados para testes de sensibilidade antimicrobiana, há uma necessidade de avaliação cuidadosa do desempenho desses métodos para a detecção de OS-MRSA, visando impedir sua disseminação nos ambientes de cuidados à saúde e na comunidade (CHEN et al., 2012).

Não existem dados que ditam a terapia ideal para infecções por OS-MRSA. Dados *in vitro* mostram que tais isolados são heterorresistentes, com apenas 1 em 10^8 células ou menos expressando resistência de alto nível a oxacilina. Como o tamanho do inóculo utilizado em testes de sensibilidade é de ordem de grandeza mais baixa do que o número de isolados com resistência de alto nível, OS-MRSA podem não ser detectados como resistentes a este antimicrobiano. A incubação destes isolados heterorresistentes em níveis gradualmente mais elevados de β -lactâmicos pode originar subclones altamente resistentes (SAKOULAS et al., 2001). Por este motivo, em infecções onde OS-MRSA não são detectados o tratamento geralmente é feito com antibióticos β -lactâmicos, o que pode promover a seleção de isolados com resistência de alto nível, conduzindo à falha do tratamento (SONG et al., 2017).

Por conta da resistência aos β -lactâmicos, o glicopeptídeo vancomicina é o fármaco de escolha para o tratamento de infecções causadas por MRSA. Entretanto, o primeiro relato de redução da sensibilidade a vancomicina em *S. aureus* foi reportado no Japão em 1997 e as cepas manifestavam dois fenótipos. O primeiro apresentava sensibilidade intermediária à vancomicina (*vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus* – VISA), com CIM de vancomicina de 8 $\mu\text{g/mL}$, já o segundo expressava heterorresistência à vancomicina (*heteroresistant vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus* – hVISA), com CIM de vancomicina de 4 $\mu\text{g/mL}$, tendo recebido as denominações de cepa Mu50 e Mu3, respectivamente (HIRAMATSU, 1998; HIRAMATSU et al., 1997). Os fenótipos VISA ou hVISA estão associados a um espessamento da parede celular devido a alterações na expressão de elementos genéticos reguladores (PILLAI et al., 2009).

A incorporação do cassete *vanA*, proveniente de *Enterococcus* spp., confere à *S. aureus* o fenótipo verdadeiramente resistente à vancomicina (*vancomycin-resistant Staphylococcus aureus* – VRSA), no qual a CIM é $\geq 16 \mu\text{g/mL}$. O primeiro caso de transferência do gene *van* para *S. aureus* foi identificado em junho de 2002 em Michigan nos Estados Unidos (CHANG et al., 2003). Desde então poucos casos foram reportados nos Estados Unidos (WALTERS et al., 2015). Até hoje apenas um caso de aquisição do gene

vanA por *S. aureus* no Brasil foi descrito, em 2012 em São Paulo, sendo a bactéria denominada de BR-VRSA (ROSSI et al., 2014).

A transmissão de *S. aureus* e MRSA entre profissionais de saúde pode indicar uma baixa adesão aos procedimentos de higienização das mãos, o uso não criterioso de antibióticos e medidas ineficazes de vigilância e controle de infecção e colonização. De tal maneira que o controle cuidadoso destes aspectos são estratégias que podem prevenir e controlar a transmissão destes microrganismos em ambientes de saúde (EMANEINI et al., 2017).

1.4 FATORES DE VIRULÊNCIA

S. aureus tem um grande potencial patogênico, pois possui um extenso arsenal de fatores de virulência, que promovem diferentes efeitos biológicos no hospedeiro; sendo os principais: padrão molecular associado ao microrganismo (*microorganism-associated molecular pattern* – MAMP), podendo ser MAMP quimiotático ou não quimiotático; adesinas, tais como proteínas de superfície e glicopeptídeos; evasinas, como inibidores do receptor MAMP, inibidores do receptor de quimiocinas, inibidores de extravasamento de polimorfonucleares, fatores de coagulação, anticoagulantes, inibidores do sistema complemento, inibidores da opsonofagocitose e inibidores da morte por polimorfonucleares; toxinas, por exemplo, toxina formadora de poros, superantígenos (SAGs), esfingomielinase e toxinas proteolíticas; formação de biofilme (LEE et al., 2018).

Entre os fatores de coagulação secretados por *S. aureus* está a coagulase plasmática livre, codificada pelo gene *coa*. A presença desse gene é um critério importante para distinguir *S. aureus* de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa (SCN). *S. aureus* produz coagulase, para polimerizar a fibrina e formar um abscesso encapsulado no local da infecção, englobando polimorfonucleares (PMNs) infiltrados, impedindo assim o influxo de leucócitos. Considera-se que a atividade aglutinante da coagulase contribua para a coagulação sanguínea sistêmica, permitindo assim a sobrevivência e disseminação endovascular deste microrganismo e levando a uma piora no quadro infeccioso, apresentando um papel importante no processo da sepse (CHENG et al., 2011; POWERS; WARDENBURG, 2014; THOMER; SCHNEEWIND; MISSIAKAS, 2016; TIWARI; SAPKOTA; SEN, 2008).

A PVL é uma citotoxina formadora de poros em leucócitos, codificada pelos genes *lukS-PV* e *lukF-PV* que podem ser carregados por bacteriófagos (KANEKO et al., 1997). Esta citotoxina é composta pelo componente S (S do inglês *slow*, devido à migração lenta em coluna de cromatografia), responsável pelo reconhecimento do receptor na célula alvo do

hospedeiro; e pelo componente F (F do inglês *fast*, devido à migração rápida) de polimerização. Na forma ativa, quatro subunidades de cada componente S e F formam uma estrutura octamérica que resulta na inserção do poro na membrana plasmática da célula alvo, resultando na morte por lise osmótica (DUMONT et al., 2014). É uma toxina geralmente relacionada a infecções complicadas da pele e dos tecidos moles, celulite difusa, pneumonia necrotizante e osteomielite (CDC, 2013; LEE et al., 2018; NHAN; LECLERCQ; CATTOIR, 2011; YAMAMOTO et al., 2010).

A presença desta toxina foi detectada entre isolados MRSA e MSSA. (ELISABETH et al., 2014). Em particular, a ação leucotóxica da PVL é responsável por altas taxas de mortalidade (até 75%) relatada na pneumonia necrotizante (GILLET et al., 2002). Esta enfermidade caracteriza-se como pneumonia hemorrágica e necrótica que progride rapidamente, podendo causar a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), possivelmente levando a choque séptico e falência de múltiplos órgãos. Dados da literatura indicam que a mortalidade em PAC ocasionada por *S. aureus* positivo para PVL situa-se entre 45% e 56% (ELISABETH et al., 2014).

Evidências indicam que isolados CA-MRSA associados à infecções apresentam genes da PVL mais frequentemente do que isolados CA-MRSA associado à colonização (BOYLE-VAVRA et al., 2005). Entretanto, isolados MRSA PVL positivos foram detectados como colonizantes, de forma persistente, em estudantes da área de saúde. Estes dados indicam o risco de disseminação dessas bactérias tanto no ambiente comunitário, quanto no hospitalar (BETTIN; CAUSIL; REYES, 2012; MA et al., 2011).

SAGs representam uma grande família de exotoxinas produzidas por *S. aureus*. Estas proteínas, com massa molecular variando de 19 a 30 kDa são resistentes ao calor, à proteólise e a dessecação (SPAULDING et al., 2013). Mais de vinte SAGs diferentes foram caracterizados a partir de diferentes isolados de *S. aureus* e em aproximadamente 80% dos isolados clínicos pelo menos um gene de SAg estava presente. Entre os SAGs está a toxina da síndrome do choque tóxico 1 (*toxic shock syndrome toxin 1* –TSST-1), responsável pela síndrome do choque tóxico (*toxic shock syndrome* – SST) (XU; MCCORMICK, 2012). Esta exotoxina é codificada pelo gene *tst*, que pode estar localizado em várias ilhas de patogenicidade e, é responsável por causar uma patologia multissistêmica caracterizada por febre de início rápido, hipotensão, erupção eritematosa e hiperemia da mucosa, seguida de descamação e falência múltipla de órgãos (DURAND et al., 2006).

A TSST-1 ativa diretamente os linfócitos T, ligando-se ao receptor de antígeno com forte afinidade e causando a liberação descontrolada de citocinas pró-inflamatórias

responsáveis pela sintomatologia da SST. Em geral a SST apresenta uma taxa de mortalidade variando de 4 a 22% (NHAN; LECLERCQ; CATTOIR, 2011).

Outro fator de virulência que *S. aureus* pode apresentar é o crescimento em forma de biofilme, que pode ser definida como uma comunidade de microrganismos aderidos a uma superfície e inseridos em uma matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. A síntese do exopolissacarídeo é mediada pela expressão do operon *ica*, composto pelos genes *icaA*; *icaB*; *icaC*; *icaD* (BRAMBILLA et al., 2017; HEILMANN et al., 1996; SHRESTHA et al., 2016).

As proteínas transmembranares IcaA e IcaD participam da biossíntese dos oligômeros (10-20 resíduos) de N-acetilglicosamina a partir de UDP-N-acetilglicosamina. A proteína integral de membrana IcaC promove a translocação do Polissacarídeo de Adesão Intercelular (PIA) através da membrana citoplasmática para a superfície da célula. Por vez, IcaB catalisa a deacetilação de Poli-N-acetilglicosamina conferindo uma carga positiva à PIA, acentuando a sua propriedade de adesão e conseqüentemente a virulência da bactéria (LAVERTY; GORMAN; GILMORE, 2013)

A capacidade de *S. aureus* produzir biofilme pode estar relacionada com o sucesso na adesão à mucosa nasal. Também, quando inseridos em um biofilme estes microrganismos estão em um microambiente favorável ao seu crescimento e manutenção, onde os antibióticos, agentes sanitizantes e células do sistema imune têm dificuldade em eliminar o microrganismo. Além disso, neste microambiente os microrganismos têm maior facilidade para comunicação celular e transferência horizontal de genes. Alguns isolados de *S. aureus* conseguem permanecer viáveis, sob a forma de biofilme, em superfícies inanimadas por longos períodos de tempo (BRAMBILLA et al., 2017; JOSHI et al., 2018).

1.5 EPIDEMIOLOGIA DA COLONIZAÇÃO NASAL POR *S. AUREUS*

A colonização nasal por *S. aureus* e MRSA é muito variada, ocorrendo em diversas populações, com taxas variando de 10,4% a 47,8% para *S. aureus* e 0,3% a 32,8% para MRSA (CHEN et al., 2015, 2017; EMANEINI et al., 2017; FARIA et al., 2014; HOGAN et al., 2016). No Brasil, a frequência varia de 17,7% a 40,8% para *S. aureus* e 2,4% a 3,7% para MRSA (DA SILVEIRA et al., 2018; PRATES et al., 2010; SILVA et al., 2008). Um panorama da colonização nasal pode ser visualizado na Tabela 1, onde, porcentagem das frequências de colonização nasal por *S. aureus* e MRSA foram calculados sempre em relação ao número total de indivíduos que participaram dos estudos.

Tabela 1 – Panorama da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* em diversas populações ao redor do mundo

País	População estudada	Período	n	<i>S. aureus</i> (%)	MRSA (%)	Referência
Brasil	Estudantes da saúde	2007	250	40,8	2,4	(PRATES et al., 2010)
Dinamarca	Pacientes hospitalares	2007	67	47,8	25,4	(FARIA et al., 2014)
EUA	Moradores da comunidade	2007-2013	28.627	NA	11,1	(BESSESEN et al., 2015)
Brasil	Profissionais da saúde	2007	202	18,7	NA	(SILVA et al., 2008)
China	Estudantes de medicina	2008-2009	2.103	11,1	1,0	(MA et al., 2011)
EUA	Profissionais da saúde	2008-2010	227	16,7	3,1	(IMMERGLUCK et al., 2013)
Colômbia	Estudantes de medicina	2009	372	27,1	1,6	(BETTIN; CAUSIL; REYES, 2012)
França	Profissionais da saúde	2009	343	36,0	10,0	(LEGRAND et al., 2015)
Índia	Profissionais da saúde	2009-2010	315	22,2	2,5	(RONGPHARPI; HAZARIKA; KALITA, 2013)
Suíça	Profissionais da saúde	2010	405	33,0	NA	(SAKWINSKA et al., 2010)
Quênia	Profissionais da saúde	2010	246	18,3	0	(OMUSE; KARIUKI; REVATHI, 2012)
Jordânia	Crianças da comunidade em idade escolar	2012-2013	210*	100,0*	7,1	(ALZOUBI et al., 2014)
Iran	Estudantes de graduação e estudantes de medicina	2012-2015	350 ^b 350 ^c	21,1 ^b 18,0 ^c	3,1 ^b 2,0 ^c	(ABROO; HOSSEINI JAZANI; SHARIFI, 2017)
Taiwan	Estudantes de graduação	2013	259	22,4	1,5	(WANG et al., 2017)
Nepal	Profissionais da saúde	2013	204	15,7	3,4	(KHANAL et al., 2015)
China	Moradores da comunidade e profissionais da saúde	2013-2014	297 ^a 292 ^d	25,3 ^a 21,6 ^d	0,3 ^a 1,0 ^d	(CHEN et al., 2015)
Nepal	Estudantes de medicina	2014	200	15,0	4,0	(ANSARI et al., 2016)
China	Comunidade do campus da faculdade de medicina	2014-2015	295	24,7	0,3	(CHEN et al., 2017)
China	Moradores da comunidade	2015	2.172	25,6	5,6	(LIN et al., 2017)
Taiwan	Profissionais da saúde	2015	326	26,1	6,1	(WU et al., 2019)
Madagascar	Estudantes de graduação e profissionais da saúde	2016	685 ^b 863 ^d	11,4 ^b 10,4 ^d	0,9 ^b 1,5 ^d	(HOGAN et al., 2016)
China	Profissionais da saúde	2016	434	20,0	2,3	(XIE et al., 2018)
Iran	Moradores da comunidade	2016	806	20,3	1,2	(SOBHANIPOOR et al., 2017)
Iran**	Profissionais da saúde	2000-2016	22***	22,7	32,8	(EMANEINI et al., 2017)
Tanzânia	Profissionais da saúde	2016	379	41,4	15,6	(JOACHIM et al., 2018)
Etiópia	Profissionais da saúde	2016	242	12,0	5,8	(LEGESE et al., 2018)
Paquistão	Profissionais da saúde	2016-2017	225	24,0	9,3	(KASHIF SALMAN et al., 2018)
Iran	Profissionais da saúde	2016-2017	133	39,8	22,5	(POURRAMEZAN; OHADIAN MOGHADAM;

Uganda	Profissionais da saúde	2016-2017	97	28,7	13,4	POURMAND, 2019) (ABIMANA; KATO; BAZIRA, 2019)
Iran	Profissionais da saúde	2016-2017	210	30,9	0,9	(SADEGHI et al., 2019)
Alemanha	Profissionais da saúde	2016-2018	1005	NA	0,4	(SCHUBERT et al., 2019)
Iraque	Profissionais da saúde	2017	182	22,5	13,7	(HUSSEIN; ASSAFI; IJAZ, 2017)
Brasil	Moradores de casas de repouso	2017	300	17,7	3,7	(DA SILVEIRA et al., 2018)
Arábia Saudita	Moradores da comunidade, estudantes de medicina e profissionais da saúde	2018	70 ^a 68 ^c 72 ^d	37,1 ^a 26,5 ^c 26,4 ^d	1,4 ^a 4,4 ^c 8,3 ^d	(EL-MAHDY et al., 2018)

NA: não avaliado. * todas amostras incluídas continham *S. aureus*. ** meta-análise. *** número de estudos analisados. ^a moradores da comunidade. ^b estudantes de graduação. ^c estudantes da saúde. ^d Profissionais da saúde.

