

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

WOLNEI LUIZ AMADO CENTENARO

**OCORRÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM SALIVA E
CAVIDADE NASAL EM AMBIENTES HOSPITALAR E
ODONTOLÓGICO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Dal-Pizzol

**CRICIÚMA
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

A ficha catalográfica é confeccionada pela Biblioteca Central da UNESCO.

Tamanho: 7cm x 10,5cm

Fonte: Times New Roman 10,5

Maiores informações em pelo e-mail rwe@unesc.net ou pelo telefone 3431 2592.

WOLNEI LUIZ AMADO CENTENARO

OCORRÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM SALIVA E CAVIDADE NASAL EM AMBIENTES HOSPITALAR E ODONTOLÓGICO.

Esta tese foi julgada e aprovada para obtenção do Grau de Doutor em Ciências da Saúde na área de Ciências da Saúde no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

Criciúma, 16 de dezembro de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Felipe Dal-Pizzol – Dr. – Universidade do Extremo Sul
Catarinense - Orientador

Prof. Eduardo Rico – Dr. Membro Relator - Universidade do Extremo
Sul Catarinense

Prof. Ricardo Andrez Machado de Avila – Dr. Membro Interno -
Universidade do Extremo Sul Catarinense

Professora Cristiane Damiani Tomazi – Dra. Membro Externo -
Universidade do Extremo Sul Catarinense

Prof. Francisco Montagner – Dr. Membro Externo -
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Wolnei Luiz Amado Centenaro
Doutorando

FOLHA INFORMATIVA

Esta tese foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Fisiopatologia Experimental do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense

“Aos meus exemplos de caráter, ética, dedicação, valores e humildade; meus Pais José Centenaro e Elza Amado Centenaro”.

AGRADECIMENTOS

“Quantas pessoas queridas o tempo (Deus) me emprestou ou me deu para guardar, mas depois as chamou para dançar, no seu ritmo”... Gabriel o Pensador

In memoriam, Vô José e Vô Colin.

Ao Prof. Dr. Felipe Dal-Pizzol meu orientador o apoio contínuo e a confiança que depositou em mim. Sem ele não teria sido possível a realização deste estudo.

Aos Diretores da Uri Campus Elisabete Maria Zanin ,Paulo Roberto Giollo ,Paulo José Sponchiado pelo apoio financeiro e incondicional nos momentos mais difíceis deste longo período.

A colega de Doutorado e Professora de Microbiologia da Unesc Cleonice Maria Michelon pelos ensinamentos e ajuda necessários na área

Aos meus colegas e minhas colegas do laboratório de Fisiopatologia da Unesc, Priscila Ávila, Danusa Damásio que tornou possível o trabalho no Hospital São José e em especial à Monique Michels, sempre prestativa, amiga, participativa e conselheira. A ciência ainda vai ouvir falar muito este nome e lhe será muito grata.

Ao Coordenador do Curso de Odontologia da UNESC-SC Renan Antônio Ceretta pelo apoio nas Clínicas da Unesc

Aos meus colegas e professores do curso de Odontologia da Uri Fabiane Schreiner, Roberto Carlos Soccol, Valdomiro Simoneti, Claiton Giovanni Tirello, Elize Tatiane Ribeiro Bonafe, Silvane Souza Roman e Gabriele Fahl pelas substituições de horários, conselhos e amizade nestes anos em que a ética e o coleguismo permeiam nosso relacionamento.

Aos funcionários do Curso de Odontologia Tiago Ambrosio Lazareti e Carine Pereira que estão comigo nesta caminhada desde o início e que sempre foram imprescindíveis na nossa labuta

Aos recepcionistas da Uricepp Roberto e Sergio por me acompanharem nas noitadas de estudos e trabalhos.

A Gabriela da Rosa Cunha PhD student, researcher Harvard Medical School at Massachusetts Eye & Ear Infirmary, Doutoranda UFCSPA, por saber sobrepor as barreiras e dedicar-se ao máximo na construção deste estudo.

Aos meus irmãos Wolmir, Gustavo e Marizélia, pelas orações e preocupações com as incontáveis viagens e quilômetros percorridos.

Aos meus filhos Carlos Eduardo e Ana Júlia, que souberam entender que minhas ausências eram fruto de um buscar conhecimentos que possam servir de exemplos à eles na vida e que a cada retorno o meu amor por eles havia aumentado.

A minha esposa Analise que soube suportar minhas angústias e incertezas com paciência, dedicação, amor e discernimento, pelas noites em claro que passei na frente do computador estudando, pela ausência em momentos importantes e difíceis em nossas famílias sem poder lhe dar um ombro para chorar e ouvido para ouvir seus desabafos, pelo exemplo de dedicação ao trabalho e ao cumprimento de deveres, pela educação de meus filhos a ti minha eterna gratidão e amor, entendendo que:

“Amar é acreditar no outro, dividir sonhos, receber, entregar, perdoar, compreender, aceitar. Amar é querer estar junto, e se separados, unidos pelo pensamento, pelos objetivos, pelos mesmos desejos”.

E por fim e não menos importante agradeço, sobretudo a DEUS por ter me permitido chegar até aqui, porque se ele não tivesse sido corajoso e deixado que parassem o coração dele, o meu não estaria batendo hoje).

Letícia Gilbert

RESUMO

Staphylococcus aureus, são micro-organismos pertencentes a microbiota da cavidade nasal e podem habitar também a cavidade oral. Cepas resistentes a antibióticos, particularmente a meticilina (MRSA) podem trazer riscos a ambientes hospitalares, ambulatoriais e para a comunidade. O objetivo desse estudo é avaliar a prevalência de colonização por *Staphylococcus aureus*, em profissionais, acadêmicos e superfícies odontológicas comparando as prevalências com as encontradas em funcionários de uma UTI Hospitalar. Para isso, coletamos secreção salivar e nasofaríngea de profissionais de uma UTI hospitalar, cirurgiões-dentistas, auxiliares em saúde bucal, acadêmicos de duas Universidades distintas e também de superfícies no ambiente de trabalho odontológico. Após coletado, material foi semeado em sal ágar manitol. As colônias isoladas obtidas foram submetidas a coloração de Gram para avaliação da morfologia e arranjo celular. O *screening* para resistência a meticilina foi realizado utilizando meio cromogênico (MRSA), e as colônias características a resistência foram então submetidas ao teste antimicrobiano de disco difusão para oxacilina e cefoxitina. A confirmação genotípica foi avaliada por amplificação do gene *mecA* e *LukS-lukF*, por meio de PCR. Cento e noventa e seis amostras foram coletadas, provenientes de 156 indivíduos e 40 superfícies. Obteve-se 93 cepas de *Staphylococcus aureus* em indivíduos e 05 em superfícies. Destas, 08 provenientes de colonização nasal e 03 de colonização salivar foram caracterizadas genotipicamente para MRSA. Somente 04 amostras apresentaram os genes *LukS-lukF*, caracterizando cepas de origem comunitária. Embora tenhamos obtido, como resultados, um pequeno número de isolados que apresentaram (MRSA), existe uma prevalência de associação em ambientes odontológicos com ambientes hospitalares. Mais estudos devem ser realizados para confirmar essa prevalência.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina. Exposição à Agentes Biológicos. Resistência Microbiana a Medicamentos. Odontologia.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus, are bacterial belonging to the flora of the nasal cavity and may inhabit the oral cavity. Antibiotic-resistant strains, particularly methicillin (MRSA), can pose risks to hospital, outpatient, and community settings. The objective of this study is to evaluate the prevalence of colonization by *Staphylococcus aureus* in professionals, academics and dental surfaces comparing the prevalence with those found in employees of a Hospital ICU. For this, we collected salivary and nasopharyngeal secretions from professionals of a hospital ICU, dental surgeons, oral health aides, academics from two different universities and from surfaces in the dentistry work environment. After being collected, material was seeded in mannitol agar. The isolated colonies were submitted to Gram staining to evaluate the morphology and cellular arrangement. Screening for methicillin resistance was performed using chromogenic medium (MRSA), and the resistance-characteristic colonies were then submitted to the antimicrobial disk diffusion test for oxacillin and cefoxitin. Genotypic confirmation was assessed by amplification of the *mecA* and *LukS-lukF* gene by PCR. One hundred and ninety-six samples were collected from 156 individuals and 40 surfaces. A total of 93 strains of *Staphylococcus aureus* were obtained in subjects and 05 on surfaces. Of these, 08 from nasal colonization and 03 from salivary colonization were characterized genotypically for MRSA. Only 04 samples showed the *LukS-lukF* genes, characterizing strains of community origin. Although we obtained, as results, a small number of isolates that presented (MRSA), there is a prevalence of association in dental environments with hospital environments. Further studies need to be performed to confirm this prevalence.