2 JUSTIFICATIVA

S. aureus é considerado um importante patógeno comunitário e hospitalar, responsável por elevadas taxas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. A colonização nasal por *S. aureus* desempenha um papel fundamental na epidemiologia e patogênese da infecção. Embora pacientes possam adquirir infecções por sua própria microbiota endógena, profissionais de saúde colonizados por MSSA ou MRSA, devido à relação de sua exposição aos pacientes, têm sido considerados reservatórios de infecções e implicados como fonte de diversos surtos, especialmente quando apresentam lesões de pele ou outras infecções por este microrganismo. A participação de estudantes da área da saúde parece não ser exceção. No entanto, a importância relativa de profissionais colonizados na transmissão de MSSA e MRSA em instituições de saúde, onde este microrganismo é endêmico, não está bem clara. Estudos para compreender melhor a ecologia, fisiopatologia e epidemiologia da colonização nasal e de infecções por *S. aureus* destacam a necessidade de aplicação e adesão às medidas de controle de infecção que visam redução da disseminação deste microrganismo entre os indivíduos altamente vulneráveis a serem infectados. Considerando que a epidemiologia global de MSSA e MRSA tem evidenciado diversidade genética em diferentes regiões geográficas e que, atualmente, há dados limitados em nosso meio, verifica-se a importância da avaliação da frequência e caracterização molecular de *S. aureus* em profissionais do HU-UEL e de estudantes do Centro de Ciências da Saúde/UEL.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a colonização de *S. aureus* isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da área de saúde.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) determinar a frequência de colonização nasal por *S. aureus* entre profissionais e estudantes da área de saúde;
- b) avaliar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos;
- c) detectar genes que codificam resistência a meticilina;
- d) realizar a tipagem *SCCmec*;
- e) investigar a presença de genes de virulência;
- f) realizar a genotipagem de isolados resistentes a meticilina.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 LOCAIS DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

O Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU-UEL) é um hospital terciário, centro de referência para o SUS na região norte do estado do Paraná, Brasil. Atende pacientes de cerca de 250 municípios do Paraná e de mais de 100 cidades de outros estados. Possui 313 leitos distribuídos entre unidades de internação, pronto socorro e unidade de terapia intensiva (UTI).

Os testes descritos nesse trabalho foram realizados no setor de microbiologia do laboratório de análises clínicas do HU-UEL e no laboratório de biologia molecular de microrganismos (NIP5) localizado no Centro de Ciências Biológicas (CCB) no campus da UEL.

4.2 DELINEAMENTO

Trata-se de um estudo observacional, transversal e descritivo, que se propôs a avaliar a frequência de colonização por *S. aureus* entre profissionais e estudantes da área da saúde, bem como determinar características fenotípicas, genotípicas dos isolados.

O cálculo amostral considerou que a frequência de colonização de *S. aureus* no grupo e na região geográfica estudados está em 40,8% (PRATES et al., 2010). Para obter resultados com nível de confiança de 95%, considerando que a população é composta por 2.000 indivíduos, fez-se necessário realizar coletas em no mínimo 311 voluntários. Este cálculo foi realizado pelo *software* EPI Info™ 7 (Atlanta, USA).

4.3 BIOÉTICA

O estudo foi submetido ao comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Estadual de Londrina (CEP/UEL) sob o número CAAE: 79663417.2.0000.5231, obtendo o parecer de número 2.421.361 (Anexo A).

Os indivíduos foram esclarecidos sobre a pesquisa e convidados a participar mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), que pode ser visualizado no Apêndice A.

Após esclarecimento dos objetivos e métodos do estudo e o consentimento do participante, foi realizada a coleta da amostra.

4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram convidados profissionais da saúde, estudantes cursando a partir do terceiro ano de graduação dos cursos em Enfermagem, Farmácia, Fisioterapia e Medicina e estudantes de pós-graduação em nível de residência, mestrado e doutorado, ambos do HU-UEL. Sendo incluídos os indivíduos que aceitaram participar da pesquisa.

4.5 COLETA DAS AMOSTRAS

Para investigar a presença de *S. aureus* foram coletadas amostras da mucosa nasal utilizando-se hastes de algodão flexíveis (*swab*). As amostras foram obtidas após introdução e movimento de rotação do *swab* nas narinas. Os mesmos foram transportados ao laboratório de microbiologia em meio de transporte *Stuart* (COPAN Diagnóstico, Itália), imediatamente ou no prazo máximo de 2 horas.

Juntamente com a coleta da amostra, foram anotados os dados do indivíduo, como idade e atividade para cálculos de frequência. Para tal, utilizou-se um instrumento de coleta de dados (Apêndice B).

4.6 MÉTODOS FENOTÍPICOS

4.6.1 Isolamento e Identificação Fenotípica de *S. aureus*

Os *swabs* foram inoculados em *Tryptone Soya Broth* (TSB) (Oxoid, Basingstoke, England) suplementado com 6,5% de cloreto de sódio (NaCl), sendo incubado em estufa microbiológica a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após este período, com auxílio de uma alça bacteriológica, foi retirada uma alíquota de 10 μL do caldo TSB que apresentou turvação e inoculada em *Mannitol Salt Ágar* (MSA) (Oxoid, Basingstoke, England), a placa foi incubada a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. As colônias amarelas, sugestivas para *S. aureus*, que se desenvolveram no MSA foram identificadas utilizando-se os testes de ágar DNase (Oxoid, Basingstoke, England) e disco-difusão com os antimicrobianos novobiocina e polimixina B (Oxoid, Basingstoke, England), de acordo com Jorgensen et al. (2015). Após confirmada a

presença de *S. aureus* na amostra, procedeu-se a avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos e demais testes, na sequência os isolados foram estocados a -80°C em meio TSB contendo 30% de glicerol até o momento das análises moleculares.

4.6.2 Avaliação da Sensibilidade aos Antimicrobianos

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) foi realizado por disco-difusão de acordo com metodologia padronizada pelo *Clinical Laboratory Standards International* (CLSI, 2017), de modo que as colônias corretamente identificadas como *S. aureus* foram suspensas em salina 0,9%, ajustando a suspensão em refratômetro (DensiCHEK Plus, BioMérieux[®]) na escala 0,5 de McFarland (1×10^8 UFC/mL) a qual foi aplicada em Mueller Hinton Ágar (MHA) com um *swab* estéril e os discos foram dispostos sob o ágar com auxílio de uma pinça flambada.

Utilizaram-se os antimicrobianos (Oxoid, Basingstoke, England): penicilina (10U); cefoxitina (30 μg); eritromicina (15 μg); clindamicina (2 μg); gentamicina (10 μg); tetraciclina (30 μg); linezolida (30 μg); ciprofloxacino (5 μg); rifampicina (5 μg); cloranfenicol (30 μg) e sulfametoxazol + trimetoprima (23,75/1,25 μg). Além destes, também foi testado o disco de tigeciclina (15 μg), conforme metodologia determinada pelo *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST, 2019).

4.6.3 Triagem para Identificação de Isolados VISA e h-VISA

Para a detecção de isolados hVISA, foi utilizada a técnica de Ágar *screening* em *Brain Heart Infusion* ágar (BHIA) suplementado com vancomicina nas concentrações de 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. A partir da suspensão de *S. aureus* previamente preparada para o TSA, com uma alça calibrada estéril e descartável, retirou-se uma alíquota de 10 μL , a qual foi disposta sob uma placa contendo o ágar suplementado e incubada a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. As leituras foram feitas em 24 e 48 horas. O resultado foi considerado positivo quando ocorreu o crescimento de duas ou mais colônias após 24 horas. Como controles positivos foram utilizadas as cepas de *S. aureus* Mu3 ATCC[®] 700698 (h-VISA), Mu50 ATCC[®] 700699 (VISA), *Enterococcus faecalis* ATCC[®] 51299 (VRE) e como negativo, *S. aureus* ATCC[®] 29213 (KHATIB et al., 2015).

4.6.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima para Oxacilina

Para determinação da CIM de oxacilina foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo, segundo recomendações do CLSI (2018).

4.7 MÉTODOS GENOTÍPICOS

4.7.1 Extração de DNA

A extração do DNA genômico foi realizada conforme descrito por Ausubel et al. (1999). De maneira que, para cada isolado, uma alíquota de 30 µL retirada do estoque foi transferida para 3 mL de TSB e incubado a 35°C por 24 h. As células foram colhidas por centrifugação a 10.000 x *g* durante 3 minutos e ressuspensas em 500 µL de tampão TENTS. Na sequência, foram adicionados 400 µL de fenol (tamponado com 10 mM Tris-HCl e 1 mM EDTA, pH 8,0) e duas pérolas de vidro à suspensão. Cada tubo foi submetido a três ciclos de 1 minuto no agitador *vortex* e 1 minuto no gelo. Após, foi realizada centrifugação a 10.000 x *g* durante 10 minutos e transferidos 400 µL da fase aquosa (sobrenadante) para um tubo novo, no qual foram adicionados 300 µL de solução contendo fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25/24/1), sendo homogeneizado manualmente por inversão e posteriormente centrifugado a 10.000 x *g* durante 10 minutos. Após centrifugação, foram transferidos 300 µL da fase aquosa (sobrenadante) para um tubo novo, no qual foram adicionados 2,5 volumes de etanol absoluto gelado. O tubo foi armazenado a -20°C por no mínimo 2 horas, sendo centrifugado (10.000 x *g* durante 10 minutos) após este período e descartado o sobrenadante. Ao *pelet* formado foi adicionado, cuidadosamente para não ressuspê-lo, 1 mL de etanol 70% e novamente centrifugado a 10.000 x *g* durante 10 minutos, sendo descartado o sobrenadante. O DNA foi ressuspendido em 30 µL de água ultrapura.

4.7.2 PCR Convencional

Como teste confirmatório para a identificação da espécie foi utilizado gene codificante da coagulase (gene *coa*) de acordo com Tiwari, Sapkota e Sen (2008) e gene codificante de termonuclease (gene *nuc*) de acordo com Hirota et al. (2011). A detecção dos genes de virulência: Leucocidina de Panton-Valentine (*lukS-PV-lukF-PV*); toxina da síndrome do choque tóxico-1 (*tst*) e biofilme (*icaA*) foram realizadas como descrito por Campbell et al.

(2008). A detecção do gene *mecA* e a tipificação dos elementos SCC*mec* foram realizadas de acordo com metodologia proposta por Milheiriço, Oliveira e Lencastre (2007). A resistência a oxacilina foi avaliada de acordo com a presença do gene *mecA*.

4.7.3 Genotipagem

A diversidade genética de todos os isolados *mecA* positivos foi analisada pela técnica de PCR baseada em sequência de elementos repetitivos (*repetitive element sequence-based* PCR – REP-PCR) usando o primer RW3A como descrito por (DEL VECCHIO et al., 1995). Os padrões de bandas que tinham mais de uma banda diferindo em tamanho foram considerados tipos diferentes de REP-PCR (VAN DER ZEE et al., 1999). Os padrões de bandas foram categorizados utilizando o algoritmo UPGMA e o coeficiente de Jaccard (SNEATH; SOKAL, 1973) do *software* Bionumerics v.6.5 (Applied Mathematics, Kortrijk, Belgium), com a tolerância de banda definida em 3% e o valor limite de corte definido em 85% (OLIVEIRA et al., 2015).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análises de tabelas de contingência (teste do χ^2) foram empregadas para verificar as associações entre variáveis categóricas e grupos diagnósticos. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição da idade. As variáveis categóricas foram expressas como número absoluto (n) e porcentagem (%) e as variáveis contínuas foram expressas como média \pm desvio padrão (*standard deviation* – SD). A associação entre variáveis explanatórias e colonização foi avaliada usando três modelos diferentes de análise de regressão logística binária automática passo a passo, controlada por covariáveis que podem confundir a associação de interesse. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o IBM SPSS, versão 20.0 para Windows. Os testes foram bicaudais e um nível alfa de 0,05 indicou resultados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS

ARTIGO – COLONIZAÇÃO NASAL POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ENTRE PROFISSIONAIS E ESTUDANTES DA ÁREA DA SAÚDE DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO NO SUL DO BRASIL

RESUMO

Staphylococcus aureus pode colonizar de modo assintomático as narinas e a pele humanas. A colonização nasal por essa bactéria representa um risco potencial para o desenvolvimento de infecções. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência de colonização nasal por *S. aureus* entre profissionais e estudantes da saúde do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, Brasil, e caracterizar os isolados. Uma amostra foi coletada da mucosa nasal de cada participante e processada para identificação de *S. aureus* de acordo com metodologias fenotípicas e moleculares. Os *S. aureus* isolados foram avaliados quanto ao perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro e análises moleculares para resistência a meticilina e quatro fatores de virulência. Os isolados MRSA foram caracterizados de acordo com a sensibilidade a oxacilina/cefoxitina, tipos SCCmec e análise clonal. Análises descritivas e de regressão logística binária foram realizadas para determinar o risco potencial para a colonização por *S. aureus* e MRSA. Das 324 amostras nasais coletadas, 139 (42,9%) foram positivas para *S. aureus* e entre estas 40 (28,8%) foram identificadas como MRSA. A colonização por *S. aureus* foi significativamente maior em homens e estudantes (OR=2,898, IC 95% 1,553-5,410), porém nenhuma variável foi associada à colonização por MRSA. Todos os isolados foram sensíveis a vancomicina e alta taxa de resistência foi observada para penicilina (90,6%), eritromicina (66,9%) e clindamicina (59,0%). Todos os isolados possuíam o gene da coagulase (*coa*) e a maioria (97,8%) também co-abrigou o gene para biofilme (*icaA*); 15,8% e 6,5% foram positivos para genes da toxina da síndrome do choque tóxico (*tst*) e da Leucocidina de Panton-Valentine (*lukS-PV/lukF-PV*), respectivamente. Dois MRSA abrigavam *tst* e nenhum MRSA possuía *lukS-PV/lukF-PV*. Uma alta proporção de isolados de MRSA (45%) não foi detectada pelos métodos fenotípicos usados para identificar resistência à meticilina. Os isolados MRSA foram distribuídos em seis tipos de SCCmec e o tipo I (62,5%) foi o mais frequente, seguido do tipo IV (22,5%). Um isolado cada abrigou os tipos SCCmec II, III, VI e VI; dois isolados (5,0%) foram classificados como não tipáveis. Na análise de similaridade genética, 82,5% (33/40) das amostras MRSA foram agrupadas em 4 clusters com pelo menos dois isolados, que exibiram alta similaridade entre eles. Em conclusão, os resultados do presente estudo revelam uma alta frequência de *S. aureus* em profissionais de saúde e estudantes que frequentam ambiente hospitalar. É importante ressaltar que os isolados apresentam diferentes perfis de resistência antimicrobiana, incluindo MSSA multirresistentes, MRSA e OS-MRSA, e a presença dos genes *lukS-PV/lukF-PV* e *tst* também foi detectada em alguns isolados. Ambos os grupos podem representar uma fonte potencial para o surgimento de *S. aureus* altamente adaptado ao ambiente hospitalar.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*. Colonização nasal. MRSA. Resistência. Virulência.

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus pode interagir com seu hospedeiro como membro comensal da microbiota (KRISMER et al., 2017; WERTHEIM et al., 2005; WILLIAMS, 1963) ou como patógeno oportunista, causando uma ampla gama de infecções, tanto comunitárias como hospitalares (DUARTE et al., 2019; LEE et al., 2018; LOWY, 1998). Em humanos, este microrganismo pode colonizar vários locais do corpo, sendo a mucosa nasal um importante sítio colonizante. De fato, cerca de 20 a 30% da população humana apresenta colonização nasal de forma persistente e assintomática por este microrganismo (KRISMER et al., 2017; WERTHEIM et al., 2005; WILLIAMS, 1963). É importante ressaltar que a colonização nasal persistente por *S. aureus* pode aumentar o risco de infecções subsequentes e esse cenário é ainda mais complicado em indivíduos hospitalizados e imunodeprimidos, que podem desenvolver infecções com altas taxas de morbidade e mortalidade (PALING et al., 2017; THUY et al., 2018; WERTHEIM et al., 2005; YOUNG et al., 2017).

A colonização nasal por *S. aureus* pode ter início nos primeiros dias da vida humana e a transmissão horizontal da mãe colonizada parece ser a principal fonte de colonização por esta bactéria em recém-nascidos (LESHEM et al., 2012; MAAYAN-METZGER et al., 2017). Após o nascimento, as mãos são o principal vetor para a transmissão de *S. aureus* das superfícies para o nariz (MODY et al., 2019; WERTHEIM et al., 2006). Particularmente em hospitais, os profissionais da saúde e pacientes que são portadores nasais podem ser a fonte para a transmissão e propagação de *S. aureus* nesse ambiente (EMANEINI et al., 2017; LEGESE et al., 2018; SILVA et al., 2008). Da mesma forma, os estudantes que têm exposição contínua ao ambiente hospitalar durante o estágio podem representar uma fonte importante para a transmissão de *S. aureus* neste ambiente (CONCEIÇÃO; DE LENCASTRE; AIRES-DE-SOUSA, 2017; HOGAN et al., 2016). Crucialmente, taxas mais altas de colonização por *S. aureus* resistente à meticilina (*methicillin-resistant S. aureus* – MRSA) foram relatadas entre profissionais da saúde (EMANEINI et al., 2017; LEGESE et al., 2018) e taxas crescentes de colonização por MRSA entre estudantes com exposição contínua ao hospital também foram relatadas (CONCEIÇÃO; DE LENCASTRE; AIRES-DE-SOUSA, 2017). Além de seu papel na transmissão de *S. aureus* em ambientes hospitalares, os profissionais da saúde e os estudantes também podem servir como vetores para a transmissão cruzada de MRSA entre a comunidade e as populações hospitalares (EL-MAHDY et al., 2018; HOGAN et al., 2016).

Em conjunto, esses dados indicam a importância da triagem de portadores nasais de *S. aureus* entre profissionais e estudantes da saúde e como um componente do controle de infecções por *S. aureus* em hospitais. Nesse sentido, poucos estudos sobre a frequência de colonização nasal por *S. aureus* em profissionais e estudantes da saúde em ambientes hospitalares brasileiros foram relatados na literatura.

O Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU-UDEL) é um hospital público de ensino e referência em casos de alta complexidade no norte do estado do Paraná, Brasil. O número de isolados de MRSA detectados neste hospital aumentou ao longo dos anos e, em um estudo retrospectivo realizado entre 2001 e 2015, isolados MRSA representaram 43,7% dos casos de bacteremia em pacientes hospitalizados (DUARTE et al., 2018a). No entanto, nenhum estudo sobre colonização nasal por *S. aureus* em profissionais e estudantes da saúde que frequentam este hospital foi realizado até o momento. Portanto, os objetivos deste estudo foram determinar a frequência de colonização nasal por *S. aureus* entre profissionais e estudantes da saúde no HU-UDEL, definir potenciais fatores de risco para colonização nasal por *S. aureus* e caracterizar os isolados de *S. aureus* por métodos fenotípicos e moleculares.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

O HU-UDEL é um hospital terciário que atende pelo Sistema Único de Saúde (SUS), é um centro de referência regional de alta complexidade com 313 leitos. Além disso, o hospital serve como campo de estágio para estudantes de graduação em Medicina, Farmácia, Enfermagem e Fisioterapia, além de oferecer programas de pós-graduação em diferentes áreas da saúde.

Um estudo transversal foi realizado entre a comunidade da HU-UDEL de dezembro de 2017 a maio de 2018. O tamanho da amostra foi calculado utilizando o *software* EPI Info™ 7 (Atlanta, EUA). O cálculo baseou-se na população (estudantes de graduação, pós-graduação e profissionais da saúde) que frequentavam o HU-UDEL durante o período do estudo. Assumindo uma prevalência de colonização por *S. aureus* em cerca de 40% (PRATES et al., 2010) e um intervalo de confiança de 95%, pelo menos 324 indivíduos foram incluídos neste estudo. A coleta de dados demográficos ocorreu no momento da coleta de *swabs* nasais, por meio de um questionário padronizado. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de

Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos (CAAE no. 79663417.2.0000.5231 – Parecer número 2.421.361-CEP-UEL) da Universidade Estadual de Londrina.

Coleta e processamento dos swabs nasais

Para investigar a presença de *S. aureus* foram coletadas amostras da mucosa nasal utilizando-se hastes de algodão flexíveis (*swab*). As amostras foram obtidas após introdução e movimento de rotação do *swab* nas narinas. Os mesmos foram transportados ao laboratório de microbiologia em meio de transporte *Stuart*, imediatamente ou no prazo máximo de 2 horas. A amostra contida no *swab* foi inoculada em *Tryptone Soya Broth* (TSB) (Oxoid, Basingstoke, England) suplementado com 6.5% cloreto de sódio e incubada a 35 °C por 24 h. Após incubação, a amostra foi subcultivada em *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid, Basingstoke, England) a 35°C por 24 horas. Colônias sugestivas para *Staphylococcus* spp. foram submetidas à identificação fenotípica padrão (JORGENSEN et al., 2015). A identificação da espécie também foi realizada através de *multiplex* PCR para gene *nuc* (codificador de termonuclease) de acordo com Hirotaki et al. (2011). As bactérias foram armazenadas a -80°C em TSB contendo 30% de glicerol.

Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Os isolados foram testados quanto à sensibilidade antimicrobiana utilizando a técnica de disco-difusão. Os seguintes agentes antimicrobianos (Oxoid, Basingstoke, England) foram avaliados: penicilina (10 U), cefoxitina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), ciprofloxacino (5 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), linezolida (30 µg), rifampicina (5 µg), sulfametoxazol/trimetoprima (23.75/1.25 µg), tetraciclina (30 µg) e tigeciclina (15 µg). A concentração inibitória mínima (CIM) para oxacilina foi determinada pelo ensaio de microdiluição em caldo. A resistência indutível à clindamicina foi determinada pelo método de disco aproximação (D-teste). Todas as técnicas foram realizadas de acordo com recomendações do CLSI (2018). Os pontos de corte de sensibilidade utilizados foram aqueles recomendados pelo CLSI (2018), exceto a tigeciclina, que foi interpretada de acordo com o EUCAST (2019). *S. aureus* ATCC 25923 e *S. aureus* ATCC 29213 foram usados como controle de qualidade. Cefoxitina disco e oxacilina CIM foram usados para definir fenotipicamente os isolados MRSA.

Para detectar heterorresistência à vancomicina (*heteroresistant vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus* – hVISA), Ágar *screening* em *Brain Heart Infusion* ágar

(BHIA) suplementado com vancomicina nas concentrações de 3µg/mL e 4µg/mL conforme descrito por Khatib et al. (2015). *S. aureus* ATCC 29213 (MSSA), *S. aureus* BEC 9393 (MRSA), *S. aureus* Mu₃ ATCC 700698 (hVISA), *S. aureus* Mu₅₀ ATCC 700699 (VISA) e *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 (VRE) foram utilizados como controle de qualidade neste experimento.

Extração de DNA

O DNA genômico de *S. aureus* foi extraído seguindo o procedimento descrito em Ausubel et al. (1999).

Deteção de genes *mecA* e fatores de virulência

Todos os isolados de *S. aureus* foram submetidos a ensaios de PCR para a detecção de genes que codificam resistência a meticilina e fatores de virulência. O gene *mecA* (codificador de PBP2a) foi detectado conforme descrito por Milheiriço; Oliveira; De Lencastre (2007); e os genes *icaA* (codificador de N-acetilglucosaminil transferase do locus de adesividade intercelular - biofilme), *lukS-PV* e *lukF-PV* (codificadores da leucocidina Pantón-Valentine - PVL) e *tst* (codificador da toxina da síndrome do choque tóxico - TSST) foram detectados como descrito por Campbell et al. (2008). Reações sem qualquer DNA molde foram realizadas simultaneamente como controle negativo. *S. aureus* BEC 9393 (*mecA*, *icaA*, *tst*), *S. aureus* ATCC 25923 (*coa*, *lukS-PV* e *lukF-PV*) foram usados como controles positivos.

Tipagem MRSA

A identificação do tipo de SCC*mec* em todos os isolados MRSA foi realizada por *multiplex* PCR de acordo com Milheiriço; Oliveira; De Lencastre (2007). Isolados não tipáveis foram designados como NT. Foram utilizados como controles as cepas *S. aureus* NCTC10442 (tipo I), N315 (tipo II), 85/2082 (tipo III), 81/108 (tipo IV), WIS [WBG8318] (tipo V) e HDE288 (tipo VI).

A relação genética dos isolados foi analisada pela técnica de PCR baseada em sequência elementos repetitivos (REP-PCR) utilizando primers RW3A como descrito por Del Vecchio et al. (1995). Os padrões de bandas que tinham mais de uma banda diferindo em tamanho foram considerados tipos diferentes de REP-PCR (VAN DER ZEE et al., 1999). Os

padrões de bandas foram categorizados utilizando o algoritmo UPGMA e o coeficiente de Jaccard (SNEATH; SOKAL, 1973) do *software* Bionumerics v.6.5 (Applied Mathematics, Kortrijk, Belgium), com a tolerância de banda definida em 3% e o valor de corte definido em 85% (OLIVEIRA et al., 2015).

Análise estatística

Análises de tabelas de contingência (teste do χ^2) foram empregadas para verificar as associações entre variáveis categóricas e grupos diagnósticos. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição da idade. As variáveis categóricas foram expressas como número absoluto (n) e porcentagem (%) e as variáveis contínuas foram expressas como média \pm desvio padrão (*standard deviation* – SD). A associação entre variáveis explanatórias e colonização foi avaliada usando três modelos diferentes de análise de regressão logística binária automática passo a passo, controlada por covariáveis que podem confundir a associação de interesse. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o IBM SPSS, versão 20.0 para Windows. Os testes foram bicaudais e um nível alfa de 0,05 indicou resultados estatisticamente significativos.

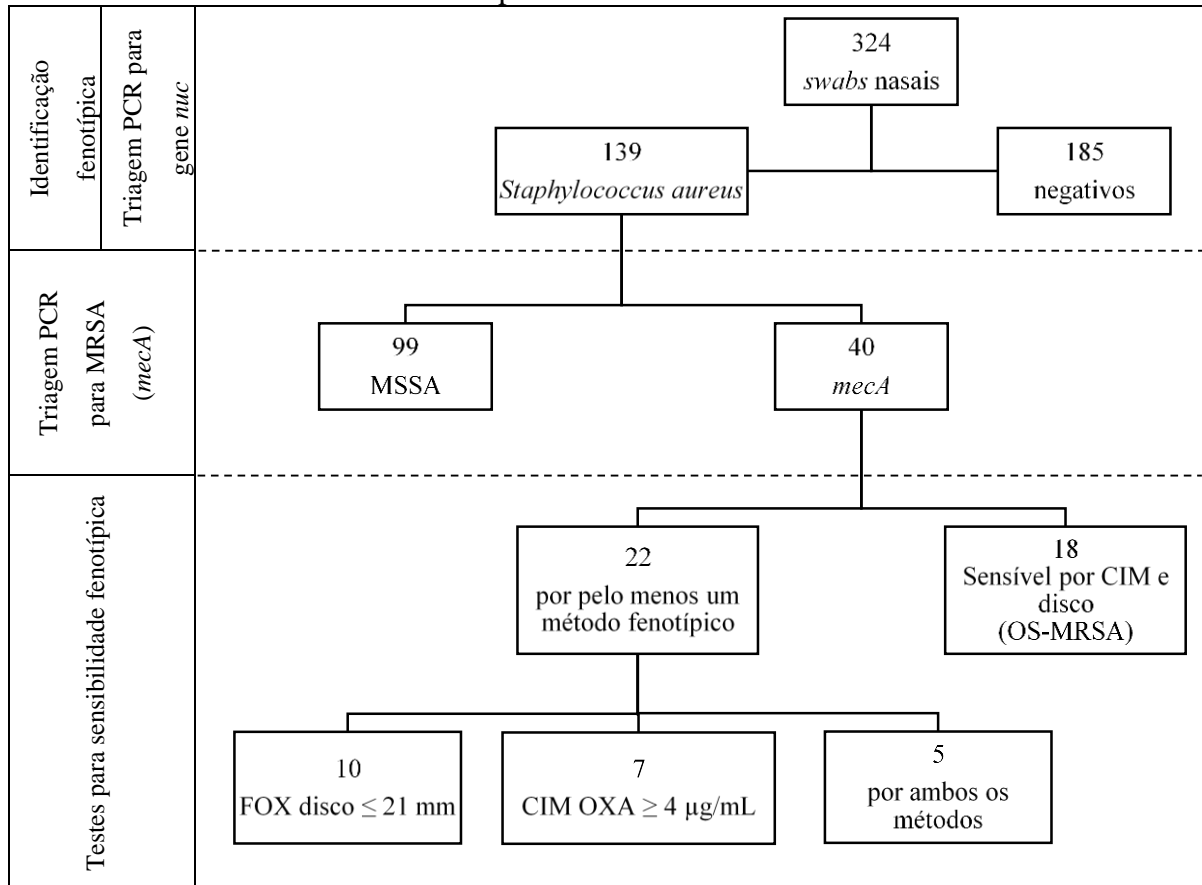
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características demográficas dos participantes e frequência de colonização nasal por *S. aureus* e MRSA

Participaram do estudo 324 voluntários, dos quais 103 (31,8%) eram profissionais da saúde, 128 (39,5%) eram estudantes de graduação e 93 (28,7%) de pós-graduação. A média de idade dos participantes foi de $30 \pm 11,2$ anos, que variam de 19 a 73 anos, sendo 88 (27,2%) homens e 236 (72,8%) mulheres.

Embora uma única coleta nasal tenha sido realizada em cada participante, o que não permite a identificação dos portadores persistentes (VAN BELKUM et al., 2009), uma alta frequência de portadores de *S. aureus* foi detectada neste estudo. A frequência de colonização nasal por *S. aureus* entre todos os participantes foi de 42,9% (139/324). Entre os portadores nasais de *S. aureus*, 28,8% (40/139) foram identificados como MRSA, ou seja, abrigavam o gene *mecA*, representando 12,3% de todos os participantes (Figura 2).

Figura 2 – Fluxo de resultados para colonização nasal por *Staphylococcus aureus*, coleta realizada com *swabs* em profissionais e estudantes da saúde



MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. MSSA: *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina. OS-MRSA: *Staphylococcus aureus* oxacilina-sensível *mecA*-positivo. CIM: concentração inibitória mínima. FOX: cefoxitina. OXA: oxacilina.

A colonização por *S. aureus* depende da sua capacidade de sobreviver e adaptar-se aos nichos do hospedeiro. Estas incluem a superação das defesas inatas e adaptativas do hospedeiro; bem como coexistir com outros membros da microbiota que podem promover ou inibir seu crescimento (KRISMER et al., 2017; MULCAHY; MCLOUGHLIN, 2016; SOLLID et al., 2014; SUN et al., 2018; WEIDENMAIER; GOERKE; WOLZ, 2012). Além disso, vários fatores, incluindo idade mais jovem, sendo do sexo masculino, contato com profissionais da saúde, ocupação profissional e região geográfica, foram correlacionados com a colonização nasal por *S. aureus* (BUDRI et al., 2018; CHEN et al., 2017; LEGRAND et al., 2015; SILVA et al., 2008; SOLLID et al., 2014; XIE et al., 2018).