Keywords: MRSA drug Resistance. Exposure to biological agents. Drug Resistance to microbial dentistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fatores de virulência.....	13
Figura 2 – Gene <i>mecA</i>	25
Figura 3 – Dinâmica de transmissão de MRSA entre pacientes e profissionais da saúde.....	30
Figura 4 – Identificação de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Figura 5 – Crescimento de colônias de MRSA em CHROMagar MRSA.....	36
Figura 6 – Resistência/Sensibilidade Cefoxitina e Oxacilina.....	37
Figura 7A – Identificação de <i>S.aureus</i>	41
Figura 7B – Identificação da resistência por meio cromogênico.....	42
Figura 7C – Comprovação da resistência por TSA.....	43
Figura 8A – Associação de colonização entre os grupos por MSSA nasal.....	44
Figura 8B – Associação de colonização entre os grupos por MSSA salivar.....	44
Figura 8C – Associação de colonização entre os grupos por MRSA nasal.....	45
Figura 8D – Associação de colonização entre os grupos por MRSA salivar.....	45
Figura 8E – Associação de colonização entre os grupos por MRSA – TSA nasal.....	45
Figura 8F – Associação de colonização entre os grupos por MRSA – TSA salivar.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Determinantes de Virulência do <i>S. aureus</i>	17
Tabela 2 – Mecanismo de Resistencia aos antibióticos de <i>S. aureus</i> e genes associados.....	22
Tabela 3 – Caracterização da população em estudo.....	39
Tabela 4 – Identificação dos genes <i>mecA</i> e <i>PVL</i>	46
Tabela 5 – Variáveis com Nível de Significância Estatística.....	47
Tabela 6 – Frequência da utilização de Antimicrobianos por conta própria.....	48
Tabela 7 – Frequência da Troca de Máscara.....	49
Tabela 8 – Frequência da troca do Gorro.....	50
Tabela 9 – Desinfecção do Óculos de Proteção.....	51
Tabela10 – Risco oferecido pela colonização em profissionais de saúde.....	52
Tabela 11 – Aspectos relativos da jornada de trabalho.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Agr – Gene Regulador Acessório
VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana
AP- PCR - Arbitrary Primer Polymerase Chain Reaction
attB_{sc} - SCC_{mec} attachment site
BORSA - Bordline *Staphylococcus aureus*
CAPF CA - MRSA. Adquiridas na comunidade
ccr - cassete cromossoma recombinase
ETA -Toxina Exfoliativa A
ETB - Toxina Exfoliativa B
FemA - fem, Factor Essential for Methicillin resistance.
HA – MRSA Adquirida em Hospital
HBR - Região Hipervariável
HCV -Vírus da hepatite C
Hla - Alfa-toxina
Hla - Alfa-hemolisina
H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio
IRAS - Infecção Relacionada à Assistência à Saúde
IPTM - Infecção de Pele e Tecidos Moles
ISS - Integration Site Sequence
JK - Região Junkiard
LPS - Lipopolissacarídeo
MCH - complexo principal de histocompatibilidade.
MGE - mobile genetic elemets
MLEE - Multilocus Enzyme Electrophoresis
MLST - multilocus sequence typing
MODSA - modified *Staphylococcus aureus*
MRSA - *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina
MSSA - *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina
MLEE - Multilocus enzimático eletroforético
MLST - Multilocus Sequence Typing
MSCRAM - - Microbial Surface Components Recognizing Adhesive
Matrix Molecules NaCl NAM N-acetilmurâmico
NAG N acetiglosoamina
NCCLS - Clinical and Laboratory Standards NDA
ORFs - Open reading frames
O₂ – Gás Oxigênio
PBP Penicillin Binding Proteins
PCR Polymerase Chain Reaction

PCR - Ribotipagem ou Ribo-PCR PCR -AP-PCR - Polimorfismo Amplificado pela Reação em Cadeia da Polimerase
PCR - RFLP - Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição
PFGE - Pulsed-field gel electrophoresis
pH – Potencial de Hidrogênio
QS - Quorum Sensing.
rep-PCR- Palindrômicas Extragênicas Repetidas RFLP - Polimorfismos de fragmentos de restrição.
SarA - Staphylococcal accessory regulator
S.aureus - *Staphylococcus aureus*
SCCmec Staphylococcal Cassette Chromosome mec
SCV - Small Colony Variants
SE - Enterotoxins
Taq. DNA Polimerase Termoestável
TCRs - Two Component Regulatory Systems
TSTT-1 Toxic Shock Syndrome Toxin-1
TSS - Choque Tóxico Estafilocócico
UTI – Unidade de Terapia Intensiva
VISA - Vancomycin Intermediate Resistant *S. aureus*
VRSA - Vancomycin Resistant *S. aureus*
WTAs - Ácidos Teicóicos
5 CP5 – Polissacarídeo Celular Sorotipo 5
8 CP8 - Polissacarídeo Celular Sorotipo 8

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1. DESCRIÇÃO DA BACTÉRIA	11
1.2. EPIDEMIOLOGIA DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	13
1.3. FATORES DE VIRULÊNCIA.....	16
1.4. RESISTENCIA <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> A AGENTES ANTIMICROBIANOS.....	20
1.5. GENE <i>MECA</i>	24
1.6. STAPHYLOCOCCAL CASSETTE CHROMOSSOME – SCCMEC.....	27
1.7. COLONIZAÇÃO/CONTAMINAÇÃO.....	28
1.7.1. Colonização/Contaminação em odontologia.....	30
1.8. JUSTIFICATIVA.....	32
2 OBJETIVOS.....	33
2.1. OBJETIVO GERAL.....	33
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
3 MATERIAS E MÉTODOS.....	34
3.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	34
3.2. CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO.....	34
3.3. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	34
3.4. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	34
3.4.1. Identificação de <i>Staphylococcus aureus</i>.....	34
3.4.2. Identificação de MRSA.....	35
3.4.2.1. Meio Cromogênico.....	35
3.4.2.2. Teste de Susceptibilidade a antimicrobianos.....	36
3.4.3. Detecção dos Genes <i>mecA</i> e <i>lukS-lukF</i>.....	37
3.4.4. Eletroforese de campo pulsado (PFGE).....	37
3.5. ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
4. RESULTADOS.....	38
4.1. POPULAÇÃO.....	38
4.2. IDENTIFICAÇÃO DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ENTRE OS GRUPOS.....	39
4.3. IDENTIFICAÇÃO DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTENTE POR CHROMagar.....	39
4.4. RESISTÊNCIA POR TSA E ASSOCIAÇÃO ENTRE COLONIZAÇÃO NASAL E SALIVAR.....	40
4.5. SIMILARIDADE ENTRE GRUPOS COLONIZADOS.....	43
4.5.1. Colonização nasal e salivar em grupos colonizados por <i>S. aureus</i>.....	43

4.5.2. Resistencia nasal e salivar por CHROMagar.....	44
4.5.3. Resistência nasal e salivar por TSA.....	45
4.6. IDENTIFICAÇÃO DO GENE <i>MECA</i> É RESPONSÁVEL PELA CODIFICAÇÃO DE PVL.....	46
4.7. INSTRUMENTO DE CARACTERIZAÇÃO PROFISSIONAL.....	46
4.7.1. Uso de antimicrobianos por conta própria.....	47
4.7.2. Frequência de troca de Máscaras.....	48
4.7.3. Frequência de troca de Gorros.....	49
4.7.4. Desinfecção do óculos de proteção.....	50
4.7.5. Profissional de saúde colonizado por germes resistentes aos antimicrobianos oferece algum risco?.....	51
4.7.6. Aspectos relativos a jornada de trabalho.....	52
5 DISCUSSÃO.....	54
6 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	61
APENDICE.....	81
APENDICE I.....	82
ANEXOS.....	86
ANEXO I.....	87
ANEXO II.....	90

1 INTRODUÇÃO

1.1. DESCRIÇÃO DA BACTÉRIA

Taxonomicamente o micro-organismo *Staphylococcus aureus*, classifica-se como pertencente ao Domínio Bactéria, Filo Firmicutes; Classe Bacilos; Ordem Bacillales; Família Staphylococcaceae; Gênero *Staphylococcus* e espécie *Staphylococcus aureus*, Gram-positivas. Apresentam-se geralmente em forma de cocos (esféricas), com células de cerca de um micrômetro de diâmetro, que se juntam em colônias parecidas, quando vistas ao microscópio óptico com aglomerados semelhantes a cachos de uva. O nome é derivado da palavra grega “staphylé” que significa "cacho de uvas" e refere-se ao padrão de crescimento do micro-organismo (Murray et al., 2008). Rosenbach, (1884), descreveu dois tipos de colônias pigmentadas de *Staphylococcus* as quais foram denominadas de *Staphylococcus aureus* (amarelos) e *Staphylococcus albus* (brancos), esta última espécie atualmente denominada de *Staphylococcus epidermidis*.

Apesar de existirem mais de 40 espécies de *Staphylococcus* descritos no Manual de Bergey (Garrity et al., 2001), apenas *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, apresentam interações significativas com seres humanos. Os primeiros colonizam principalmente a nasofaringe e orofaringe, mas podem ser encontrados regularmente na maioria dos outros locais anatômicos, incluindo a pele, cavidade oral e trato gastrointestinal (Robert et al., 2005; Velázquez-Meza, 2005). São anaeróbios facultativos, que crescem por respiração aeróbica ou por fermentação, produzindo ácido láctico, principalmente (Murray et al., 2008). Estes micro-organismos são catalase positivos, ou seja, a adição de H_2O_2 (água oxigenada) a uma cultura de *Staphylococcus aureus* produz O_2 (oxigênio) livre, visível através do borbulhamento, além de serem oxidases negativa e piogênicos por excelência. Podem crescer numa gama de temperaturas de 15 a 45°C e em concentrações de pH tão elevadas como 15% de NaCl. (Euzéby, 2004; Koneman et al., 2012; Todar, 2014). A maioria das espécies de estafilococos são coagulase-negativos, entre as exceções estão *Staphylococcus aureus* (Kloos et al., 1995; Bannerman et al., 2012).

As bactérias regulam muitos processos em resposta à sinalização celular. Nestes processos estão incluídos os fatores de virulência, e a produção e formação de biofilmes (Cervantes et al.,

2014). Além disso, estes microrganismos utilizam esta sinalização para regular a densidade da população conhecida como percepção de quórum. Estes sistemas em *Staphylococcus* são denominados de sistema “QS” (Quórum Sensing). Os mesmos possuem enorme impacto na bactéria durante a infecção, controlando a fisiologia e os fatores de virulência. São regulados pelo complexo gênico *agr* (gene acessório regulador) (Cervantes et al., 2014).

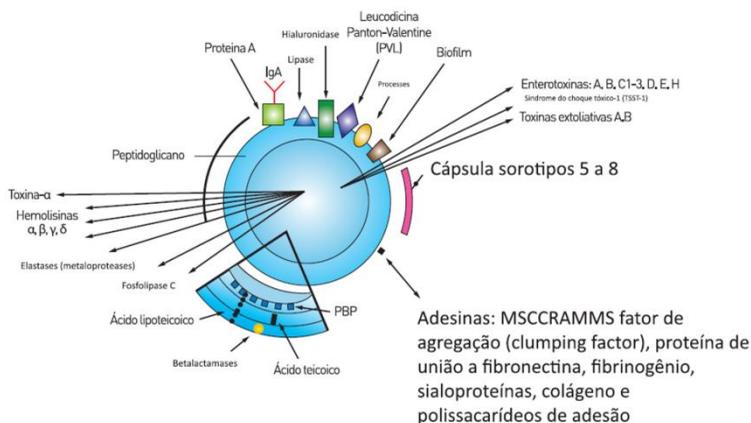
Referente à composição e estrutura dos *Staphylococcus aureus*, os mesmos apresentam como componente citoplasmático em suas células, o nucleóide, onde se encontra o cromossoma do microrganismo; os ribossomos que são responsáveis pela síntese proteica; os plasmídios que são moléculas circulares de DNA e que são capazes de autoduplicação independente da replicação cromossômica e que estão envolvidos na resistência destes aos antimicrobianos (Santos et al., 2007). Além disso, podemos encontrar, raramente, flagelos, que são responsáveis pela movimentação das células bacterianas.

Na sua grande maioria a resistência bacteriana deste microrganismo pode estar presente na constituição de sua parede celular, sendo este um componente extremamente importante para a sobrevivência e patogenicidade do mesmo. Esta, por sua vez é constituída por uma cápsula formada por uma única camada frouxa de polissacarídeos que protege a bactéria ao inibir a quimiotaxia e a fagocitose, facilitando ainda a aderência em materiais sintéticos. A mesma é constituída ainda por um peptídeoglicano, que se trata de um componente estrutural composto de cadeias de glicano de ligação cruzada com peptídeos conferindo maior rigidez à parede celular (Figura 1).

Na sequência da cápsula encontra-se a proteína A que reveste a superfície destes micro-organismos e se liga a camada de peptídeoglicano, sendo responsável e eficaz na prevenção da eliminação da bactéria pelo sistema imune, impedindo a opsonização da mesma. Além disso, fazendo parte desta constituição, aparecem os ácidos teicóicos, que são polímeros que contêm fosfatos ligados à camada de peptídeoglicano ou à membrana plasmática e são responsáveis pela mediação da fixação destes micro-organismos às superfícies mucosas. Na cápsula ainda, encontramos o fator de aglutinação e por fim, a membrana citoplasmática, formada por um complexo de carboidratos, proteínas e lipídeos, que atuam como barreira osmótica e local para a fixação de enzimas (Todar, 2014; Oogai et al., 2011; Kavanaugh e Horswill, 2016).

Outra característica importante desta bactéria é que a torna diferenciada, é a capacidade de produzir biofilmes. O crescimento de micro-organismos em biofilmes fornece uma grande capacidade de adaptação das bactérias às diferentes condições ambientais.

Figura 1: Fatores de virulência *S.aureus*.



Fonte: adaptada de Vaudax et. al 1994.

1.2. EPIDEMIOLOGIA DE *Staphylococcus aureus*

No ser humano, *Staphylococcus aureus* pode sobreviver como colonizador persistente em (20%) destes (30%) como colonizador transitório (intermitente), e em torno de 50% correspondem a não colonizados. Seu local anatômico predileto de colonização estabelece-se na orofaringe de adultos (Kluytmans et al., 1997). A taxa de colonização nasal em seres humanos sadios varia de 10 a 40%, taxas mais altas ocorrem em pacientes que por motivos de doenças diversas apresentam graus de imunidade baixa, especialmente em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos ou à hemodiálise em que estas taxas de colonização podem chegar acima dos 50% (Von Eiff et al., 2001; Laupland et al., 2003; Nu et al., 1986). A taxa de colonização a nível mundial decresce com o passar dos anos, em países com maior poderio financeiro e em especial nos países escandinavos, nas últimas décadas. Nos anos 30 a mesma correspondia a 35%, (Kluytmans et al., 1997), nos anos 2000, decresceu para 27%, (Nulens, 2005). Esta realidade, no

entanto, não é a mesma em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento.

São multifatoriais os mecanismos que levam à colonização por esta bactéria. Existe um verdadeiro tropismo entre o microorganismo e o hospedeiro, isto quer dizer, que são as condições do hospedeiro que vão determinar esta colonização (Cole et al., 2001). Além do que as taxas variam entre gênero, raça e idade. Herwaldt et al., (2004) reforça a afirmativa feita anteriormente de que pacientes imunodeprimidos, tais como, dependentes de insulina, usuários de hemodiálise ou diálise peritoneal, doença hepática avançada, obesos, com histórico de acidentes vasculares e cerebrais, HIV positivos e com doenças de pele crônicas são os mais propensos a serem colonizados intermitentemente.

A respeito da colonização por MRSA (*Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina), na era pré-antibiótica, infecções por *Staphylococcus aureus* eram geralmente fatais. Em um estudo de revisão de casos no início dos anos 1940, a mortalidade entre os 122 pacientes participantes foi de 82%, e de 98% naqueles com idade maior que 50 anos. Na era moderna, estima-se que 25-35% dos indivíduos humanos saudáveis são portadores deste micro-organismo na pele ou mucosas. Isto significa que até dois bilhões de pessoas atualmente podem transmitir *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina em todo o mundo, e estimativas conservadoras baseadas em dados de prevalência, holandeses e norte-americanos prevêm que entre 2-53 milhões de pessoas portadoras de MRSA, sejam a causa de infecções associadas aos hospitais. A taxa de mortalidade associada a infecções invasivas por MRSA é de 20%, mas varia consideravelmente entre os estudos em diferentes contextos (Haidegge et al., 2015).

Embora os dados epidemiológicos de estudos muitas vezes não possam ser comparáveis, devido às diferenças no desenho dos mesmos e populações amostradas, as maiores taxas (>50%) são relatados na América do Norte, América do Sul, Ásia e Malta. Taxas intermediárias (25-50%) são relatadas na China, Austrália, África e alguns países europeus como, por exemplo, Portugal (49%), Grécia (40%), Itália (37%) e na Romênia (34%). Outros países europeus têm taxas de prevalência geralmente baixas (Países Baixos e Escandinávia) (Haidegge et al., 2015).

Este micro-organismo apresenta uma importância extraordinária do ponto de vista epidemiológico e clínico. Em hospitais, o mesmo pode apresentar-se de forma epidêmica e endêmica, levando-se em conta que é um dos patógenos que infecta a maior quantidade de pacientes submetidos a procedimentos invasivos (Layton et al., 1996).

Trata-se de um micro-organismo multirresistente (betalactâmicos e outros antimicrobianos) o que determina geralmente o fracasso do tratamento empírico e dificuldade no tratamento das infecções por ele causado (Schmitz et al., 1997).

Nos últimos anos o problema ocorre além dos limites hospitalares, pois foram descritas, recentemente, cepas de MRSA, distintas e de aquisição comunitária. Tipicamente, colonização por MRSA é adquirido no hospital e esta ocorre através de uma infecção, que se manifesta após 48 horas à exposição nosocomial. Um paciente infectado ou colonizado é o suficiente para introduzir esta colonização nestes novos ambientes (Gorak et al., 1999). A forma de transmissão mais aceita e conhecida é aquela que ocorre através das mãos dos cuidadores ou através do acúmulo em superfícies, causando epidemias tanto em ambientes hospitalares como comunitários, além disso, a prescrição indiscriminada e empírica de antibióticos contribui para a aquisição do fator resistência e consequentemente facilita a colonização, por esta forma não sensível a antimicrobianos (Wilcox, 2005).

Epidemiologicamente é importante não confundir MRSA adquiridos na comunidade, denominados (HA-MRSA), com as espécies resistentes, adquiridas em ambientes hospitalares (CA-MRSA), *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina de origem hospitalar, que apesar de parecer ter uma origem comunitária, são provenientes de pacientes que estiveram em contato com algum tipo de assistência à saúde, de onde adquiriram a bactéria (Fridkin et al., 2005). As diferenças básicas entre os dois tipos de MRSA, são as seguintes: ausência de fatores de risco clássicos para contrair MRSA, CA-MRSA, incide mais em crianças e jovens e são mais sensíveis a várias classes de antibióticos do que os de origem nosocomial. Além disso, CA-MRSA, possui fatores de virulência específicos. São tipicamente portadores de genes para a codificação da Leucocidina de Pantone Valentine (PVL), que é uma toxina que pode causar necrose tecidual e destruição leucocitária, apresentam somente o cassete cromossômico SCCmec (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*) tipo IV, causam infecções de mucosas graves e raramente necrosantes (Lina et al., 1999; Said, 2003; Naimi et al., 2003; Robinson et al., 2005).

As causas desta proliferação e aparição de cepas comunitárias, ainda não estão devidamente esclarecidas e supõe-se atribuídas a fatores diversos. Assim como as demais formas de resistência aos antimicrobianos, uma das causas possíveis pode ser o uso indiscriminado dos mesmos. Uma particularidade em relação a estas cepas é que todas contêm o SCCmec tipo IV, que é de um tamanho

reduzido em relação aos demais SCCmec(s), o que teria facilitado a transferência dos genes de resistência entre seus pares. A presença de fatores de virulência que facilitam a infecção por este tipo de microorganismo pode também contribuir para a proliferação do CA-MRSA (Charlebois et al., 2004; Weber et al., 2005).

Um dos primeiros relatos de MRSA adquirido em uma comunidade na América Latina teve origem no Uruguai, em 2001, em quatro crianças sem fatores de risco tradicionais para infecção por HA-MRSA (Galiana et al., 2001). Um artigo que descreveu um grande surto de CA-MRSA em Montevidéu, Uruguai, sugere que CA-MRSA é um problema crescente na América Latina (Mejía et al., 2010). Desde então, MRSA vem sendo identificado como causa de infecções adquiridas na comunidade por toda a América Latina, embora os dados publicados se limitem a apenas alguns países, e a certos locais nesses países.

A prevalência de HA-MRSA tem diminuído nos últimos anos em alguns países europeus, por exemplo, Áustria, França, Irlanda, Reino Unido e Grécia. Em outros países a prevalência permaneceu relativamente estável. No entanto, taxas muito altas de CA-MRSA são relatados na Ásia Oriental, especialmente no Sri Lanka (86,5%), Coreia do Sul (77,6%), Vietnã (74,1%), Taiwan (65,0%), Tailândia (57,0%) e Hong Kong (56,8%). Em contraste, existem taxas relativamente baixas na Índia (22,6%) e Filipinas (38,1%), (Szilagyi et al., 2013).

1.3 FATORES DE VIRULÊNCIA

A espécie resistente deste micro-organismo era um agente patogênico humano confinado aos hospitais durante mais de 30 anos. O CA-MRSA emergiu nas últimas duas décadas em todo o mundo como uma das principais causas de infecções graves em indivíduos saudáveis na comunidade. A espécie resistente e comunitária surgiu localmente, como dito anteriormente, pela aquisição do elemento genético móvel SCCmec que transporta o gene *mecA*, por *Staphylococcus aureus* susceptíveis à meticilina (MSSA), ou alternativamente, tiveram origem em cepas disseminadas de hospitais.

Staphylococcus aureus é considerado o mais virulento, dentre seu gênero, graças a sua capacidade de adaptabilidade (Plata et al., 2009). Os principais fatores que induzem às patogenias, tanto em seres humanos como em animais são os componentes da superfície celular da bactéria, além disso, contribuem para esta patogenicidade toxinas e enzimas, nominadas como fatores de virulência extracelulares (Black, 2013).