Neste estudo, foram analisadas seis características descritivas dos participantes (sexo, idade, ocupação, uso de antibióticos e/ou hospitalização nos últimos três meses, e contato direto com pacientes hospitalizados) e suas razões de chances para a colonização nasal por *S. aureus* (Tabela 2). A fim de avaliar a independência das associações, realizamos três modelos de análises de regressão logística binária. No modelo #1 adicionamos sexo e ocupação, ambas

as variáveis foram positivamente associadas à colonização por *S. aureus*, sexo masculino $p=0.004$ e ocupação estudante $p=0.019$ ($\chi^2=12.337$, $df=2$, $p=0.002$). O segundo modelo (#2) é o modelo #1 adicionado às outras variáveis descritivas avaliadas no presente estudo. Nesta análise, o sexo masculino permaneceu associado à colonização ($p= 0,003$), enquanto a idade foi negativamente associada à colonização ($p = 0,021$). ($\chi^2= 12.915$, $df= 2$, $p= 0.002$). Finalmente, no modelo #3, quando avaliada a interação entre sexo (masculino) e ocupação (estudante), somente os estudantes do sexo masculino foram independentemente associados à colonização por *S. aureus* ($p=0.001$) ($\chi^2= 1.733$, $df= 1$, $p=0.001$). Além disso, o modelo #3 contribui para avaliar corretamente 61,8% dos casos, com alta sensibilidade (90,2%), porém apresentou baixa especificidade (23,9%). As outras variáveis descritivas não foram associadas à colonização nasal por *S. aureus* ($p>0.05$) (Tabela 3). Assim, os participantes do sexo masculino tiveram 2,107 (IC 95%: 1,268-3,502, $p=0,004$) vezes mais chances de serem colonizados por *S. aureus* em comparação com participantes do sexo feminino. Além disso, os estudantes tiveram 1,819 (IC 95%: 1,105-2,996, $p=0,019$) vezes mais chances de serem colonizados por *S. aureus* em comparação com os profissionais da saúde (Tabela 3). Nenhuma das variáveis analisadas foram associadas à colonização nasal por MRSA (Tabela 2).

Poucos estudos analisando em conjunto as duas populações, profissionais e estudantes da saúde, que frequentam um hospital, são descritos na literatura. Hogan et al. (2016) relataram uma baixa frequência de colonização nasal por *S. aureus* em profissionais da saúde (10,4%), semelhante à encontrada em estudantes não médicos de uma universidade de Madagascar (11,4%). Em contraste com nossos resultados, a colonização nasal foi maior em participantes do sexo feminino e aumentou com a idade. Hussein; Assafi; Ijaz (2017) relataram uma frequência de colonização nasal por *S. aureus* em 22,5% em profissionais da saúde e 18,7% em estudantes de uma escola preparatória no Iraque, ambos não tinham contato com ambiente hospitalar. Nenhuma das variáveis analisadas (sexo, idade, jornada de trabalho e dia de trabalho foi associada à colonização por *S. aureus*). Finalmente, El-Mahdy et al. (2018) relataram uma frequência de 26% de colonização nasal por *S. aureus* entre profissionais e estudantes da saúde na Arábia Saudita. Esses autores não avaliaram os fatores de risco associados à colonização por *S. aureus*.

Estudos prévios realizados analisando as populações separadamente mostraram que a frequência de colonização nasal por *S. aureus* e MRSA são altamente variáveis. Por exemplo, as frequências relatadas de colonização nasal por *S. aureus* e MRSA variaram de 12 a 39,8% e 0,2 a 22,6%, respectivamente, entre profissionais da saúde (DULON et al., 2014; JANNATI

et al., 2013; POURRAMEZAN; OHADIAN MOGHADAM; POURMAND, 2019; SILVA et al., 2008); e 15,0 to 40,8% e 0 to 8.0%, respectivamente, entre estudantes (ANSARI et al., 2016; BETTIN; CAUSIL; REYES, 2012; CARVALHO et al., 2016; DE GIUSTI et al., 2013; PRATES et al., 2010).

Tabela 2 – Tabela de contingência para as características associadas a 139 *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina e resistente a meticilina isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil

Variável		<i>Staphylococcus aureus</i>		p-valor	<i>mecA</i>		p-valor
		Negativo n (%)	Positivo n (%)		Negativo n (%)	Positivo n (%)	
Sexo	Masculino	40 (21.6)	48 (34.5)	0.010	32 (32.3)	16 (40.0)	0.389
	Feminino	145 (78.4)	91 (65.5)		67 (67.7)	24 (60.0)	
Idade (anos)		31.2 (11.9)	28.8 (10.8)	0.054	28.6 (10.2)	29.3 (9.5)	0.719
Uso de ATB	Não	151 (81.6)	115 (82.7)	0.796	79 (79.8)	36 (90.0)	0.150
	Sim	34 (18.4)	24 (17.3)		20 (20.2)	4 (10.0)	
Hospitalização	Não	176 (95.1)	137 (98.6)	0.092	97 (98.0)	40 (100)	0.365
	Sim	9 (4.9)	2 (1.4)		2 (2.0)	0 (0)	
Ocupação	Estudante	118 (63.8)	103 (74.1)	0.048	76 (76.8)	27 (67.5)	0.259
	Profissional	67 (36.2)	36 (25.9)		23 (23.2)	13 (32.5)	
Estudante	Enfermagem	24 (20.3)	14 (13.6)	0.596	11 (14.5)	3 (11.1)	0.698
	Farmácia	19 (16.1)	20 (19.4)		17 (22.4)	3 (11.1)	
	Fisioterapia	10 (8.5)	6 (5.8)		4 (5.3)	2 (7.4)	
	Medicina	17 (14.4)	18 (17.5)		13 (17.1)	5 (18.5)	
	Pós-graduação	48 (40.7)	45 (43.7)		31 (40.8)	14 (51.9)	
Contato paciente	Não	51 (27.6)	28 (20.1)	0.124	23 (23.2)	5 (12.5)	0.153
	Sim	134 (72.4)	111 (79.9)		76 (76.8)	35 (87.5)	

As variáveis contínuas foram expressas como média e desvio padrão (DP) e analisadas com o teste T-Student; as variáveis categóricas foram expressas em número (n) e porcentagem (%) e analisadas com X² ou teste exato de Fisher, quando apropriado. ATB: antibiótico.

No Brasil, poucos relatos sobre a frequência de colonização nasal por *S. aureus* em profissionais e estudantes da saúde foram relatados. Em estudo realizado com profissionais da saúde do Hospital Universitário do Recife, Pernambuco, Brasil, foi identificada uma frequência de colonização nasal por *S. aureus* de 25,7% (52/202), sendo 5,8% (3/52) de MRSA (SILVA et al., 2008). Além disso, Carvalho et al. (2016) observaram uma frequência de 21,7% (30/138) entre estudantes de enfermagem da Universidade Federal do Piauí, Piauí, e entre os portadores, 23,3% (7/30) estavam colonizados por MRSA. Semelhante aos nossos resultados, encontrou-se alta frequência (102/250, 40,8%) de colonização nasal por *S. aureus* entre estudantes de graduação em biomedicina da Universidade Estadual de Maringá, no noroeste do Paraná, Brasil. A taxa de MRSA foi de 5,9% (6/102) entre os estudantes colonizados (PRATES et al., 2010).

Tabela 3 – Resultados de três modelos estatísticos realizados por regressão logística binária com colonização nasal por 139 *Staphylococcus aureus* como variável dependente e características demográficas como variáveis descritivas

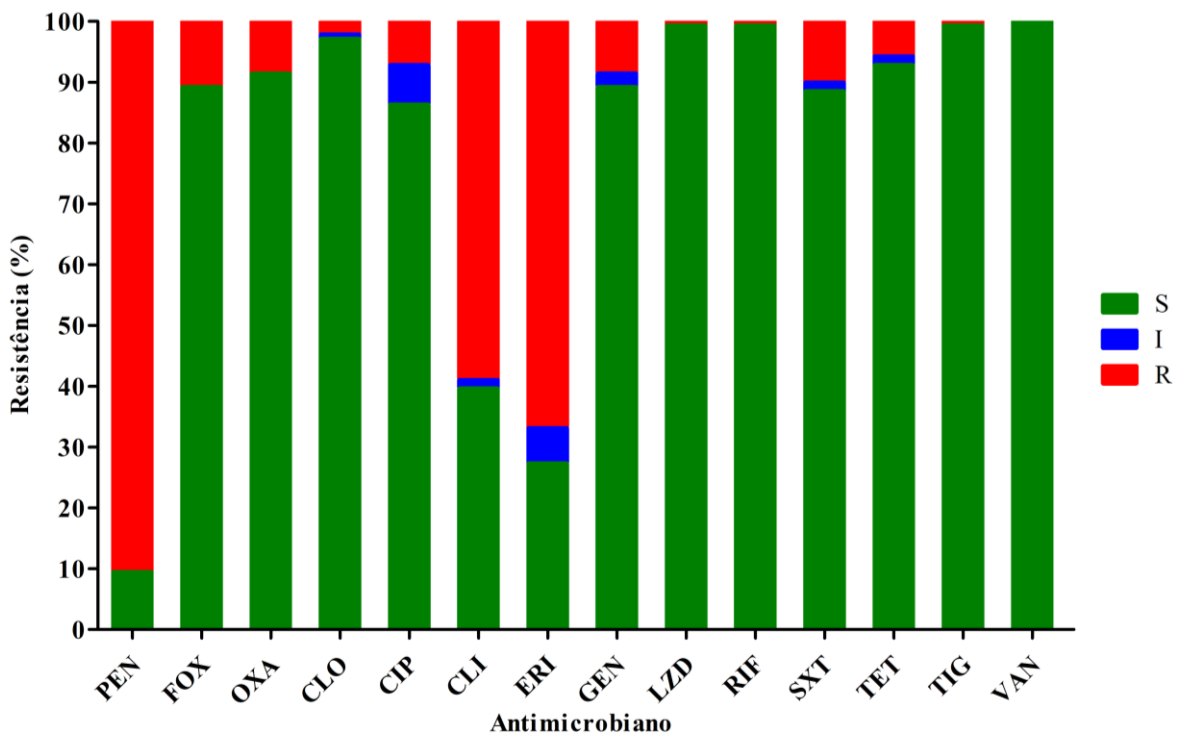
Modelo	Variável descritiva	<i>Staphylococcus aureus</i>	
		p-valor	OR (IC 95%)
#1	Sexo (masculino)	0.004	2.107 (1.268 – 3.502)
	Ocupação (estudante)	0.019	1.819 (1.105 – 2.996)
#2	Sexo (masculino)	0.003	2.182 (1.309 – 3.665)
	Idade	0.021	0.975 (0.955 – 0.996)
	Ocupação (estudante)	0.537	-
	Uso de antibiótico	0.850	-
	Hospitalização	0.251	-
	Contato com paciente	0.147	-
#3	Sexo (masculino) * Ocupação (estudante)	0.001	2.898 (1.553 – 5.410)
	Idade	0.218	-
	Uso de antibiótico	0.961	-
	Hospitalização	0.215	-
	Contato com paciente	0.145	-

Análise de regressão logística binária automática passo a passo. OR: *odds ratio*. IC: intervalo de confiança. *: interação.

***S. aureus* e MRSA isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde apresentam diferentes padrões de sensibilidade antimicrobiana**

Em nosso hospital, a vancomicina e a linezolida são os antimicrobianos mais utilizados no tratamento de infecções por MRSA, enquanto os outros analisados neste estudo são utilizados em infecções por MSSA. A maioria dos *S. aureus* isolados da mucosa nasal da população estudada apresentou sensibilidade à maioria dos antimicrobianos, e esse resultado é consistente com estudos relatados anteriormente (HOGAN et al., 2016), inclusive no Brasil (CARVALHO et al., 2016; PRATES et al., 2010; SILVA et al., 2008). De acordo com os resultados de sensibilidade fenotípica, seis (4,3%) dos 139 *S. aureus* isolados foram sensíveis a todos os agentes antimicrobianos testados neste estudo, e todos os isolados foram sensíveis a vancomicina. A maioria dos isolados também era sensível a cloranfenicol (135/139, 97,1%), ciprofloxacino (120/139, 86,3%), gentamicina (124/139, 89,2%), linezolida (138/139, 99,3%), rifampicina (138/139, 99,3%), sulfametoxazol/trimetoprima (123/139, 88,5%), tetraciclina (129/139, 92,8%) e tigeciclina (138/139, 99,3%). Por outro lado, uma alta taxa de resistência foi observada para a penicilina (126/139, 90,6%), eritromicina (93/139, 66,9%) e clindamicina (82/139, 59,0%) (Figura 3). Entre os isolados resistentes a eritromicina, 82,8% (77/93), 3,2% (3/93) e 14,0% (13/93) exibiram os fenótipos iMLS_B, cMLS_B e fenótipo M, respectivamente.

Figura 3 – Sensibilidade antimicrobiana de 139 *Staphylococcus aureus* isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil



A sensibilidade antimicrobiana foi determinada por disco-difusão, exceto oxacilina e vancomicina, que foram determinadas pelo ensaio de microdiluição em caldo (CLSI, 2018) e pelo teste de triagem em ágar (KHATIB et al., 2015), respectivamente. Os resultados de disco-difusão e microdiluição foram interpretados como recomendado pelo CLSI (2018), exceto a tigeciclina, que foi interpretada de acordo com o EUCAST (2019). S: sensível. I: intermediária. R: resistente. PEN: penicilina. FOX: cefoxitina. OXA: oxacilina. CLO: cloranfenicol. CIP: ciprofloxacino. CLI: clindamicina. ERI: eritromicina. GEN: gentamicina. LZD: linezolida. RIF: rifampicina. SXT: sulfametoxazol/trimetoprima. TET: tetraciclina. TIG: tigeciclina. VAN: vancomicina.

Como ocorreu em nosso estudo, altas taxas de resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos, como a ampicilina e a penicilina, foram relatadas para *S. aureus* isolados de colonização nasal tanto em profissionais da saúde como em estudantes (CARVALHO et al., 2016; EL-MAHDY et al., 2018; JANNATI et al., 2013; PRATES et al., 2010). No entanto, as taxas de resistência à clindamicina/eritromicina podem variar de acordo com a região geográfica. Baixas taxas de resistência foram observadas em estudos da Colômbia (BETTIN; CAUSIL; REYES, 2012), Itália (DE GIUSTI et al., 2013), Iran (JANNATI et al., 2013) e Arábia Saudita (EL-MAHDY et al., 2018). Em contraste e consistente com nossos achados, outros estudos relataram altas taxas de resistência a ambos os antimicrobianos (POURRAMEZAN; OHADIAN MOGHADAM; POURMAND, 2019) inclusive no Brasil (CARVALHO et al., 2016; PRATES et al., 2010).

Tabela 4 – Distribuição dos perfis de resistência antimicrobiana fenotípica de 139 *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina e resistente a meticilina, isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil

Grupo	Perfil de resistência antimicrobiana fenotípica	Número de isolados		
		MSSA n = 93	MRSA n = 40	Total n = 139(%)
1	SXT	1	-	1 (0.7)
2	TET	1	-	1(0.7)
3	PEN	27	3	30(21.6)
4	PEN, CLO	1	-	1(0.7)
5	PEN, GEN	1	-	1(0.7)
6	PEN, SXT	2	-	2(1.4)
7	PEN, ERI	5	1	6(4.3)
8	PEN, CLI	1	-	1(0.7)
9	ERI, CLI	5	-	5(3.6)
10	PEN, ERI, FOX	-	1	1(0.7)
11	PEN, FOX, OXA	-	1	1(0.7)
12	PEN, ERI, SXT	1	1	2(1.4)
13	PEN, ERI, CIP	1	-	1(0.7)
14	PEN, ERI, CLI	32	11	43(30.9)
15	PEN, ERI, GEN	1	-	1(0.7)
16	PEN, CLI, FOX	-	1	1(0.7)
17	PEN, CIP, RIF	1	-	1(0.7)
18	PEN, ERI, CLI, FOX	-	3	3(2.2)
19	PEN, ERI, CLI, OXA	-	7	7(5.0)
20	PEN, ERI, CLI, SXT	3	1	4(2.9)
21	PEN, ERI, CLI, CIP	2	-	2(1.4)
22	PEN, ERI, CLI, GEN	2	-	2(1.4)
23	PEN, ERI, CLI, TET	1	-	1(0.7)
24	PEN, ERI, SXT, TET	-	1	1(0.7)
25	PEN, ERI, CLI, FOX, OXA	-	1	1(0.7)
26	PEN, ERI, CLI, SXT, TIG	1	-	1(0.7)
27	PEN, ERI, CLI, GEN, TET	1	-	1(0.7)
28	PEN, ERI, CLI, FOX, CIP	-	1	1(0.7)
29	PEN, ERI, CLI, FOX, GEN	-	1	1(0.7)
30	PEN, ERI, SXT, CIP, TET	1	-	1(0.7)
31	PEN, ERI, CLI, SXT, GEN	1	-	1(0.7)
32	PEN, ERI, CLI, FOX, OXA, GEN	-	1	1(0.7)
33	PEN, ERI, CLI, FOX, OXA, LZD	-	1	1(0.7)
34	PEN, ERI, CLI, FOX, CIP, GEN	-	1	1(0.7)
35	PEN, ERI, CLI, FOX, GEN, TET	-	1	1(0.7)
36	PEN, ERI, CLI, FOX, CIP, GEN, TET	-	1	1(0.7)
37	PEN, ERI, CLI, FOX, OXA, CIP, CLO	-	1	1(0.7)
38	PEN, ERI, CLI, SXT, GEN, CIP, CLO, TET	1	-	1(0.7)

PEN: penicILINA (10 U). FOX: cefoxitina (30 µg). CLO: cloranfenicol (30 µg). CIP: ciprofloxacino (5 µg). CLI: clindamicina (2 µg). ERI: eritromicina (15 µg). GEN: gentamicina (10 µg). LZD: linezolida (30 µg). RIF: rifampicina (5 µg). SXT: sulfametoxazol/trimetoprima (23.75/1.25 µg). TET: tetraciclina (30 µg). TIG: tigeciclina (15 µg). -: não detectado.