A expressão dos fatores de virulência, especialmente as exotoxinas, parece ocorrer principalmente durante a fase pós-exponencial de crescimento e são reguladas por pelo menos três sistemas regulatórios globais, são eles: o gene regulador acessório (*agr*), regulador acessório estafilocócico (*sar*) e o regulador de proteína extracelular (*xpr*). A formação de um biofilme maduro cuja estrutura pode ter forma de fungo ou plana e que contem canais de água que distribuem eficazmente nutrientes e moléculas de sinalização dentro do mesmo, constitui mais um fator de virulência deste patógeno (Bohach et al., 1997). Estes elementos e suas respectivas ações nos tecidos do hospedeiro estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Determinantes de Virulência do *S. aureus*.

Determinantes	Ação tecido hospedeiro
Fatores da superfície	
1. Cápsula	Antifagocítica.
2. Componentes da Parede Celular:	
Peptídeoglicano	Piogênico – Quimioatrativo.
Ácido Teicóico	Liberado protege contra o complemento.
3. Proteínas da Superfície Celular	
Proteína A	Protege contra a IgG do complemento.
Proteína de ligação ao fibrinogênio	Liga-se ao fibrinogênio (precede à fibrina).
Proteína de Ligação à Fibronectina	Liga-se a Fibronectina (proteína adesiva).
Proteína de ligação à laminina	Liga-se a laminina (Apresenta vários sítios de ligação como para receptores celulares específicos).
Proteína de Ligação ao Colágeno	Liga-se ao colágeno (Sustentação da cartilagem)
Proteína de Ligação a Vitronectina	Liga-se a Vitronectina (Por isso, a vitronectina serve para regular a proteólise pela ativação do plasminogênio).

Fatores extracelulares

4. Toxinas Extracelulares

Alfa, Beta, Gama e Delta Toxinas.

Citotóxicas para os tecidos e leucócitos.

Leucocidina P V

Destrói leucócitos (leucocida).

Toxina da Síndrome do Choque Tóxico

Liga-se às moléculas do MHC (major histocompatibility complex) da classe II induz síntese de citocinas causando múltiplas disfunções orgânicas.

Enterotoxinas

Heméticas e diarreias

Toxina Epidermolítica

Lisa a ligação da célula com o estrato granuloso

5. Enzimas:

Coagulase

Catalisa a conversão de fibrinogênio em fibrina

Lipase

Degrada os lipídeos

Proteases

Modifica ácidos graxos liberados na degradação lipídica e contribui com a formação de abscessos; Degrada as proteínas inclusive as de defesa do hospedeiro.

Fosfolipases

Degrada Fosfolipídios.

Estafiloquinase

Converte plasminogênio plasmína fibrinolítica

Hialuronidase

Degrada o ácido hialurônico

Nuclease

Cliva DNA ou RNA.

Fonte: Autor (2016).

Esta espécie de *Estafilococos* possui um grande poder de adesão ao hospedeiro, mediado por interações entre adesinas com tecidos do mesmo (pele, mucosas, células da superfície endotelial). Esta adesão ocorre através da matriz extracelular e proteínas do plasma do hospedeiro de forma altamente específica, permitindo uma eficiente colonização (Tamura et al., 2006). As adesinas destes micro-organismos são proteínas da parede celular que pertencem à mesma família denominada MSCRAMMs (componentes da superfície microbiana que reconhecem moléculas adesivas da matriz), e que interagem com proteínas do hospedeiro, tais como, fibrinogênio (C, D e E (SdrC, SdrD, e SdrE), colágeno (Coa), elastina S (EbpS), fibronectina A e B (FnBPA, FnBPB), e com os fatores de aglutinação A e B (ClfA, ClfB), (Clarke et al., 2006; McDevitt et al., 1994).

MSCRAMMs, além de ser essencial para o metabolismo do micro-organismo, devido ao importante fator de ligação com a célula hospedeira, o mesmo tem sido implicado ainda na internacilização (proteínas de ligação à fibronectina (FnBPs) promovem a fixação de *S. aureus* na superfície da célula hospedeira, e subsequente internalização de fagócitos), evasão imune, agregação e principalmente na formação do biofilme bacteriano. A maioria dos MSCRAMMs é codificada no genoma do núcleo, por conseguinte, são caracteristicamente estáveis e possuem transferência hereditária vertical. Por esta razão, o sucesso de clones de (MRSA) não tem sido, em geral, ligado a um MSCRAMM específico. A única exceção é a adesina recentemente descrita, (SasX), associada com a colonização e infecção excepcional do clone de (MRSA ST239), embora (SasX) seja codificada sobre um MGE (mobile genetic elements) (Chavakis et al., 2005; Li et al., 2012; Sinha et al., 2010).

Apenas recentemente, *Staphylococcus aureus* foi reconhecido como um agente patogênico intracelular facultativo. Esta capacidade permite à espécie mais um tipo de proteção contra o sistema imune de defesa do hospedeiro. A mesma pode persistir em um estado “semi-dormecido” conhecido como (SCV) do inglês (*small colony variants*), pequenas colônias variantes onde a expressão da virulência é “desligada”, o que torna o micro-organismo intrinsecamente resistente a sediar ataques do sistema imune e antibioticoterapia (Sendi et al, 2009; Sinha et al., 2010; Voyich et al., 2005).

A expressão coordenada desses fatores de virulência é controlada por elementos reguladores globais, incluindo: dois sistemas de regulação de componentes (TCTs), onde o (Agr) gene acessório regulador e uma exoproteína (SaeRS) são os mais relevantes. O segundo sistema de regulação é representado pelo regulador global de

transcrição, tal como o regulador acessório estafilocócico (SarA), e o homólogo de (SarA), assim como (Rot) além de (SarT), (SarS), (SarR), (SarU), (SarV), (SarX), (SarZ), (MgrA) e (TeaR). A diferença do conteúdo genético de cepas diferentes é a base molecular de sua diferença na capacidade infectiva, tão variada e tão específica para cada tipo de patologia causada. A extensa gama de doenças provocadas pelo *Staphylococcus aureus* resulta da ativação de uma rede de regulação intrincada, criada pela ativação destes reguladores, a fim de responder a estímulos ambientais (Arvidson et al., 2001; Adcock, 1998; Cheung, 2004; Cheung, 1998; Giraudo, 1999; Lowy, 1998; Luong et al., 2003; McNamara, 2000; Novick, 2003; Rogasch, 2006; Said et al., 2003).

1.4 RESISTÊNCIA DOS *S. aureus* AOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

Staphylococcus aureus tem um genoma com tamanho aproximado de 2800 Kb, que está formado por um único cromossomo circular, onde se encontram elementos genéticos móveis, bacteriófagos, plasmídeos, transposones e sequências de inserção (Pattee et al., 1990). O estudo destes elementos permitiu explicar os mecanismos de transferência genética entre cepas, que ocorreu mediante processos de conjugação, transdução, transformação e mobilização por meio de plasmídeos conjugativos. (Archer, 1991; Skurray, 1997). Os transposones são fragmentos móveis de DNA geralmente cercados por sequências repetidas, seu comprimento varia de poucos a milhares de pares de bases. A transposição tem lugar através de dois mecanismos: um consiste na excisão do elemento móvel para posteriormente inserir-se no DNA alvo, o outro consiste em um mecanismo de retrotransposição que mediante os transposons gera uma cópia de si mesmo e se insere no DNA alvo.

As enzimas que catalisam os cortes destes elementos são específicas e são codificadas nos próprios transposons, como no caso do (Tn551) portador do gene (*ermB*), que confere a resistência a eritromicina (Khan et al., 1980), (Tn 4001), portador de genes que codificam a resistência a kanamicina, tobramicina e gentamicina (Lyon, 1984), (Tn, 4003), codificador da resistência a trimetopin (Rouch et al., 1989), (Tn552) contem o gene (*ermA*) que confere a resistência à penicilina, pela produção de penicilinase (Rowland et al., 1989); (Tn554) que contém os genes (*ermA*) para a resistência a eritromicina e o gene (*spc*) referente à espectinomicina (Murphy et al., 1985). Os elementos mais utilizados na transferência genética são (Tn551) e

(Tn554) que se encontra com grande frequência no cromossoma de (MRSA) e são utilizados para sequenciamento epidemiológico de clones epidêmicos (Kreiswirth et al., 1990; Figueiredo et al., 1991; Dominguez et al., 1994).

Os antibióticos podem exercer sua ação de forma bacteriostática (inibindo crescimento) ou de forma bactericida (matando o microorganismo). Isto pode ocorrer mediante o processo de inibição da síntese da parede celular, como nos betalactâmicos e glicopeptídeos que atuam inibindo distintos processos envolvidos na síntese do peptídeoglicano. Podem ainda inibir a síntese proteica atuando em diferentes níveis das subunidades dos ribossomos 30S e 50S, como ocorre com os aminoglicosídeos, tetraciclina, macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas, cetolídeos, cloranfenicol, ácido fusídico e mupirocina. Além disso, podem bloquear a síntese dos ácidos nucleicos como no caso das sulfonamidas, trimetropin e quinilonas, que atuam inibindo o metabolismo do ácido fólico, e que interfere na síntese de replicação de DNA ou da rifampicina que afeta a transcrição inibindo a (RNA-polimerase) dependente do DNA (Konemann et al., 2012). Mudanças nos ecossistemas naturais, incluindo o uso de grandes quantidades de agentes antimicrobianos, alteraram a dinâmica das populações de micro-organismos, incluindo a seleção de resistência, com consequências para a saúde humana difíceis de serem previstas (Martinez, 2008).

O surgimento da ocorrência da resistência a metilina para esta espécie de *Estafilococos* limitou o tratamento que antes era bem sucedido com antimicrobianos da classe betalactâmicos. Esta se tornou possível graças a aquisição por parte do *Staphylococcus aureus* do gene (*mecA*) (Muligan et al., 1993; Hiramatsu et al., 2001; Deuremberg et al., 2007; Rodriguez-Baño et al., 2006). Com o passar do tempo estes micro-organismos desenvolveram mecanismos de resistência a outras classes de antimicrobianos. Entre elas incluímos a estreptomicina e a eritromicina (Grundmann, 2006; Khan e Novick, 1980), gentamicina e quinilonas (Townsend et al., 1987). A vancomicina ou teicoplanina (glicopeptídeos) passaram a ser o tratamento de eleição para as infecções por (MRSA), porém também para este tipo de antimicrobiano aparecem mecanismos de resistência (Keiich et al., 2001).