No geral, os isolados de *S. aureus* foram classificados em 38 grupos de acordo com o perfil de resistência antimicrobiana (antibiotipo) (Tabela 4). Embora um número elevado de antibiogramas tenha sido detectado, a maioria consistiu em um único isolado; e o perfil mais frequente foi a co-resistência a penicilina, eritromicina e clindamicina (43/139, 30.9%), seguido da resistência a penicilina (30/139, 21.6%). É importante ressaltar que 24,5%

(34/139) desses isolados foram considerados multirresistentes, segundo Magiorakos et al. (2012), ou seja, eram resistentes a três ou mais classes antimicrobianas. Uma descoberta importante do nosso estudo é que uma alta proporção de isolados de MRSA (18/40, 45,0%) não foi detectada pelos métodos fenotípicos usados para identificar resistência à meticilina. De fato, os isolados de MRSA (n=40) exibiram diferentes padrões de sensibilidade a cefoxitina/oxacilina: a) 22 isolados (55,0%) exibiram fenótipo de resistência a meticilina em pelo menos um teste de sensibilidade; b) 10 (25,0%) foram classificados como resistentes somente pelo teste de disco-difusão com cefoxitina 30 µg; c) 7 (17,5%) apresentaram valores de CIM ≥ 4 µg/mL e foram classificados como resistentes; d) apenas 5 isolados exibiram resultados concordantes em ambos os métodos fenotípicos; e) 18 (45,0%) eram sensíveis a meticilina por ambos os métodos fenotípicos e podem ser classificados como *S. aureus* oxacilina-sensível *mecA*-positivo (OS-MRSA) (Figura 2 e Figura 4).

Atualmente, OS-MRSA isolados tanto de infecções (ANDRADE-FIGUEIREDO; LEAL-BALBINO, 2016; DUARTE et al., 2019; PROULX et al., 2016) como de colonizações (EL-MAHDY et al., 2018; JANNATI et al., 2013) tem sido cada vez mais relatado em todo o mundo. A presença de indivíduos colonizados por OS-MRSA e o risco potencial de sua transmissão dentro do hospital e da comunidade são motivo de preocupação. Esta bactéria pode ser erroneamente identificada como MSSA por métodos fenotípicos rotineiramente usados na maioria dos laboratórios clínicos, representando uma ameaça ao tratamento de infecções por *Staphylococcus* spp. De fato, relatamos o primeiro caso de sepse fatal causada por um OS-MRSA com SCC*mec* tipo IV que foi identificado como sensível a oxacilina tanto pelo método fenotípico automatizado quanto pelo Etest® (CIM=0,75 µg/mL) em nosso hospital. (DUARTE et al., 2019). Em conjunto, estes resultados corroboram a necessidade de testes adicionais para distinguir com precisão os vários fenótipos de sensibilidade antimicrobiana de *S. aureus*.

Isolados MSSA exibem maior potencial de virulência do que isolados MRSA

Nós investigamos a presença de genes codificados por fatores de virulência em todos os isolados de *S. aureus*. A frequência geral dos genes que codificam fatores de virulência foi a seguinte: *coa*, 100% (139/139); *icaA*, 97.8% (136/139); *tst*, 15.8% (22/139); e *lukS-PV* e *lukF-PV*, 6.5% (9/139). A maioria dos isolados (109/139, 78.4%) abrigou os genes *coa* e *icaA*; os outros isolados abrigavam a seguinte combinação: genes *coa*, *icaA* e *tst*, 18 (12.9%)

isolados; *coa*, *icaA* e *lukS-PV* e *lukF-PV*, 8 (5.8%) isolados; *coa* e *tst*, 2 (1.4%) isolados; *coa*, *icaA*, *tst* e *lukS-PV* e *lukF-PV*, 1 (0.7%) isolado (Tabela 5).

Tabela 5 – Distribuição de genes codificadores de fatores de virulência em 139 *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina e resistente à meticilina, isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil

Genes	Número de isolados		
	MSSA <i>n</i> = 99	MRSA <i>n</i> = 40	Total <i>N</i> = 139 (%)
<i>coa, icaA</i>	71	38	109 (78.4)
<i>coa, tst</i>	3	-	3 (2.2)
<i>coa, icaA, tst</i>	16	2	18 (12.9)
<i>coa, icaA, lukS-PV/lukF-PV</i>	8	-	8 (5.8)
<i>coa, icaA, tst, lukS-PV/lukF-PV</i>	1	-	1 (0.7)

coa: coagulase. *icaA*: biofilme. *tst*: toxina da síndrome do choque tóxico – 1. *lukS-PV* e *lukF-PV*: leucocidina de Panton-Valentine. -: não detectado.

O uso de prévio de antibiótico foi positivamente associado com a presença dos genes da PVL (44.4% positivo vs 15.4% negativo) (OR: 4.400, IC 95%: 1.087-17.815, p cruce=0,038) e este resultado permaneceu associado após correção pelas demais variáveis (OR: 4.360, CI 95%: 1.077-17.655, p =0,039). As demais variáveis avaliadas neste estudo não foram associadas com a presença dos genes da PVL e nenhuma variável foi associada com o gene da TSST-1 (dados não mostrados).

Não surpreendentemente, todos os *S. aureus* abrigaram o gene *coa* que codifica a coagulase, um fator secretado que induz a coagulação intravascular, permitindo a proliferação bacteriana no sistema sanguíneo e, portanto, promove sua sobrevivência e disseminação. (TAM; TORRES, 2019). Além disso, a atividade da coagulase tem sido usada para diferenciar entre *S. aureus* (positivo para coagulase) e aqueles outros *Staphylococcus* spp. (negativos para coagulase) (FAIRBROTHER, 1940). O gene *icaA* é um componente do operon *icaABDC* que codifica as enzimas envolvidas na biossíntese da adesina intercelular polissacarídica (PIA). Esta adesina promove a agregação intercelular durante o estágio de maturação da formação de biofilme dependente de PIA por *S. aureus* (CRAMTON et al., 1999) e é essencial para a virulência bacteriana na infecção sistêmica (KROPEC et al., 2005).

Notavelmente, os genes *lukS-PV* e *lukF-PV* e *tst* foram, respectivamente, detectados exclusiva e predominantemente em isolados de MSSA neste estudo, em geral, esses isolados exibiram resistência a um número menor de antimicrobianos (Tabela 5 e Figura 4). Da mesma forma, Hogan et al. (2016) detectaram ambos os genes em isolados de *S. aureus* de profissionais e estudantes da saúde analisados em seu estudo, mas também não detectaram os genes codificadores de PVL em MRSA. Por outro lado, no estudo de Bettin; Causil; Reyes (2012), tanto MSSA quanto MRSA abrigavam genes da PVL. A presença de genes codificadores da PLV têm sido principalmente associados a *S. aureus* resistente a meticilina

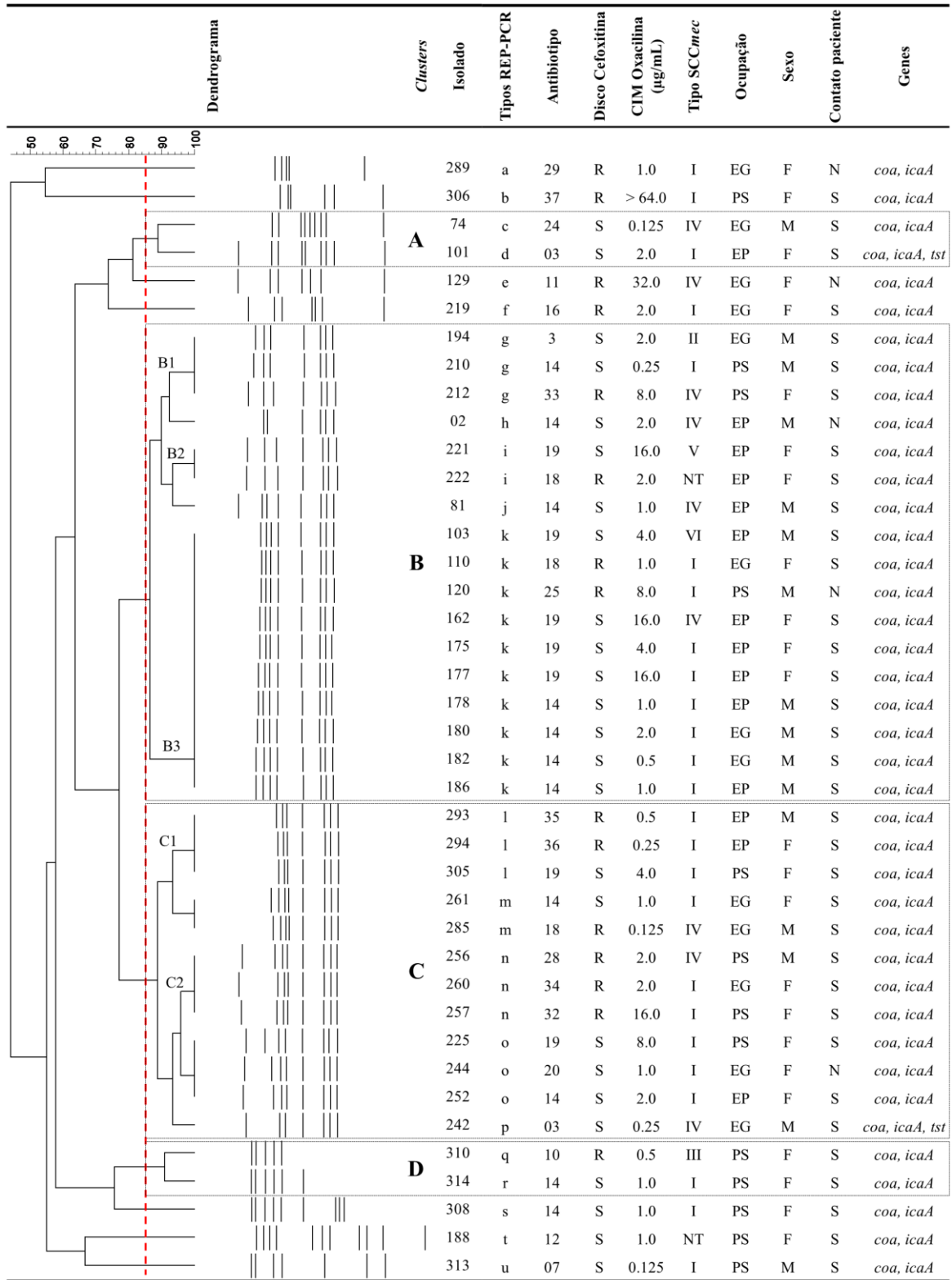
adquirida na comunidade (CA-MRSA) (SAEED et al., 2018; SAMUEL et al., 2013). Por outro lado, o gene codificador de TSST-1 tem sido frequentemente associado a isolados MSSA (DEVRIES et al., 2011). No entanto, esses genes também foram detectados em MRSA exibindo características diferentes das de isolados CA-MRSA (DUARTE et al., 2018b; OLIVEIRA et al., 2015) e de isolados MSSA (BETTIN; CAUSIL; REYES, 2012; HOGAN et al., 2016; SAEED et al., 2018).

A PVL, uma toxina formadora de poros, tem como alvo as membranas celulares de leucócitos polimorfonucleares, monócitos e macrófagos, e causa necrose tecidual (KANEKO; KAMIO, 2004). Infecções causadas por *S. aureus* positivos para PVL têm sido associadas a desfechos desfavoráveis e altas taxas de mortalidade, independentemente da resistência à meticilina (GILLET; HENRY; VANDENESCH, 2018; SICOT et al., 2013). É importante ressaltar que os genes codificados por PVL são transportados por bacteriófagos lisogênicos, portanto, podem ser transmitidos horizontalmente entre diferentes isolados (KANEKO; KAMIO, 2004), e que, profissionais da saúde colonizados podem ser uma fonte potencial de transmissão de *S. aureus* positivos para PVL aos pacientes. (PAPASTERGIOU; TSIOLLI, 2018).

A TSST-1 é uma potente exotoxina da família dos SAgS que ativa os linfócitos T, resultando em inflamação sistêmica e choque devido à superprodução de citocinas (XU; MCCORMICK, 2012). As infecções causadas por *S. aureus* positivos para *tst* também são potencialmente fatais (GILLET; HENRY; VANDENESCH, 2018), e continuam sendo uma importante causa de morbidade entre os jovens, especialmente em mulheres jovens (DEVRIES et al., 2011). Embora o gene *tst* esteja localizado em uma ilha de patogenicidade, ele também pode ser transferido entre diferentes isolados por bacteriófagos (NOVICK; RAM, 2017).

A limitação desta análise é que a presença de genes codificadores de virulência foi avaliada apenas por PCR, o que não reflete a expressão do fenótipo. No entanto, a colonização nasal por *S. aureus*, contendo genes codificantes de PVL e TSST-1, em profissionais da saúde e estudantes que frequentam hospitais pode representar uma fonte potencial para o surgimento de *S. aureus* altamente adaptado ao ambiente hospitalar, devido à disseminação silenciosa destes marcadores de virulência a estirpes resistentes a múltiplos fármacos, causando graves infecções em pacientes hospitalizados. Além disso, ambas as populações podem servir como agentes de transmissão cruzada destes microrganismos entre os ambientes hospitalar e comunitário.

Figura 4 – Perfil de similaridade genética entre 40 *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, isolados da mucosa nasal de profissionais e estudantes da saúde de um hospital universitário no sul do Brasil



A relação genética de todos os MRSA foi analisada por PCR baseada em sequência de elementos repetitivos (REP-PCR) usando o primer RW3A como descrito por Del Vecchio et al. (1995). Os padrões de bandas que tinham mais de uma banda diferindo em tamanho foram considerados tipos diferentes de REP-PCR (VAN DER ZEE et al., 1999). Padrões de bandas foram categorizados usando o algoritmo UPGMA e o coeficiente de Jaccard (SNEATH; SOKAL, 1973) do *software* Bionumerics v.6.5 (Applied Mathematics, Kortrijk, Belgium), com a tolerância de banda definida em 3% e o valor limite de corte definido em 85% (OLIVEIRA et al., 2015). S: sensível. R: resistente. NT: não tipável. EG: estudante de graduação. EP: estudante de pós-graduação. PS: profissional da saúde. M: masculino. F: feminino. N: não. S: sim.