Basicamente, a resistência a metilina em *Staphylococcus aureus*, esta relacionada à presença de dois genes: (*mecA*) e (*mecC*), especialmente o (*mecA*), codifica a síntese de uma nova proteína fixadora de penicilina (PBP2a), que produz uma diminuição da afinidade por antibióticos betalactâmicos. As PBP(s) são proteínas

localizadas na membrana bacteriana que catalisam as reações de transpeptidizações do peptídeoglicano durante a síntese da parede celular. Sem isto, esta parede é instável e débil, mecanicamente haverá a saída de líquido celular e morte bacteriana (Georgopapadakou et al., 1986; Giesbrecht et al., 1998; Berger Bächli et al., 1998). A PBP2 confere resistência a todos betalactâmicos (incluindo cefalosporinas, penicilinas, carbapenens e monobactams).

Outros mecanismos de resistência são observados, tais como quando usamos usando-se a oxacilina, para teste. Isto ocorre devendo-se a hiperprodução das betalactamases estafilocócicas, ou ainda pela modificação das PBP1, 2, e 4. Embora os métodos fenotípicos sejam utilizados, especialmente em países de menor poder aquisitivo para identificação do gene (*mecA*), o padrão ouro para identificação do gene é a PCR (Polymerase Chain Reaction) (Batista et al., 2008).

Tabela 2 – Mecanismos de Resistência aos Antibióticos de *S.aureus* e Genes Associados

Antibiótico	Ação Celular	Genes de Resistência	Mecanismo de Resistência
Betalactâmicos	Betalactamases	<i>blaZ</i>	Hidrolise enzimática do núcleo betalactâmico
	PBP 2a	<i>mecA</i>	Baixa afinidade para PBP(s)
Aminoglicosídeos	RNAr 30S	<i>aacA-aphD</i> , <i>aadA</i> , <i>aadD</i> , <i>aadD</i> , <i>aphA</i> , <i>aphC</i> , <i>spc</i> , <i>strA</i> .	Modificação por acetiltransferase, adeniltransferase ou alteração ribossomal das fosfotransferases
Cloranfenicol	RNAr 50S	<i>Cat</i>	Modificação por acetiltransferase
Fluoroquinolonas	DNA girase	<i>gyrA</i> / <i>gyrB</i> <i>norA</i>	Mutações nos genes de DNA girase, bombas de expulsão,

		<i>grlA</i> (ou <i>parC</i>)	mutações no gene da DNA topoisomerase IV.
Fosfomicina	Síntese do ácido N-cetil-Murâmico	<i>fosB</i>	Modificação por uma glutationa-transferase
Ácido Fusídico	Fator de alongação G	<i>fusA/fusB</i>	Alteração do fator de alongação G/ diminuição da permeabilidade.
Glicopeptídeos	Complexo s D - A 1 a - D - A 1 a	<i>Desconhecido</i>	Sequestro pela parede celular
Macrolídeos, Lincosaminas	RNAr 50S	<i>Van A</i> <i>ermA</i> , <i>ermB</i> , <i>ermC</i> , <i>msrA</i>	Metilação do RNA Bombas de expulsão
Mupirocina	Isoleucil-RNA sintetase	<i>mupA</i>	Produção de uma isoleucil-RNA sintetase modificada
Rifampicina	Subunidade e β da RNA polimerase	<i>rif</i>	Alterações na RNA polimerase
Sulfonamidas	Síntese de Ácido tetra-hidrofólico	<i>sula</i>	Sobre produção de Ácido p-aminobenzoico
Tetraciclinas	RNAr 30S	<i>tetA(K)</i> , <i>tetA(L)</i> <i>tetA(M)</i>	Bombas de expulsão Proteção Ribossomal
Trimetoprim	Síntese de Ácido Tetra-hidro-fólico	<i>DfrA</i>	Bypass, por uma dihidrofolato redutase

Fonte: Carmen Borraz Ordas, 2016.

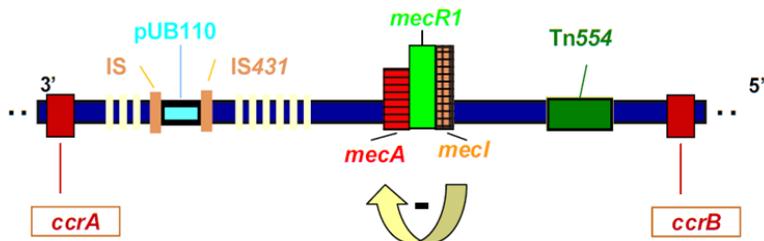
1.5 GENE *mecA*

É o determinante genético de resistência a meticilina de localização cromossômica que codifica a síntese da (PBP2a), (Hartman et al., 1984; Ubukata et al., 1985; Chambers et al., 1985; Chambers et al., 1987). Conta com dois genes reguladores o gene (*mecR1*), e o gene (*mecI*), que codifica a proteína repressora de transdução do gene (*mecA*) e o gene (*mecI*), que codifica a proteína repressora da transcrição do gene (*mecA*), (De Lencastre et al., 1994). A transcrição do gene (*mecA*), se produz quando um betalactâmico chega a uma célula, se une ao receptor-domínio de união à penicilina da membrana citoplasmática codificado pelo gene (*mecR1*), desencadeando-se um sinal que induz a protease auto catalítica a unir-se a (*mecI*), o qual está bloqueando a região operadora de (*mecA*). Desta maneira fica livre o operon de (*mecA*) sendo possível a expressão de (PBP2a) (Zhang et al., 2001; Archer et al., 2001; Hiramatsu et al., 2001).

Sobre o surgimento do gene (*mecA*), existem várias hipóteses, inicialmente pensava-se que o gene tinha sido adquirido de outra espécie que não *Staphylococcus aureus*. (Beck et al., 1986; Berger-Bachi et al., 1994). Posteriormente surgiram hipóteses de que os mesmos poderiam ter sido adquiridos de *Staphylococcus coagulase* negativos (Archer et al., 1994). Uma analogia entre o *Staphylococcus aureus* e o *Staphylococcus sciuri* de 88% no gene (*mecA*), entre estas duas espécies foi descoberta (Couto et al., 1996; Wu et al., 1996). Igualmente em relação ao *Staphylococcus epidermidis* foi comprovada a transferência do gene (*mecA*), de *S.aureus* para este (Wielders et al., 2001).

Mais recentemente os métodos baseados em PCR utilizados foram estandardizados. Cepas sensíveis ocasionais que expressam um gene não funcional ou não expressam (*mecA*), são detectados, porém a presença de (*mecA*), se considera geralmente potencial de resistência e se utiliza para identificar *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. A resistência que não é mediada por (*mecA*), não será detectada (Murakami et al., 1991; Tokue et al., 1992).

Figura 2: Representação do Gene *mecA*



Legenda: Representação de um fragmento de DNA cromossômico de (MRSA) com os seguintes elementos: região reguladora do gene *mecA* composta pelos genes *mecI* e *mecR1*, plasmídeos (pUB11), seqüências de inserção (IS 431), transposons (Tn554) e genes cromossômicos das recombinases A e B (*ccrA* e *ccrB*). Fonte: De Lencastre et al., 1999.

Dois teorias básicas tentam explicar a origem do gene (*mecA*), e a distinção entre as linhas filogenéticas distintas. A primeira teoria afirma que o gene (*mecA*), incorporou-se ao (MRSA), a partir de linhas evolutivas distintas (Kreiswirth et al., 1993). Teorias mais recentes evidenciam que o gene (*mecA*), foi sendo transferido de linhas genéticas distintas numa transferência horizontal do gene (*mec*), contribuindo para a evolução do (MRSA) (Enright et al., 2000; Enright et al., 2002; Wienders et al., 2002; Hiramatsu et al., 2004). Autores como Musser et al (1992) realizaram análises de MLEE (*multilocus enzyme electrophoresis*), MLST (*multilocus sequence typing*), Enright et al, (2002) e Hanssen et al, (2004) realizaram PFGE (*eletroforese em campo pulsado*), concordam que houve uma transferência horizontal do gene *mecA* entre cepas pertencentes a linhas genéticas distintas.

Outros mecanismos de resistência a meticilina são descritos na literatura hoje em cepas que não possuem o gene *mecA*, que se associam a CIMs de meticilina entre 6 e 8 g/mL. Entre os mecanismos que determinam a resistência não mediada pelo gene *mecA*, em cepas que tem uma hiperprodução de penicilinase, estão as denominadas cepas BORSA (*bordline Staphylococcus aureus*), que sintetizam uma quantidade importante de lactamase e não tem nem o gene *mecA*.

Nestas cepas (BORSA) a sensibilidade a oxacilina pode recuperar-se quando se associa com um inibidor de lactamase sendo este o melhor método para sua detecção fenotípica. Como é o caso de quando quer se detectar a resistência induzida a Clindamicina. Além

desta forma referenciada acima, algumas cepas são capazes de hidrolisar a meticilina na ausência do gene *mecA*. Pode ocorrer ainda em termos de resistência não mediada pelo gene *mecA*, modificações das PBPs, são as denominadas cepas MODSA (*modified Staphylococcus aureus*), são resistentes a baixos níveis de oxacilina e não produtoras de betalactamase (McDougal et al., 1986; Massidda et al., 1996; Sierra-Madero et al., 1988; Tomasz et al., 1989).

Mesmo sendo um pré-requisito para a resistência a meticilina, o gene *mecA* não é o único responsável pelo nível ao qual a resistência é expressa. Sabe-se também que o nível de PBP2a, não está relacionado diretamente ao nível fenotípico de resistência. Outros fatores cromossomicamente determinados, tais como o operon (*femAB* - Fatores essenciais para a expressão da resistência a meticilina), que atuam como genes reguladores, são essenciais para a expressão da resistência a meticilina em *Staphylococcus aureus*. A cooperação entre esses determinantes, (*femA* e *mecA*), parece ser necessária, mas o mecanismo como isto ocorre, ainda não está devidamente elucidado. Os mesmos, aparecem tanto em cepas sensíveis como resistentes de MRSA, (Berger-Bachi et al., 1989; De Lencastre et al., 1994). Além disso existem genes cromossômicos cujas mutações mantêm *femAB*, são os genes *chr* (Zhang et al., 2001).