A maioria dos isolados MRSA apresentam diferentes tipos de SCCmec e REP-PCR sendo agrupados em quatro clusters

De acordo com a tipagem de SCCmec, os isolados MRSA foram distribuídos em seis tipos e o tipo I (25/40, 62,5%) foi o mais frequente, seguido do tipo IV (9/40, 22,5%). Um isolado cada (1/40, 2,5%) abrigava os tipos SCCmec II, III, V e VI; dois isolados (2/40, 5,0%) foram classificados como não tipáveis (NT) (Figura 4). Os tipos de SCCmec aqui identificados também foram detectados em MRSA isolados de diferentes infecções por *S. aureus* no hospital estudado, sendo o SCCmec tipo II o mais prevalente (DUARTE et al., 2018b, 2019; OLIVEIRA et al., 2015).

A relação genética entre os isolados MRSA foi analisada por PCR visando as sequências repetitivas no genoma bacteriano. A observação visual das bandas geradas pela tipagem REP-PCR mostrou um total de 21 padrões de bandas (denominados a até u), indicando uma diversidade genética relativamente alta entre os isolados MRSA. Os padrões de bandas de REP-PCR foram automaticamente alinhados e todos os isolados com o mesmo tipo foram reconhecidos como idênticos. O nível de similaridade entre os perfis de bandas de REP-PCR dos isolados MRSA variou de 44,1 a 100%. A análise de clusters, usando um valor de corte de 85%, revelou que a maioria dos isolados MRSA foram distribuídos em 4 grupos (denominados clusters A até D). Sete isolados MRSA exibiram padrões de bandas únicos. Os clusters A e D agruparam dois isolados em cada um, com diferentes tipos de REP-PCR e SCCmec. O cluster B agrupou 17 isolados, compreendendo cinco diferentes tipos de REP-PCR (g, h, i, j, k) e seis SCCmec (I, II, IV, V, VI, NT), agrupados em três subclusters (B1, B2 e B3). Finalmente, o cluster C agrupou 12 isolados, compreendendo cinco tipos diferentes de REP-PCR (l, m, n, o, p) e dois tipos de SCCmec (I, IV), que foram agrupados em dois subclusters (C1 e C2) (Figura 4).

Os isolados OS-MRSA abrigavam o SCCmec tipo I (12/18, 66,7%), tipo IV (4/18, 22,2%), tipo II (1/18, 5,6%) e um era NT (1/18, 5,6%). Além disso, a maioria dos isolados OS-MRSA pertencia ao cluster B (8/18, 44,4%) e ao cluster C (4/18, 22,2%). Esses resultados podem explicar a alta frequência de colonização nasal por OS-MRSA neste estudo.

Em conclusão, este estudo forneceu, pela primeira vez, uma visão geral da colonização nasal por *S. aureus* entre profissionais e estudantes da saúde que frequentam nosso hospital. Observamos uma alta frequência de *S. aureus* exibindo diferentes perfis de resistência aos antimicrobianos, incluindo MSSA multirresistentes, isolados MRSA e, o que consideramos um importante dado, uma alta frequência de OS-MRSA. Entre MRSA o SCCmec tipo I e IV

foram os mais frequentes, o que contrasta com estudos prévios realizados com amostras clínicas deste hospital. Também verificamos a presença de genes codificadores de PVL e TSST-1 entre as populações analisadas. Esses dados nos alertam para: a) vigilância contínua de potenciais reservatórios de *S. aureus*; b) melhoria nas medidas de controle de infecções para detecção dos diversos fenótipos de sensibilidade a meticilina e potencial de virulência de *S. aureus*.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE-FIGUEIREDO, M.; LEAL-BALBINO, T. C. Clonal diversity and epidemiological characteristics of *Staphylococcus aureus*: high prevalence of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with clinical isolates in Brazil. **BMC Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 115, 21 Dec. 2016.
- ANSARI, S. et al. Risk factors assessment for nasal colonization of *Staphylococcus aureus* and its methicillin resistant strains among pre-clinical medical students of Nepal. **BMC Research Notes**, v. 9, n. 1, p. 214, 12 Dec. 2016.
- AUSUBEL, F. M. et al. **Short Protocols in Molecular Biology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1999.
- BETTIN, A.; CAUSIL, C.; REYES, N. Molecular identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* nasal isolates from medical students in Cartagena, Colombia. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p. 329–334, Jul. 2012.
- BUDRI, P. E. et al. Observational cross-sectional study of nasal staphylococcal species of medical students of diverse geographical origin, prior to healthcare exposure: prevalence of SCC*mec*, *fusC*, *fusB* and the arginine catabolite mobile element (ACME). **BMJ Open**, v. 8, n. 4, p. e020391, 20 Apr. 2018.
- CAMPBELL, S. J. et al. Genotypic Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolates from a Multinational Trial of Complicated Skin and Skin Structure Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 678–684, 1 Feb. 2008.
- CARVALHO, M. S. M. et al. Colonização nasal por *Staphylococcus aureus* entre estudantes de Enfermagem: subsídios para monitorização. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 69, n. 6, p. 1046–1051, Dec. 2016.
- CHEN, B. J. et al. Factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage and molecular characteristics among the general population at a Medical College Campus in Guangzhou, South China. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 16, n. 1, p. 28, 11 Dec. 2017.
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100**. 28. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

- CONCEIÇÃO, T.; DE LENCASTRE, H.; AIRES-DE-SOUSA, M. Carriage of *Staphylococcus aureus* among Portuguese nursing students: A longitudinal cohort study over four years of education. **PLOS ONE**, v. 12, n. 11, p. e0188855, 30 Nov. 2017.
- CRAMTON, S. E. et al. The Intercellular Adhesion (*ica*) Locus Is Present in. **Infection and Immunity**, v. 67, n. 10, p. 5427–5433, 1999.
- DE GIUSTI, M. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* colonization and antibiotic susceptibility: A survey among biomedical students. **Public Health**, v. 127, n. 4, p. 392–394, Apr. 2013.
- DEL VECCHIO, V. G. et al. Molecular genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* via fluorophore-enhanced repetitive-sequence PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 8, p. 2141–2144, 1995.
- DEVRIES, A. S. et al. Staphylococcal Toxic Shock Syndrome 2000–2006: Epidemiology, Clinical Features, and Molecular Characteristics. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, p. e22997, 10 Aug. 2011.
- DUARTE, F. C. et al. Bacteremia causada por *Staphylococcus aureus*: Uma análise de quinze anos da sensibilidade a antimicrobianos em um hospital terciário do Brasil. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 3, p. 232–238, 1 Jul. 2018a.
- DUARTE, F. C. et al. Disseminated Clonal Complex 5 (CC5) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec type II in a tertiary hospital of Southern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, n. 6, p. e32, 19 Jul. 2018b.
- DUARTE, F. C. et al. Fatal sepsis caused by *mecA*-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: First report in a tertiary hospital of southern Brazil. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 25, n. 4, p. 293–297, Apr. 2019.
- DULON, M. et al. MRSA carriage among healthcare workers in non-outbreak settings in Europe and the United States: a systematic review. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 363, 3 Dec. 2014.
- EL-MAHDY, T. S. et al. Complex Clonal Diversity of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization among Community Personnel, Healthcare Workers, and Clinical Students in the Eastern Province, Saudi Arabia. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1–9, 18 Dec. 2018.
- EMANEINI, M. et al. Nasal carriage rate of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among Iranian healthcare workers: a systematic review and meta-analysis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 5, p. 590–597, Sep. 2017.
- EUCAST. **Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters**. 9.0 ed. [s.l.] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2019.
- FAIRBROTHER, R. W. Coagulase production as a criterion for the classification of the staphylococci. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 50, n. 1, p. 83–88, Jan. 1940.
- GILLET, Y.; HENRY, T.; VANDENESCH, F. Fulminant Staphylococcal Infections. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 5, p. 1–13, 2018.

- HIROTAKI, S. et al. Rapid and Accurate Identification of Human-Associated Staphylococci by Use of Multiplex PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 10, p. 3627–3631, 1 Oct. 2011.
- HOGAN, B. et al. Prevalence of nasal colonisation by methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among healthcare workers and students in Madagascar. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 420, 15 Dec. 2016.
- HUSSEIN, N. R.; ASSAFI, M. S.; IJAZ, T. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonisation amongst healthcare workers in Kurdistan Region, Iraq. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 9, p. 78–81, Jun. 2017.
- JANNATI, E. et al. Nasal colonization of *mecA*-positive, oxacillin-susceptible, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates among nursing staff in an Iranian teaching hospital. **American Journal of Infection Control**, v. 41, n. 11, p. 1122–1124, Nov. 2013.
- JORGENSEN, J. H. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 11. ed. Washington: American Society of Microbiology, 2015.
- KANEKO, J.; KAMIO, Y. Bacterial Two-component and Hetero-heptameric Pore-forming Cytolytic Toxins: Structures, Pore-forming Mechanism, and Organization of the Genes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 68, n. 5, p. 981–1003, 22 Jan. 2004.
- KHATIB, R. et al. Screening for Intermediately Vancomycin-Susceptible and Vancomycin-Heteroresistant *Staphylococcus aureus* by Use of Vancomycin-Supplemented Brain Heart Infusion Agar Biplates: Defining Growth Interpretation Criteria Based on Gold Standard Confirmati. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 11, p. 3543–3546, Nov. 2015.
- KRISMER, B. et al. The commensal lifestyle of *Staphylococcus aureus* and its interactions with the nasal microbiota. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 11, p. 675–687, 12 Oct. 2017.
- KROPEC, A. et al. Poly-N-Acetylglucosamine Production in *Staphylococcus aureus* Is Essential for Virulence in Murine Models of Systemic Infection. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 10, p. 6868–6876, 2005.
- LEE, A. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 18033, p. 18033, 31 May 2018.
- LEGESE, H. et al. Nasal carriage, risk factors and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among healthcare workers in Adigrat and Wukro hospitals, Tigray, Northern Ethiopia. **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 250, 23 Dec. 2018.
- LEGRAND, J. et al. Occupational Determinants of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization Among Healthcare Workers: A Longitudinal Study in a Rehabilitation Center. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 36, n. 7, p. 767–776, 18 Jul. 2015.
- LESHEM, E. et al. Transmission of *Staphylococcus aureus* From Mothers to Newborns. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 31, n. 4, p. 360–363, Apr. 2012.
- LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* Infections. **New England Journal of Medicine**, v. 339, n. 8, p. 520–532, 20 Aug. 1998.

- MAAYAN-METZGER, A. et al. Clinical evaluation of early acquisition of *Staphylococcus aureus* carriage by newborns. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 64, p. 9–14, Nov. 2017.
- MAGIORAKOS, A.-P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268–281, Mar. 2012.
- MILHEIRIÇO, C.; OLIVEIRA, D. C.; DE LENCASTRE, H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of *mec* element types in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 9, p. 3374–3377, 2007.
- MODY, L. et al. Multidrug-resistant Organisms in Hospitals: What Is on Patient Hands and in Their Rooms? **Clinical Infectious Diseases**, n. 1, p. 1–8, 13 Apr. 2019.
- MULCAHY, M. E.; MCLOUGHLIN, R. M. Host–Bacterial Crosstalk Determines *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization. **Trends in Microbiology**, v. 24, n. 11, p. 872–886, Nov. 2016.
- NOVICK, R. P.; RAM, G. Staphylococcal pathogenicity islands — movers and shakers in the genomic firmament. **Current Opinion in Microbiology**, v. 38, p. 197–204, Aug. 2017.
- OLIVEIRA, C. F. DE et al. Molecular and phenotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospitalized patients. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 7, p. 743–751, 30 Jul. 2015.
- PALING, F. P. et al. *Staphylococcus aureus* colonization at ICU admission as a risk factor for developing *S. aureus* ICU pneumonia. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 1, p. 49.e9-49.e14, Jan. 2017.
- PAPASTERGIOU, P.; TSIOLLI, E. Healthcare-associated transmission of Pantone-Valentine leukocidin positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the value of screening asymptomatic healthcare workers. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 484, 27 Dec. 2018.
- POURRAMEZAN, N.; OHADIAN MOGHADAM, S.; POURMAND, M. R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* tracking spread among health-care workers and hospitalized patients in critical wards at a university hospital, Tehran, Iran. **New Microbes and New Infections**, v. 27, n. C, p. 29–35, Jan. 2019.
- PRATES, K. A. et al. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in university students. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 3, p. 316–318, May 2010.
- PROULX, M. K. et al. Reversion From Methicillin Susceptibility to Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* During Treatment of Bacteremia. **Journal of Infectious Diseases**, v. 213, n. 6, p. 1041–1048, 15 Mar. 2016.
- SAEED, K. et al. Pantone–Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus*: a position statement from the International Society of Chemotherapy. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 51, n. 1, p. 16–25, Jan. 2018.

SAMUEL, L. P. et al. Evaluation of a Microarray-Based Assay for Rapid Identification of Gram-Positive Organisms and Resistance Markers in Positive Blood Cultures. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 1188–1192, 1 Apr. 2013.

SICOT, N. et al. Methicillin resistance is not a predictor of severity in community-acquired *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia—results of a prospective observational study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 3, p. E142–E148, Mar. 2013.

SILVA, E. C. B. F. DA et al. Prevalence and risk factors for *Staphylococcus aureus* in health care workers at a University Hospital of Recife-PE. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 6, p. 504–508, Dec. 2008.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**. 1. ed. San Francisco: W.H. Freeman, 1973.

SOLLID, J. U. E. et al. *Staphylococcus aureus*: Determinants of human carriage. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 21, p. 531–541, Jan. 2014.

SUN, Y. et al. Staphylococcal Protein A Contributes to Persistent Colonization of Mice with *Staphylococcus aureus*. **Journal of Bacteriology**, v. 200, n. 9, 12 Feb. 2018.

TAM, K.; TORRES, V. J. *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, 22 Mar. 2019.

THUY, D. B. et al. Hospital-acquired colonization and infections in a Vietnamese intensive care unit. **PLOS ONE**, v. 13, n. 9, p. e0203600, 7 Sep. 2018.

VAN BELKUM, A. et al. Reclassification of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Types. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 199, n. 12, p. 1820–1826, 15 Jun. 2009.

VAN DER ZEE, A. et al. Molecular genotyping of *Staphylococcus aureus* strains: Comparison of repetitive element sequence-based PCR with various typing methods and isolation of a novel epidemicity marker. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 342–349, 1999.

WEIDENMAIER, C.; GOERKE, C.; WOLZ, C. *Staphylococcus aureus* determinants for nasal colonization. **Trends in Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 243–250, May 2012.

WERTHEIM, H. F. et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 12, p. 751–762, Dec. 2005.

WERTHEIM, H. F. L. et al. Nose Picking and Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 27, n. 08, p. 863–867, 21 Aug. 2006.

WILLIAMS, R. E. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. **Bacteriological reviews**, v. 27, p. 56–71, 1963.

XIE, X. et al. Molecular epidemiology and virulence characteristics of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in medical laboratory staff: comparison between microbiological and non-microbiological laboratories. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 122, 12 Dec. 2018.

XU, S. X.; MCCORMICK, J. K. Staphylococcal superantigens in colonization and disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 2, n. April, p. 1–11, 2012.

YOUNG, B. C. et al. Severe infections emerge from commensal bacteria by adaptive evolution. **eLife**, v. 6, p. 1–25, 19 Dec. 2017.

6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a frequência de *S. aureus* entre profissionais e estudantes da área da saúde foi superior à de outros estudos, tanto no Brasil quanto em outras partes do mundo e que estudantes do sexo masculino apresentam um risco maior de serem colonizados. Quase metade dos *S. aureus* genotipicamente classificados como MRSA, não foram detectados por métodos fenotípicos. A maioria dos isolados apresentou resistência a penicilina, eritromicina e clindamicina nos testes fenotípicos, tanto entre MSSA quanto entre MRSA.

Quanto ao SCCmec, o tipo I foi o mais comumente identificado em MRSA de todas as categorias, seguido pelo tipo IV. SCCmec tipos II, III, V e VI foram detectados em apenas um isolado cada. Entre os genes de virulência investigados os mais frequentes foram os da coagulase (*coa*) e biofilme (*ica*). A maioria dos MRSA pertenciam a quatro *clusters* principais, sendo que nos dois *clusters* com maior número de amostras estavam agrupados mais da metade dos OS-MRSA. Isso pode justificar a alta frequência de OS-MRSA neste estudo.