O operon cromossômico (*femAB*), pertence aos genes críticos para o metabolismo celular (housekeeping genes) dos *Staphylococcus aureus* e é encontrado em todas as cepas dessa espécie e alelos (*femAB*) similares na organização e na sequência foram identificados nos *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus haemolyticus*. O operon surgiu por duplicação do gene e codifica para duas proteínas citoplásmicas similares que são produzidas, principalmente, durante a fase exponencial de crescimento, (*femA*) e (*femB*) que estão envolvidos na formação da cadeia lateral da pentaglicina que é ligada a L-lisina da haste peptídica do peptidoglicano. Os peptídeos da pentaglicina são longos e flexíveis, e permitem uma elevada ligação cruzada entre o grupo funcional dos peptídeos da cadeia única de peptidoglicano, observada em paredes celulares de *Staphylococcus aureus*. Enquanto em células sem o gene (*femB*) as pontes cruzadas de triglicina podem ser formadas, a composição da parede celular de mutantes com (*femAB*) pouco transcrito é indicativa que (*femA*) é responsável pela adição dos segundos e terceiros resíduos de glicina.

A perda do operon (*femAB*), causa resistência dos cocos ao efeito bactericida da proteína lisostafina, uma potente hidrolase de peptidoglicano secretada pelo *Staphylococcus simulans*, devido ao

encurtamento da ponte interpeptídica de glicina; adicionalmente, causa a hipersusceptibilidade a meticilina, apesar da presença da proteína (PBP2a), em *Staphylococcus aureus* (*mecA*), positivos. Portanto, a inativação do operon (*femAB*,) e os betalactâmicos parecem agir de maneira sinérgica (Moussallem et al., 2009).

1.6 STAPHYLOCOCCAL CASSETTE CHROMOSOME - SCCMEC

Uma estrutura móvel no cromossoma estafilocócico denominada de cassete juntamente com o gene *mecA* forma o SCCmec (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*). É um elemento genético inserido no cromossoma de MRSA, em uma localização específica no extremo 3' do fragmento aberto de leitura (ORF), cuja função é desconhecida até agora. Sua mobilidade se deve a presença dos genes únicos e específicos (*ccrA*) e (*ccrB*), que codificam as recombinases do cassete cromossômico (A e B) (Ito, 1998; Ito, 1999; Katayama et al., 2000; Kuroda et al., 2001; Baba et al., 2002).

Até o momento foram descritos vários tipos de SCCmec em função das características dos genes *ccr*, e sequências adjacentes, assim como a sequência da zona *mec*, e seus genes reguladores. Também se diferenciam segundo os determinantes genéticos adquiridos como resultado da integração de plasmídeos e transposons. Segundo a IWG-SCC (*International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements*), já foram identificados 11 tipos de SCCmec e um determinado número de variantes e subtipos (IA, IIIA, IIIB, IVA, IVB, IVC), classificados com base na sequência da região J (junkyard), sendo sete as últimas variantes descritas (IIA, IIB, IIC, IID, IIE, IVE e IVF). As variações ocorrem na composição genética e no tamanho (20 a 60 Kb) (Ito et al., 2001; Ito et al., 2004; Oliveira et al., 2001; Ma et al., 2002; Okuma et al., 2002).

O SCCmec é constituído de dois complexos: o complexo *mec*, que contém o gene (*mec*), e os genes que regulam sua expressão (*mecI* e *mecRI*), e o complexo *ccc*, (*cassete chromosome recombinase*), que contém o mecanismo de recombinação necessário para inserção no cromossomo. Esta localização é denominada de ISS (Sítio de Integração da Sequência ou Integration Site Sequence) (Hanssen e Sollid, 2006). As características genéticas dos complexos (*mec*) e (*ccr*), além das estruturas intermediárias delimitadas pelas sequências de repetição são usadas para classificar o SCCmec com fins epidemiológicos e representam uma tendência na filogenia destes micro-organismos, a fim de que mundialmente as regras de definições de subespécies sejam as

mesmas (Hanssen e Sollid, 2006; Kondo et al., 2012; Zhang et al., 2005).

Atualmente, sua classificação é coordenada por um grupo de trabalho internacional para classificação de SCCmec, já referido acima que é o *International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements* (IWG-SCC). Os clones mundiais que faziam parte da coleção dos isolados analisados receberam a seguinte nomenclatura: clone USA100 (Nova Iorque/Japão), USA200 (E-MRSA-16), USA500 (clone ibérico), USA800 (clone pediátrico). O clone brasileiro não foi encontrado nesta coleção, não sendo, portanto, reclassificado.

Em relação aos diferentes genes *mec*, estes diferem por comparação com o gene (*mecA*), do *Staphylococcus aureus* N315, primeiro MRSA, sequenciado completamente (Ito et al., 2012). A captação de linha genéticas de *Staphylococcus aureus* sensíveis a meticilina foram dando lugar a linhas genéticas de MRSA (Hanssen e Sollid, 2006). Além disso, a constante presença deste gene neste micro-organismo poderia ter atuado como reservatório do mecanismo de resistência para o *Staphylococcus aureus*. A aquisição horizontal da resistência a meticilina em *Staphylococcus aureus* se produziu a partir de diversos eventos genéticos independentes entre si, tal como reflete a diversidades de estruturas do SCCmec que ocorrem nestes micro-organismos (Feil et al., 2003; Deurenberg et al., 2007). O número de linhas genéticas de *Staphylococcus aureus* que adquiriram este cassete é limitado, observando-se uma maior heterogeneidade nas populações de isolados sensíveis a meticilina (Grundmann et al., 2010; Sykes, 2010).

1.7 COLONIZAÇÃO/CONTAMINAÇÃO

Staphylococcus aureus é um micro-organismo que sobrevive de forma comensal com o ser humano e com animais. Percebe-se atualmente, especialmente em países com menos recursos, um aumento na prevalência de MRSA. Em humanos o mesmo coloniza especialmente a pele e mucosas especialmente as das narinas, apesar de vários locais do corpo poder ser colonizados, porém as narinas são os locais de transporte preferencial deste micro-organismo (White, 1963; Nouwen, 2005).

A exposição repetida à *Staphylococcus aureus* nos ambientes em que se vive é considerado um determinante importante na colonização pelo mesmo, provavelmente mais que o fundo genético dos indivíduos. Em geral uma gênese multifatorial explicaria a colonização

por este micro-organismo em grande parte da população. Com a finalidade de controlar a propagação deste patógeno se faz necessário identificar quais são os fatores mais importantes na adesão dos mesmos aos hospedeiros. Estudos, tem sido feitos neste sentido, além de alterar o foco de estudos dos mecanismos de aderência para os epítomos mais prevalentes nas narinas. Até o momento não há evidências que a descolonização das narinas de pacientes colonizados seja efetiva em pacientes pré-cirúrgicos, da mesma forma a descolonização extra nasal se comporta igualmente, previamente a procedimentos cirúrgicos, as drogas utilizadas para esta finalidade (descolonização), são principalmente a clorexidine e mupirocina (Kalmeijer, 2002; Wertheim, 2004).

Até agora, existe a preocupação apenas com o aumento do risco de *Staphylococcus aureus* em portadores nasais que adquirirem infecções por este micro-organismo. No entanto, estudos da OMS (Organização Mundial da Saúde), têm mostrado que os não-portadores tem a possibilidade de adquirir de forma exógena infecções por *S. aureus* com um aumento de quatro vezes na taxa de mortalidade em comparação aos portadores nasais de MSSA (Wertheim, 2004). Assim, os mecanismos imunológicos de transporte nasal desta bactéria precisam ser elucidados em não-portadores também. Prevenir a aquisição de cepas é a forma de controlar a proliferação de doenças estafilocócicas. Campanhas de formas de prevenção precisam ser feitas à população em geral neste sentido (Wertheim, 2004).

Em relação à colonização em profissionais de saúde, vários estudos transversais e longitudinais buscam evidenciar a prevalência de colonização tanto de *Staphylococcus aureus* bem como de sua forma resistente, buscando não somente a colonização nasal como salivar e em outras áreas anatômicas. A figura 3 ilustra como pode ocorrer o transporte de *Staphylococcus aureus* entre profissionais de saúde e pacientes em ambientes hospitalares. A prevalência de transporte de MRSA em profissionais de saúde é altamente variável, dependendo do local, tipo de serviço hospitalar, da prevalência de MRSA entre os pacientes e do tipo de contato (Biotech Week, 2016).

Figura 3 - Dinâmica da transmissão do MRSA entre pacientes, profissionais de saúde e meio ambiente.

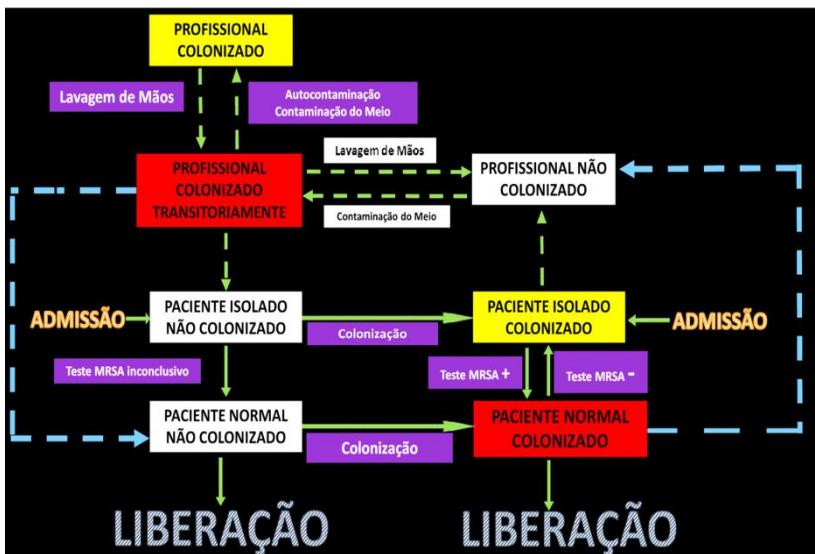


Figura 3 - Dinâmica da transmissão do MRSA entre pacientes, profissionais de saúde e meio ambiente. Setas sólidas representam movimento de indivíduos, e setas interrompidas indicam a transmissão entre PS e pacientes; caixas vermelhas e amarelas são fontes de contaminação ou de colonização. Pacientes colonizados podem ser liberados do isolamento após um resultado falso-negativo ou um resultado verdadeiro negativo de uma amostra para ensaio recolhida antes da colonização. Caixa PS transitoriamente contaminado" é um agrupamento conveniente de ambos os PS colonizados e não colonizados. PS= Profissional de Saúde – Adaptado de (Hall et al., 2016).