Tendo em vista a frequência de *S. aureus* observada, e a possibilidade de disseminação deste microrganismo, este estudo fornece dados importantes em relação ao controle de infecções relacionadas à assistência em saúde. Técnicas adequadas devem ser empregadas para a identificação laboratorial de resistência a meticilina em *S. aureus*, uma vez que há a possibilidade de falhas de detecção por algumas metodologias.

Perante estes dados, fica evidente que os cuidados devem ser intensificados em relação à colonização nasal por *S. aureus*. Somente desta maneira, pode ser evitada a disseminação de bactérias virulentas, resistentes aos antimicrobianos e com potencial de levar a falhas terapêuticas.

REFERÊNCIAS

- ABIMANA, J. B.; KATO, C. D.; BAZIRA, J. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization among Healthcare Workers at Kampala International University Teaching Hospital, Southwestern Uganda. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 2019, p. 1–7, mar. 2019.
- ABROO, S.; HOSSEINI JAZANI, N.; SHARIFI, Y. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage between healthy students of medical and nonmedical universities. **American Journal of Infection Control**, v. 45, n. 7, p. 709–712, jul. 2017.
- ALZOUBI, H. M. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage among primary school-aged children from Jordan. **Journal of the Egyptian Public Health Association**, v. 89, n. 3, p. 114–118, dez. 2014.
- ANDRADE-FIGUEIREDO, M.; LEAL-BALBINO, T. C. Clonal diversity and epidemiological characteristics of *Staphylococcus aureus*: high prevalence of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with clinical isolates in Brazil. **BMC Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 115, dez. 2016.
- ANSARI, S. et al. Risk factors assessment for nasal colonization of *Staphylococcus aureus* and its methicillin resistant strains among pre-clinical medical students of Nepal. **BMC Research Notes**, v. 9, n. 1, p. 214, dez. 2016.
- AUSUBEL, F. M. et al. **Short Protocols in Molecular Biology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1999.
- AYKAC, K.; OZSUREKCI, Y.; TANIR BASARANOGU, S. Future Directions and Molecular Basis of Ventilator Associated Pneumonia. **Canadian Respiratory Journal**, v. 2017, n. i, p. 1–8, out. 2017.
- BAIG, S. et al. Novel SCC*mec* type XIII (9A) identified in an ST152 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 61, p. 74–76, jul. 2018.
- BECKER, K. et al. Plasmid-Encoded Transferable *mecB*-Mediated Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 2, p. 242–248, fev. 2018.
- BESSESEN, M. T. et al. MRSA colonization and the nasal microbiome in adults at high risk of colonization and infection. **Journal of Infection**, v. 71, n. 6, p. 649–657, dez. 2015.
- BETTIN, A.; CAUSIL, C.; REYES, N. Molecular identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* nasal isolates from medical students in Cartagena, Colombia. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p. 329–334, jul. 2012.
- BOYLE-VAVRA, S. et al. Successful Multiresistant Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Lineage from Taipei, Taiwan, That Carries Either the Novel Staphylococcal Chromosome Cassette *mec* (SCC*mec*) Type VT or SCC*mec* Type IV. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 9, p. 4719–4730, set. 2005.

- BRAMBILLA, L. Z. S. et al. Anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus* MRSA and MSSA of neolignans and extract of *Piper regnellii*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 1, p. 112–117, jan. 2017.
- BUCHAN, K. D.; FOSTER, S. J.; RENSHAW, S. A. *Staphylococcus aureus*: setting its sights on the human innate immune system. **Microbiology**, p. 1–19, jan. 2019.
- BUCK, J. M. et al. Community-associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Minnesota, 2000–2003. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 10, p. 1532–1538, out. 2005.
- BURIAN, M. et al. Temporal Expression of Adhesion Factors and Activity of Global Regulators during Establishment of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 201, n. 9, p. 1414–1421, maio 2010.
- CALFEE, D. P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci, and other Gram-positives in healthcare. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 25, n. 4, p. 385–394, ago. 2012.
- CAMPBELL, S. J. et al. Genotypic Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolates from a Multinational Trial of Complicated Skin and Skin Structure Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 678–684, fev. 2008.
- CDC. Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation/index.html>>. Acesso em: 19 jun. 2019.
- CDC. Antibiotic Resistance Threats in United States, 2013.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>>. Acesso em: 7 nov. 2018.
- CHANG, S. et al. Infection with Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Containing the *vanA* Resistance Gene. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 14, p. 1342–1347, abr. 2003.
- CHEN, B. et al. Differences in *Staphylococcus aureus* nasal carriage and molecular characteristics among community residents and healthcare workers at Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Southern China. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 303, dez. 2015.
- CHEN, B. J. et al. Factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage and molecular characteristics among the general population at a Medical College Campus in Guangzhou, South China. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 16, n. 1, p. 28, dez. 2017.
- CHEN, F. et al. *mecA*-Positive *Staphylococcus aureus* with Low-Level Oxacillin MIC in Taiwan. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 5, p. 1679–1683, fev. 2012.
- CHENG, A. G. et al. A play in four acts: *Staphylococcus aureus* abscess formation. **Trends in Microbiology**, v. 19, n. 5, p. 225–232, maio 2011.
- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100.** 27. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100**. 28. ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

CONCEIÇÃO, T. et al. Frequent occurrence of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) strains in two African countries. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 12, p. 3200–3204, ago. 2015.

CORRENTE, M. et al. Comparison of methods for the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from food products. **Letters in Applied Microbiology**, v. 45, n. 5, p. 535–539, jun. 2007.

D'AGATA, E. M. C. et al. Modeling the Invasion of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* into Hospitals. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, n. 3, p. 274–284, fev. 2009.

DA SILVEIRA, M. et al. Nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among elderly living in nursing homes in Brazil: risk factors and molecular epidemiology. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 17, n. 1, p. 18, dez. 2018.

DAVID, M. Z. et al. What Is Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*? **The Journal of Infectious Diseases**, v. 197, n. 9, p. 1235–1243, maio 2008.

DAVID, M. Z.; DAUM, R. S. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 3, p. 616–687, jul. 2010.

DEL VECCHIO, V. G. et al. Molecular genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* via fluorophore-enhanced repetitive-sequence PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 8, p. 2141–2144, ago. 1995.

DUARTE, F. C. et al. Fatal sepsis caused by *mecA*-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: First report in a tertiary hospital of southern Brazil. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 25, n. 4, p. 293–297, abr. 2019.

DUMONT, A. L. et al. Identification of a Crucial Residue Required for *Staphylococcus aureus* LukAB Cytotoxicity and Receptor Recognition. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 3, p. 1268–1276, mar. 2014.

DURAND, G. et al. Detection of New Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones Containing the Toxic Shock Syndrome Toxin 1 Gene Responsible for Hospital- and Community-Acquired Infections in France. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 847–853, mar. 2006.

EL-MAHDY, T. S. et al. Complex Clonal Diversity of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization among Community Personnel, Healthcare Workers, and Clinical Students in the Eastern Province, Saudi Arabia. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1–9, dez. 2018.

ELISABETH, P. et al. Success stories about severe pneumonia caused by Pantón–Valentine leucocidin-producing *Staphylococcus aureus*. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 341–345, maio 2014.

EMANEINI, M. et al. Nasal carriage rate of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among Iranian healthcare workers: a systematic review and meta-analysis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 5, p. 590–597, set. 2017.

EUCAST. **Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters**. 9.0 ed. [s.l.] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2019.

FARIA, N. A. et al. Nasal Carriage of Methicillin Resistant Staphylococci. **Microbial Drug Resistance**, v. 20, n. 2, p. 108–117, abr. 2014.

FOSTER, T. J. et al. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 49–62, jan. 2014.

FRANCOIS, P. et al. Evaluation of three molecular assays for rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 6, p. 2011–2013, jun. 2007.

GILLET, Y. et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. **The Lancet**, v. 359, n. 9308, p. 753–759, mar. 2002.

HAIR, P. S. et al. Clumping Factor A Interaction with Complement Factor I Increases C3b Cleavage on the Bacterial Surface of *Staphylococcus aureus* and Decreases Complement-Mediated Phagocytosis. **Infection and Immunity**, v. 78, n. 4, p. 1717–1727, abr. 2010.

HARKINS, C. P. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. **Genome Biology**, v. 18, n. 1, p. 130, dez. 2017.

HARTMAN, B.; TOMASZ, A. Altered penicillin-binding proteins in methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 19, n. 5, p. 726–735, maio 1981.

HE, W. et al. Prevalence and molecular typing of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* from multiple hospitals in China. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 77, n. 3, p. 267–269, ago. 2013.

HEILMANN, C. et al. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. **Molecular Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 1083–1091, jun. 1996.

HIRAMATSU, K. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 40, n. 1, p. 135–136, jul. 1997.

HIRAMATSU, K. The Emergence of *Staphylococcus aureus* With Reduced Susceptibility to Vancomycin in Japan. **The American Journal of Medicine**, v. 104, n. 5A, p. 7S–10S, maio 1998.

HIROTAKI, S. et al. Rapid and Accurate Identification of Human-Associated Staphylococci by Use of Multiplex PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 10, p. 3627–3631, out. 2011.

- HOGAN, B. et al. Prevalence of nasal colonisation by methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among healthcare workers and students in Madagascar. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 420, dez. 2016.
- HOLLAND, T. L.; ARNOLD, C.; FOWLER, V. G. Clinical Management of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. **JAMA**, v. 312, n. 13, p. 1330, out. 2014.
- HOSOSAKA, Y. et al. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 13, n. 2, p. 79–86, abr. 2007.
- HUANG, S. S.; DATTA, R.; PLATT, R. Risk of Acquiring Antibiotic-Resistant Bacteria From Prior Room Occupants. **Archives of Internal Medicine**, v. 166, n. 18, p. 1945, out. 2006.
- HUSSEIN, N. R.; ASSAFI, M. S.; IJAZ, T. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonisation amongst healthcare workers in Kurdistan Region, Iraq. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 9, p. 78–81, jun. 2017.
- IMMERGLUCK, L. C. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among pediatric health care workers from different outpatient settings. **American Journal of Infection Control**, v. 41, n. 9, p. 841–843, set. 2013.
- IWG-SCC. Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (*SCCmec*): guidelines for reporting novel *SCCmec* elements. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 53, n. 12, p. 4961–4967, dez. 2009.
- JEVONS, M. P. “Celbenin” - resistant Staphylococci. **British Medical Journal**, v. 1, n. 5219, p. 124–125, jan. 1961.
- JOACHIM, A. et al. Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* among Health Care Workers in Tertiary and Regional Hospitals in Dar es Salam, Tanzania. **International Journal of Microbiology**, v. 2018, p. 1–7, set. 2018.
- JORGENSEN, J. H. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 11. ed. Washington: American Society of Microbiology, 2015.
- JOSHI, S. et al. Novel Miniature Membrane Active Lipopeptidomimetics against Planktonic and Biofilm Embedded Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1021, dez. 2018.
- KAMPF, G. et al. Inducibility and potential role of *mecA*-gene-positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from colonized healthcare workers as a source for nosocomial infections. **Journal of Hospital Infection**, v. 54, n. 2, p. 124–129, jun. 2003.
- KANEKO, J. et al. Pantone-Valentine Leukocidin Genes in a Phage-like Particle Isolated from Mitomycin C-Treated *Staphylococcus aureus* V8 (ATCC 49775). **Biosci. Biotech. Biochem.**, v. 61, n. 11, p. 1960–1962, jul. 1997.
- KASHIF SALMAN, M. et al. Frequency of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among health care workers at a Tertiary Care Hospital. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 34, n. 5, p. 1181–1184, set. 2018.

KHANAL, R. et al. Nasal carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among health care workers at a tertiary care hospital in Western Nepal. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 4, n. 1, p. 39, dez. 2015.

KHATIB, R. et al. Screening for Intermediately Vancomycin-Susceptible and Vancomycin-Heteroresistant *Staphylococcus aureus* by Use of Vancomycin-Supplemented Brain Heart Infusion Agar Biplates: Defining Growth Interpretation Criteria Based on Gold Standard Confirmati. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 11, p. 3543–3546, nov. 2015.

KLUYTMANS, J.; VAN BELKUM, A.; VERBRUGH, H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, n. 3, p. 505–520, jul. 1997.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 1–103, set. 2018.

LAVERTY, G.; GORMAN, S. P.; GILMORE, B. F. Biomolecular mechanisms of staphylococcal biofilm formation. **Future Microbiology**, v. 8, n. 4, p. 509–524, abr. 2013.

LEE, A. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 18033, p. 18033, maio 2018.

LEGESE, H. et al. Nasal carriage, risk factors and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among healthcare workers in Adigrat and Wukro hospitals, Tigray, Northern Ethiopia. **BMC Research Notes**, v. 11, n. 1, p. 250, dez. 2018.

LEGRAND, J. et al. Occupational Determinants of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization Among Healthcare Workers: A Longitudinal Study in a Rehabilitation Center. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 36, n. 7, p. 767–776, jul. 2015.

LIN, J. et al. Nasal colonization of *Staphylococcus aureus* clonal complex 5: Prevalence, influencing factors, and phenotypic and molecular characteristics in pregnant Chinese women. **American Journal of Infection Control**, v. 45, n. 10, p. 1106–1110, out. 2017.

LOBANOVSKA, M.; PILLA, G. Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future? **The Yale journal of biology and medicine**, v. 90, n. 1, p. 135–145, mar. 2017.

LPSN. **List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature**. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/staphylococcus.html>>. Acesso em: 21 maio. 2019.

MA, X. X. et al. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among preclinical medical students: epidemiologic and molecular characteristics of methicillin-resistant *S. aureus* clones. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 70, n. 1, p. 22–30, maio 2011.

MILHEIRIÇO, C.; OLIVEIRA, D. C.; DE LENCASTRE, H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of *mec* element types in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 9, p. 3374–3377, set. 2007.

MULCAHY, M. E. et al. Nasal Colonisation by *Staphylococcus aureus* Depends upon Clumping Factor B Binding to the Squamous Epithelial Cell Envelope Protein Loricrin. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 12, p. e1003092, dez. 2012.

NHAN, T.-X.; LECLERCQ, R.; CATTOIR, V. Prevalence of toxin genes in consecutive clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and clinical impact. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 30, n. 6, p. 719–725, jun. 2011.

NOBLE, W. C. et al. Some aspects of nasal carriage of staphylococci. **Journal of Clinical Pathology**, v. 17, n. 1, p. 79–83, jan. 1964.

OLIVEIRA, C. F. DE et al. Molecular and phenotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospitalized patients. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 7, p. 743–751, jul. 2015.

OLUFUNMISO, O.; TOLULOPE, I.; ROGER, C. Multidrug and vancomycin resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from different teaching hospitals in Nigeria. **African Health Sciences**, v. 17, n. 3, p. 797, set. 2017.

OMUSE, G.; KARIUKI, S.; REVATHI, G. Unexpected absence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage by healthcare workers in a tertiary hospital in Kenya. **Journal of Hospital Infection**, v. 80, n. 1, p. 71–73, jan. 2012.

PARK, S. Y. et al. Sequence type 72 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged as a predominant clone of nasal colonization in newly admitted patients. **Journal of Hospital Infection**, v. 93, n. 4, p. 386–389, ago. 2016.

PILLAI, S. K. et al. Development of Reduced Vancomycin Susceptibility in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 8, p. 1169–1174, out. 2009.

POPOVICH, K. J.; WEINSTEIN, R. A.; HOTA, B. Are Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strains Replacing Traditional Nosocomial MRSA Strains? **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 6, p. 787–794, mar. 2008.

POULAKOU, G.; LAGOU, S.; TSIODRAS, S. What's new in the epidemiology of skin and soft tissue infections in 2018? **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 30, n. 2, p. 1, jan. 2019.