Vários estudos demonstram que o cumprimento das regras básicas de higiene, tais como o uso de soluções hidro alcoólicas, nas mãos, durante o atendimento, pode reduzir o risco de colonização nasal por *Staphylococcus aureus*. Membros da equipe médica representam um risco de infecção e são uma fonte potencial de patógenos hospitalares, tais como MRSA (Omine, 2012; Nagahama, 2013).

1.7.1 Colonização/Contaminação em odontologia

Dentre os nove milhões de pessoas que trabalham em serviços de saúde nos Estados Unidos, 608 mil representam equipes de saúde

oral (Fariba, 2010). A razão para atualmente existir uma maior possibilidade de colonização em profissionais, pacientes e superfícies odontológicas, deve-se a introdução de novos equipamentos nos últimos anos na odontologia. Estes contribuem significativamente para que os consultórios e ambientes clínicos sejam impregnados por aerossóis biológicos (Cotone et al., 1991).

Staphylococcus aureus pode permanecer no ambiente clínico e em superfícies por até cinco dias (Crawford et al., 1983). Isto ocorre também em ambientes hospitalares onde as superfícies em salas ocupadas por pacientes positivos com MRSA podem contaminar as mãos dos profissionais de saúde mesmo na ausência de contato direto com o paciente (Schmitz et al., 1998). Assim como os equipamentos utilizados no atendimento dos pacientes podem estar contaminados com MRSA, os quartos dos pacientes e os objetos neles localizados também podem atuar como reservatórios de transmissão de agentes resistentes (Oie et al., 1996). Em 73% dos quartos dos pacientes infectados por MRSA tem superfícies contaminadas (Boyce et al., 1997). Estes dados, sobre a colonização em ambientes e pacientes nosocomiais estão inseridos pois coincidem estudos que presumem que em procedimentos odontológicos a possibilidade de colonização é semelhante aos trabalhadores de atuação em Unidades de Terapia Intensiva Hospitalar (Martínez e Ruíz, 2014).

O fator proteção facial através de máscaras e respiradores é importante, porem parece não ser suficiente nas rotinas e protocolos de biossegurança em consultórios odontológicos e clínicas pertencentes à academia. Chen et al., (1992), relatam que embora a máscara cirúrgica possa ser suficiente para eliminar as bactérias exaladas pelos profissionais de saúde, elas podem não ser suficientes para filtrar os aerossóis de tamanho submicrométricos contendo agentes patogênicos a que estes profissionais de saúde são potencialmente expostos.

Embora a diversidade de micro-organismos presentes na cavidade oral, seja bem relatada na literatura, continua a haver uma considerável controvérsia sobre se *Staphylococcus aureus* desempenham um papel na ecologia da flora normal da mesma. Pesquisadores buscam estabelecer uma relação entre o papel desempenhado na ecologia da cavidade oral por *Staphylococcus aureus* tentando estabelecer uma relação entre as patologias agudas e crônicas da mesma e a presença deste micro-organismo, seja fazendo parte da flora normal, seja fazendo parte da flora transitória desta cavidade.

O principal mecanismo de transmissão de MRSA, é o contato interpessoal direto, porém como vimos anteriormente a transferência

indireta através de superfícies ambientais contaminadas também pode ocorrer (Boyce et al., 1997; Boyce et al., 2002), bem como a transmissão através do ar (Shiomori et al., 2001; Shiomori et al., 2002). Um número crescente de aparentemente inócuas vias de transmissão têm sido descritas incluindo equipamentos e aparelhos de uso em odontologia (Brady et al., 2007). Além disso, múltiplos fatores próprios do hospedeiro, tais como a qualidade da cicatrização e taxas de infecção da ferida operatória pode contribuir para a aquisição de MRSA (Bumpous et al., 1995). Unidades de terapias intensivas e unidades cirúrgicas são ambientes de alto risco para a aquisição deste micro-organismo resistente. Os pacientes com maiores tempos hospitalizados possuem mais chances para adquirirem MRSA, exatamente pelo tempo em que lá permanecem (maior que os demais), e pelas condições sistêmicas e imunidades debilitadas (Plowman et al., 2000).

1.8 JUSTIFICATIVA

As possibilidades de colonização no ambiente odontológico muito se assemelham às condições de aquisição em ambiente hospitalar, com o agravante da geração de aerossóis de forma intermitente que ocorre em consultórios odontológicos e em especial em clínicas acadêmicas devido ao maior número de sprays gerados e superfícies existentes. Somado a estes fatores os EPI(s) de proteção facial não garantem a filtragem adequada de partículas submicrométricas contaminadas. Ressalta-se ainda fundamentalmente o avanço na Odontologia nas áreas cirúrgicas, onde os procedimentos se tornaram mais invasivos a partir da introdução em larga escala de implantes e enxertias ósseas. Considerando todos estes fatores, justifica-se o estudo sobre a colonização em profissionais e ambientes odontológicos que em tese possam ser tão prevalente quanto à profissionais de Unidades de Terapias Intensiva.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Comparar a colonização nasal e salivar por (MSSA) e (MRSA), em profissionais e acadêmicos de odontologia com profissionais de uma Unidade de Terapia Intensiva.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a prevalência de colonização em superfícies odontológicas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina
- Determinar a prevalência nasal e salivar de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina em profissionais, acadêmicos e superfícies da odontologia;
- Determinar a prevalência nasal e salivar de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina em funcionários de uma UTI Geral em um Hospital de grande porte;
- Detectar a presença dos genes (*mecA*) e (*lukS-lukF*) em *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina;
- Conhecer o perfil fenotípico dos *Staphylococcus aureus* isolados;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Os participantes do estudo foram convidados e para os mesmos foi detalhado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), obtendo-se assim a voluntariedade na participação do estudo. As assinaturas ocorreram no momento da coleta das amostras. O projeto de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da UNESC (Universidade do Extremo Sul Catarinense), Brasil, conforme parecer consubstanciado número 887.907, de 29 de Outubro de 2014.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO:

Foram coletadas amostras de saliva e de nasofaringe de diferentes grupos. O grupo comparação foi composto por funcionários de uma UTI Hospitalar Geral Adulta. As demais amostras foram obtidas de acadêmicos cursando os dois últimos anos de cursos de odontologia e de superfícies de ambientes odontológicos referentes a duas universidades distintas em localização geográfica e de cirurgiões-dentistas com dois ou mais anos de atuação efetiva em consultórios odontológicos juntamente com suas respectivas auxiliares em saúde bucal.

Para a caracterização demográfica e profissional, além de outros dados qualitativos dos voluntários da pesquisa (Apêndice 1), foi utilizado um instrumento com questões abertas e fechadas. Este instrumento foi posteriormente após prazo definido, devolvido devidamente preenchido ao pesquisador.

3.3 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras da nasofaringe e da saliva, bem como das superfícies, foram coletadas com um swab denominado ESwab (Copan Italy), e transportados em meio de Amies modificado até o laboratório de microbiologia das Universidades I e II respectivamente e imediatamente processadas. (Vandendriessche et al., 2014; Silbert et al., 2014; Mukovnikova, 2014).

3.4. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

3.4.1 Identificação de *Staphylococcus aureus*

A identificação de *Staphylococcus aureus*, foi obtida através da cultura em meio ágar sal manitol a 36°C por 48 horas. A positividade para *Staphylococcus aureus* foi identificada quando o meio ao redor da sementeira se apresentou amarelo (Figura 4) (Konemann, 2011).

Figura 4: Crescimento de colônias de *Staphylococcus aureus*.



Fonte: O Autor (2015).

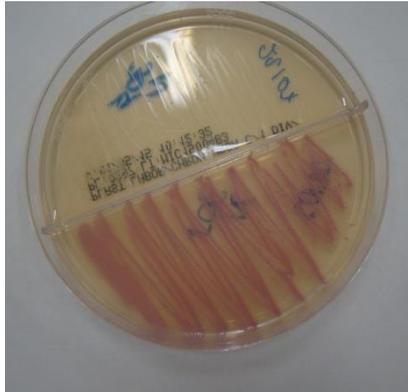
3.4.2 Identificação MRSA

3.4.2.1. Meio Cromogênico

Após a identificação da espécie *Staphylococcus aureus*, os isolados foram semeados em meio seletivo cromogênico (CHROMagar MRSA PL 0297.Plastlabor – Brasil), e incubados a 36°C durante um período máximo de 48 horas e as colônias de coloração malva foram classificadas como MRSA. O ágar contém uma substância cromogênica dourada para selecionar o crescimento do *Staphylococcus aureus* e um agente antimicrobiano que permite o crescimento somente das cepas resistente a oxacilina (Figura 5).

Como controle de qualidade foram utilizadas as cepas controle *Escherichia coli* - ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* - ATCC 25923 e *Staphylococcus aureus* - ATCC 43300 (Ohkushi et al., 2013; Merlino et al., 2000; Pao et al., 2012; Cerlana et al., 2004; Gaillot et al., 2009; Rahman et al., 2009; Goodwin et al., 2009; Philippe et al., 2014).

Figura 5 Crescimento de colônias de MRSA em CHROMagar MRSA.

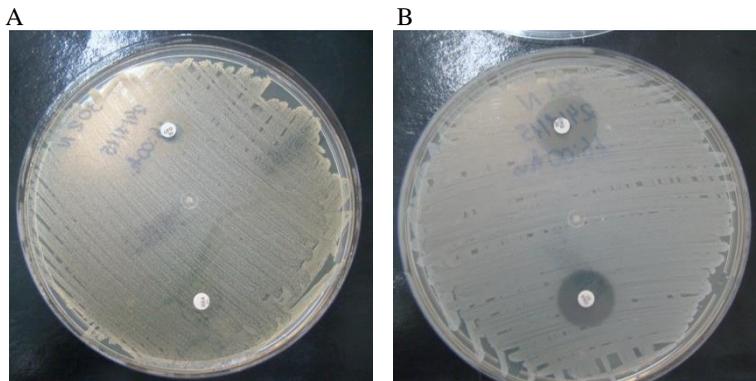


Fonte: O Autor (2015).

3.4.2.2. Teste de Susceptibilidade a antimicrobianos

Após o screening com meio cromogênico, amostras positivas foram submetidas, para comprovação da resistência, ao teste de susceptibilidade a cefotixina e oxacilina através da técnica de disco-difusão em Agar Mueller Hinton. As amostras consideradas como MRSA pelo método de difusão em disco foram armazenadas a uma temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ em caldo triptona de soja (TSB) acrescidas de 10% de glicerol, (James, 1993; Moncayo et al., 2015; Raddi et al., 2009; Mimica et al., 2012; Méndez et al., 2013; Cavassin et al., 2015). Figura 6 (A e B)

Figura 6 – Resistência/Sensibilidade Cefoxitina e Oxacilina.