POURRAMEZAN, N.; OHADIAN MOGHADAM, S.; POURMAND, M. R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* tracking spread among health-care workers and hospitalized patients in critical wards at a university hospital, Tehran, Iran. **New Microbes and New Infections**, v. 27, n. C, p. 29–35, jan. 2019.

POWERS, M. E.; WARDENBURG, J. B. Igniting the Fire: *Staphylococcus aureus* Virulence Factors in the Pathogenesis of Sepsis. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 2, p. e1003871, fev. 2014.

PRATES, K. A. et al. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in university students. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 3, p. 316–318, maio 2010.

RAMMELKAMP, C. H.; MAXON, T. Resistance of *Staphylococcus aureus* to the Action of Penicillin. **Experimental Biology and Medicine**, v. 51, n. 3, p. 386–389, dez. 1942.

RONGPHARPI, S. R.; HAZARIKA, N. K.; KALITA, H. The Prevalence of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* Among Healthcare Workers at a Tertiary Care Hospital in Assam with Special Reference to MRSA. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 7, n. 2, p. 257–260, fev. 2013.

ROSSI, F. et al. Transferable Vancomycin Resistance in a Community-Associated MRSA Lineage. **New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 16, p. 1524–1531, abr. 2014.

SADEGHI, J. et al. Frequency of superantigen encoding genes of *Staphylococcus aureus* isolates collected from multiple sclerosis (MS) patients and nasal carriers. **Microbial Pathogenesis**, v. 127, n. April 2018, p. 316–319, fev. 2019.

SAKOULAS, G. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Comparison of Susceptibility Testing Methods and Analysis of *mecA*-Positive Susceptible Strains. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 11, p. 3946–3951, nov. 2001.

SAKWINSKA, O. et al. Ecological Temporal Stability of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 2724–2728, ago. 2010.

SARKAR, A. et al. Antimicrobial resistance and virulence markers in methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* isolates associated with nasal colonization. **Microbial Pathogenesis**, v. 93, p. 8–12, abr. 2016.

SCHAFFER, A. C. et al. Immunization with *Staphylococcus aureus* Clumping Factor B, a Major Determinant in Nasal Carriage, Reduces Nasal Colonization in a Murine Model. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 4, p. 2145–2153, abr. 2006.

SCHUBERT, M. et al. MRSA Point Prevalence among Health Care Workers in German Rehabilitation Centers: A Multi-Center, Cross-Sectional Study in a Non-Outbreak Setting. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 9, p. 1660, maio 2019.

SCHWENDENER, S.; COTTING, K.; PERRETEN, V. Novel methicillin resistance gene *mecD* in clinical *Macroccoccus caseolyticus* strains from bovine and canine sources. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 43797, dez. 2017.

SHRESTHA, L. et al. Inhibitory effects of antibiofilm compound 1 against *Staphylococcus aureus* biofilms. **Microbiology and Immunology**, v. 60, n. 3, p. 148–159, mar. 2016.

SILVA, E. C. B. F. DA et al. Prevalence and risk factors for *Staphylococcus aureus* in health care workers at a University Hospital of Recife-PE. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 6, p. 504–508, dez. 2008.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**. 1. ed. San Francisco: W.H. Freeman, 1973.

SOBHANIPOOR, M. H. et al. Molecular characterization of nasal methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from workers of an automaker company in southeast Iran. **APMIS**, v. 125, n. 10, p. 921–926, out. 2017.

SONG, Y. et al. Characterisation of clinical isolates of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* in China from 2009 to 2014. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 11, p. 1–3, dez. 2017.

SPAULDING, A. R. et al. Staphylococcal and Streptococcal Superantigen Exotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 3, p. 422–447, jul. 2013.

THOMER, L.; SCHNEEWIND, O.; MISSIAKAS, D. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections. **Annual Review of Pathology**, v. 11, n. 1, p. 343–364, maio 2016.

TIWARI, H. K.; SAPKOTA, D.; SEN, M. R. Evaluation of different tests for detection of *Staphylococcus aureus* using coagulase (*coa*) gene PCR as the gold standard. **Nepal Medical College journal**, v. 10, n. 2, p. 129–131, jun. 2008.

VAN DER ZEE, A. et al. Molecular genotyping of *Staphylococcus aureus* strains: Comparison of repetitive element sequence-based PCR with various typing methods and isolation of a novel epidemicity marker. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 342–349, fev. 1999.

WALSH, E. J. et al. Clumping Factor B, a Fibrinogen-binding MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) Adhesin of *Staphylococcus aureus*, Also Binds to the Tail Region of Type I Cytokeratin 10. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 49, p. 50691–50699, dez. 2004.

WALTERS, M. S. et al. Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* — Delaware, 2015. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 64, n. 37, p. 1056, set. 2015.

WANG, H. et al. Nasal *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage among college student athletes in northern Taiwan. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 50, n. 4, p. 537–540, ago. 2017.

WANG, J.-L. et al. Distribution of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Types and Correlation with Comorbidity and Infection Type in Patients with MRSA Bacteremia. **PLoS ONE**, v. 5, n. 3, p. e9489, mar. 2010.

WERTHEIM, H. F. L. et al. Key Role for Clumping Factor B in *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization of Humans. **PLoS Medicine**, v. 5, n. 1, p. e17, jan. 2008.

WU, T.-H. et al. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among nasal carriage strains isolated from emergency department patients and healthcare workers in central Taiwan. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 52, n. 2, p. 248–254, abr. 2019.

XIE, X. et al. Molecular epidemiology and virulence characteristics of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in medical laboratory staff: comparison between microbiological and non-microbiological laboratories. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 122, dez. 2018.

XU, S. X.; MCCORMICK, J. K. Staphylococcal superantigens in colonization and disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 2, p. 1–11, abr. 2012.

YAMAMOTO, T. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: community transmission, pathogenesis, and drug resistance. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 16, n. 4, p. 225–254, mar. 2010.

YOUNG, B. C. et al. Severe infections emerge from commensal bacteria by adaptive evolution. **eLife**, v. 6, p. 1–25, dez. 2017.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**“Avaliação das características microbiológicas e moleculares de *Staphylococcus aureus* entre profissionais e estudantes da área de saúde”**

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo(a) para participar da pesquisa **“ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E MOLECULARES DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS DE PROFISSIONAIS E ESTUDANTES DA ÁREA DE SAÚDE”**, a ser realizada no Hospital Universitário de Londrina (HU-UEL). O objetivo da pesquisa é isolar *Staphylococcus aureus* de profissionais e estudantes da área de saúde que circulam no Hospital Universitário de Londrina. O estudo pode contribuir para uma melhor compreensão de como ocorre a disseminação de cepas resistentes entre os ambientes hospitalares e comunitários. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: após a assinatura deste termo, as amostras serão obtidas girando-se uma haste de algodão flexível (*swab*), delicadamente, nas fossas nasais.

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Todos os dados coletados, clínicos e laboratoriais, serão descartados após a publicação deste estudo. Esclarecemos ainda, que você não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

Informamos que sua participação não acarretará em qualquer risco à sua saúde ou integridade física, pois trata-se de uma coleta não invasiva. Entretanto, pode gerar algum desconforto momentâneo, tal como coceira, coriza e/ou vontade de espirrar. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto o participante será prontamente atendido e amparado pelos responsáveis pelo projeto e pelas coletas. Sua participação não lhe causará nenhum benefício direto, porém o(a) senhor(a) e a população de um modo geral, serão beneficiados pois, com uma melhor compreensão de como ocorre a disseminação de cepas resistentes entre os ambientes hospitalares e comunitários, procedimentos para evitar tal disseminação poderão ser adotados, prevenindo assim, prejuízos à saúde.

Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar (**Marcia Regina Eches Perugini, Av. Robert Koch, 60 Vila Operária, telefone: (43) 3371-2346 e (43) 99933-8383, e-mail: marciaperugini@hotmail.com**) ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone (43) 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue a você.

Londrina, ____ de _____ de 201__.

Pesquisador Responsável _____

Eu _____, tendo sido devidamente esclarecido(a) sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Data: _____

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

APÊNDICE B – Instrumento de coleta de dados

Instrumento de coleta de dados

Data de coleta Número da amostra

Data de nascimento Sexo: () Masculino () Feminino

Utilizou antimicrobiano nos últimos 3 meses?

() Não () Sim

Foi internado(a) nos últimos 3 meses?

() Não () Sim

Identificação

() Profissional

() Estudante

Se estudante:

Curso

() Enfermagem

() Farmácia

() Fisioterapia

() Medicina

Período

() 3º ano

() 4º ano

() 5º ano

() 6º ano

() Residente Qual área?

Teve contato com pacientes durante os estudos? () Não () Sim

Local de atividade de ensino que tem/teve contato com pacientes:

Se profissional:

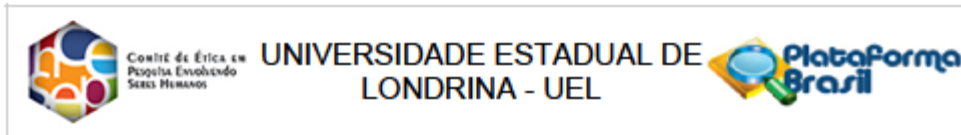
Qual profissão?

Qual setor?

Há quanto tempo trabalha com esta profissão?

ANEXOS

ANEXO A – Parecer consubstanciado



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E MOLECULARES DE *Staphylococcus aureus* ENTRE PROFISSIONAIS E ESTUDANTES DA ÁREA DE SAÚDE

Pesquisador: MARCIA REGINA ECHES PERUGINI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 79663417.2.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologias

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.421.361

Apresentação do Projeto:

Staphylococcus aureus tem grande importância médica, pois vive uma relação comensal com os seres humanos, compondo a microbiota normal da pele e principalmente da mucosa nasal. *S. aureus* resistente à metilicina (MRSA) foi primeiramente reportado em 1961, porém, nos anos 90 houve um aumento no número de infecções por MRSA relatadas em populações que não estavam expostas aos fatores de risco do ambiente hospitalar. Tais cepas, que têm sido denominadas CA-MRSA (community-associated-MRSA), disseminaram-se rapidamente entre a população em geral e afetam pacientes com e sem exposição ao ambiente de cuidados de saúde. Por conta da resistência aos -lactâmicos, a escolha para o tratamento de infecções causadas por MRSA é a vancomicina, a qual também já apresenta diminuição dos perfis de sensibilidade, sendo denominados de vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA), heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) e vancomycinresistant *Staphylococcus aureus* (VRSA). Trata-se de um estudo observacional, transversal e descritivo, no qual será medida a taxa prevalência. Tendo por objetivo, avaliar características microbiológicas e moleculares de *S. aureus* isolados de profissionais e estudantes da área de saúde. Para este estudo serão realizadas coletas em no mínimo 320 voluntários, as quais devem se enquadrar dentro de todos os critérios estabelecidos por este projeto. As amostras serão identificadas por metodologia manual ou automatizada Vitek2® (bioMérieux) e por genotipagem, avaliadas quanto a susceptibilidade a

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

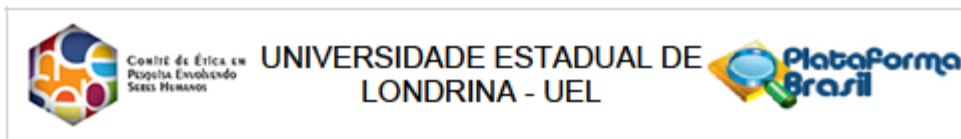
CEP: 86.057-970

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 2.421.361

antimicrobianos, determinando-se a CIM para vancomicina, triadas para a identificação de cepas hVISA e determinadas quanto a Análise Populacional (PAP). Espera-se determinar a prevalência de *S. aureus* na comunidade universitária e de profissionais da saúde, e que estes resultados possam dar subsídios para fundamentar cientificamente o assunto, e assim haja uma melhor compreensão de como ocorre a migração de cepas resistentes entre os meios hospitalares e comunitários. (texto do pesquisador)

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar características microbiológicas e moleculares de *S. aureus* isolados de profissionais e estudantes da área de saúde. (texto do pesquisador)

Objetivo Secundário:

Determinar a frequência de colonização por *S. aureus* entre profissionais e estudantes da área de saúde; Avaliar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos; Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) para - lactâmicos, glicopeptídeos e oxazolidinonas; Identificar mecanismos de resistência por métodos fenotípicos; Detectar genes de resistência; Realizar a tipagem SCCmec; Investigar a presença de genes de virulência; Determinar clonalidade dos isolados. (texto do pesquisador)

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A participação do voluntário neste estudo não acarretará em qualquer risco à sua saúde ou integridade física, pois trata-se de uma coleta não invasiva. Entretanto, pode gerar algum desconforto momentâneo, tal como coceira, coriza e/ou vontade de espirrar. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto o participante será prontamente atendido e amparado pelos responsáveis pelo projeto.

Benefícios:

Este estudo não acarretará benefícios diretos ao paciente. No entanto, auxiliará indiretamente aumentando os conhecimentos sobre colonização por *S. aureus* na população estudada. (texto do pesquisador)

Endereço: LABESC - Sala 14
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br



CONSELHO DE ÉTICA EM
PESQUISA ENVOLVENDO
SERES HUMANOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.421.361

Avaliação: A pesquisa atende as determinações legais. Salientamos que de acordo com a resolução 466/2012, toda pesquisa envolve riscos ainda que mínimo e é responsabilidade do pesquisador prever meios de acolhimento e orientação aos participantes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa poder ser uma importante contribuição a área da saúde e a melhoria do atendimento aos estudantes e pacientes do hospital Universitário de Londrina.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto - ok

TCLE - Ok

Autorizações - OK

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_979987.pdf	03/12/2017 23:33:42		Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_ CEP_2386871.pdf	30/11/2017 22:26:10	MARCIA REGINA ECHES PERUGINI	Aceito
Outros	Autorizacao_colegiado_enfermagem.pdf	30/11/2017 22:19:34	MARCIA REGINA ECHES PERUGINI	Aceito
Outros	Autorizacao_colegiado_farmacia.pdf	30/11/2017 22:18:36	MARCIA REGINA ECHES PERUGINI	Aceito
Outros	Autorizacao_colegiado_fisioterapia.pdf	30/11/2017 22:17:01	MARCIA REGINA ECHES PERUGINI	Aceito
Outros	Autorizacao_colegiado_medicina.pdf	30/11/2017 22:15:38	MARCIA REGINA ECHES PERUGINI	Aceito
Outros	Pedido_para_realizacao_de_projeto_Col egiados_HU_Tiago.pdf	30/11/2017 22:11:13	MARCIA REGINA ECHES PERUGINI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_mestrado_Tiago_Danelli.pdf	30/11/2017 22:07:46	MARCIA REGINA ECHES PERUGINI	Aceito
TCLE / Termos de	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Es	30/11/2017	MARCIA REGINA	Aceito

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br



Conselho de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.421.361

Assentimento / Justificativa de Ausência	clarecido.pdf	22:08:20	ECHES PERUGINI	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_projeto_Tiago_02.pdf	30/11/2017 20:41:05	MARCIA REGINA ECHES PERUGINI	Aceito
Outros	Autorizacao_HU_Tiago.pdf	04/10/2017 21:18:26	Tiago Danelli	Aceito
Outros	Autorizacao_NIP5_Tiago.pdf	04/10/2017 21:18:03	Tiago Danelli	Aceito
Outros	Declaracao_de_responsabilidade_banco_de_dados_Tiago.pdf	23/08/2017 22:26:51	Tiago Danelli	Aceito
Outros	Termo_de_confidencialidade_e_sigilo_Tiago.pdf	23/08/2017 22:25:55	Tiago Danelli	Aceito
Outros	Pedido_para_realizacao_de_projeto_NIP5_Tiago.pdf	23/08/2017 22:23:49	Tiago Danelli	Aceito
Outros	Pedido_para_realizacao_de_projeto_HU_Tiago.pdf	23/08/2017 22:22:43	Tiago Danelli	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_de_responsabilidade_banco_de_material_biologico_humano_Tiago.pdf	23/08/2017 22:21:28	Tiago Danelli	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 07 de Dezembro de 2017

Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
UF: PR Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br