Fonte: Do autor (2015).

3.4.3. Detecção dos Genes (*mecA*) e (*lukS-lukF*)

Para confirmar a resistência a MRSA, as amostras positivas foram submetidas à ensaios de PCR para detecção do gene (*mecA*) baseado em ensaio descrito por Kondo et al., (2007). A detecção do gene (*lukS-lukF*), responsável pela codificação da Leucocidina de Panton-Valentine (PVL) foi realizada de acordo com protocolo descrito por Ribeiro (2005).

3.4.4 Eletroforese de Campo Pulsado (Pulsed-Field Gel Electrophoresis – PFGE)

A Eletroforese de Campo Pulsado (PFGE), foi realizada utilizando protocolo adaptado de Pinto, (2013), e com condições de corrida descritas por McDougal et al., (2003). Os fragmentos de vários tamanhos são separados utilizando eletroforese em gel baseado no peso molecular. O chamado polimorfismo de fragmentos de restrição (RFLP) apresenta chances bastante grandes de ser utilizada como forma de identificação da bactéria (Hookey et al., 1998; Rezaee et al., 2016; Chadi et al., 2016).

3.5. ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DE DADOS

Os dados referentes a prevalência, perfil fenotípico, detecção dos gene (*MecA* e *LukS-LukF*) após coletados foram protocolados com codificação previamente definida e inserida em bancos de dados em Excel e exportada para o pacote estatístico SPSS (Statistical Package for

Social Sciences), versão 21.0 e analisados por meio de estatística descritiva (frequências relativas e absolutas) e inferencial (teste qui-quadrado) utilizando os valores de $p < 0,05$ como nível de significância sendo considerados estatisticamente significativos e a prevalência foram calculados com intervalo de confiança de 95%.

Para a caracterização demográfica e profissional, além de outros dados qualitativos dos voluntários da pesquisa, foi utilizado um Instrumento de Caracterização Profissional Qualitativa (Apêndice 1), com questões abertas e fechadas. Para a comparação de médias entre os grupos foi utilizado a análise de variância (One-Way ANOVA), seguido pelo teste post hoc Tukey. Para a análise dos dados nominais foram utilizados a análise de referência cruzada através da utilização do Teste Qui-Quadrado: de Pearson e razão de verossimilhança. O nível de significância estabelecido para todos os testes estatísticos utilizados foi de $p < 0,05$. Foi utilizado o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 20.0. A construção das figuras foram realizadas no software GrapPad Prism e as tabelas no Microsoft Word 2010, definida e inserida em bancos de dados em Excel.

4. RESULTADOS

4.1. POPULAÇÃO

A tabela 3 apresenta o número de participantes em números absolutos e porcentagem total, além de dados como idade, contato direto com o paciente e uso de EPI's. Foram incluídos na amostragem 40 superfícies das Universidades I e II, sendo 20 superfícies cada, totalizando 196 amostras. Dos participantes, 36 (24%), são funcionários da UTI; 47 (30%) da Universidade I; 23 (15%) da Universidade II; 31 (20%) são cirurgiões dentistas e 17 (11%), auxiliares em saúde bucal. A idade varia entre 26,55 a 40,39 anos e o contato com o paciente varia de 3,2 a 17,27 anos. Todos os participantes usam EPI's em seus procedimentos.

Tabela 3: Caracterização da população em estudo.

População	N	%	Idade (média)	Contato direto com paciente (anos)	Uso de EPI's (%)
Funcionários UTI	36	24	33,07	10,3	100
Acad. Univ. I	47	30	26,55	3,2	100
Acad. Univ. II	23	15	26,55	3,2	100
Cirurgiões dentistas	31	20	40,39	17,27	100
ASB	17	11	31,23	8,76	100
Total	154	100	-	-	100

Legenda: Univ. (Universidade); UTI (Unidade de Terapia Intensiva); ASB (Auxiliar em saúde Bucal); Acad. (Acadêmicos).

4.2. IDENTIFICAÇÃO *Staphylococcus aureus* (MSSA)

A figura 7A mostra os resultados da colonização nasal e salivar por MSSA, nos diferentes grupos. Em acadêmicos da Universidade I, 86%, nasal positivos e 35% - MSSA, salivar positivo ($p=0.005$); Na Universidade II, 52% - MSSA, nasal positivos e 48% - MSSA, salivar positivos ($p=0.84$); dos cirurgiões dentistas 47% - MSSA, nasal positivos e 23% - MSSA, salivar positivos ($p=0.54$); auxiliares em saúde bucal 65% - MSSA, nasal positivos e 41.17% - MSSA, salivar positivos ($p=0.34$). Finalmente 39% - MSSA, funcionários da UTI nasal positivos e 22% - MSSA, salivar positivos ($p=0.12$). Além disso, as colonizações identificadas em superfícies nas universidades indicam que na Universidade I, 04 de 20, apresentaram colonização por *Staphylococcus aureus* e na Universidade II somente 01 amostra de 20 apresentou esta colonização.

4.3. IDENTIFICAÇÃO DA RESISTÊNCIA POR MEIO CROMOGÊNICO

Na figura 7B, mostra os resultados da colonização nasal e salivar por MRSA, detectados por meio cromogênico. Nos acadêmicos da Universidade I 57% - MRSA, nasal positivos e 26% - MRSA saliva positivos ($p<0.005$). Na Universidade II 37% - MRSA, nasal positivos e 26% - MRSA, saliva positivos ($p=0.53$); Cirurgiões dentistas 23% - MRSA, nasal positivos e 17% - MRSA, salivar positivos ($p=0.56$); Auxiliares em saúde bucal 35% - MRSA, nasal positivos e 18% -

MRSA, salivar positivos ($p=0.31$); Funcionários da UTI 79% - MRSA, nasal positivos e 62% - MRSA, salivar positivos ($p=0.13$).

Em relação as superfícies da Universidade I, 02 áreas estavam colonizadas por MRSA –(50% do total), enquanto na Universidade II, 01 superfície a qual estava colonizada por *Staphylococcus aureus* também mostrou resistência em meio cromogênico (MRSA - 100%).

4.4. COMPROVAÇÃO DA RESISTÊNCIA POR TSA

A Figura 7C mostra os resultados da colonização nasal e salivar por MRSA, obtidos por TSA (Testes de susceptibilidade a oxacilina e cefoxitina) e foram realizados em todos os grupos que foram positivos MRSA para o meio CHROMagar MRSA. Dos acadêmicos da Universidade I 35% - MRSA, nasal positivos e 10% - MRSA, salivar positivos ($p=0.15$). Já entre os acadêmicos da Universidade II, nenhum deles apresentou resistência (0% - MRSA) nasal e salivar. Cirurgiões dentistas apresentaram 29% - MRSA, nasal positivo e 20% - MRSA, salivar positivos ($p=0.56$); Auxiliares em saúde bucal apresentaram 17% - MRSA nasal positivo e 33% - MRSA, salivar positivo ($p=1.00$). Dos funcionários da UTI 73% - MRSA, nasal positivo e 40% - MRSA salivar positivo ($p=0.96$). A proposta destes testes foi obter confirmação da resistência.

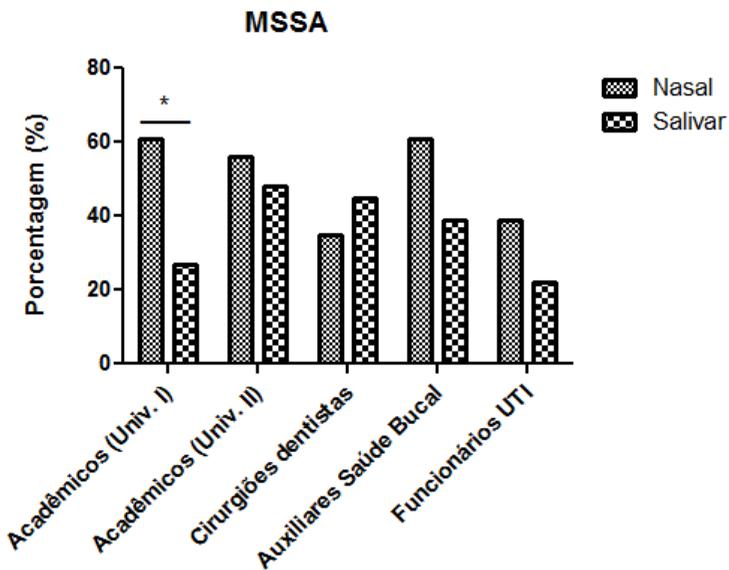


Figura 7A. Identificação de *S.aureus* (MSSA): mostra a porcentagem de *Staphylococcus aureus* nasal e salivar nos diferentes grupos. Existe diferença significativa entre colonização nasal e salivar no grupo de acadêmicos da Universidade I ($p=0.005$).

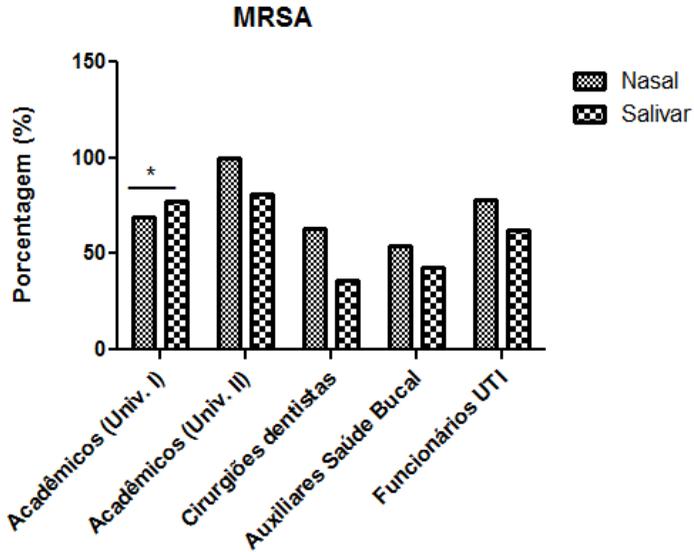


Figura 7B. Identificação da resistência por meio cromogênico: mostra a porcentagem de CHROMagar MRSA nasal e salivar nos diferentes grupos obtidos positivos para *Staphylococcus aureus*. Existe diferença entre colonização nasal e salivar em acadêmicos da Universidade I ($p < 0.005$)

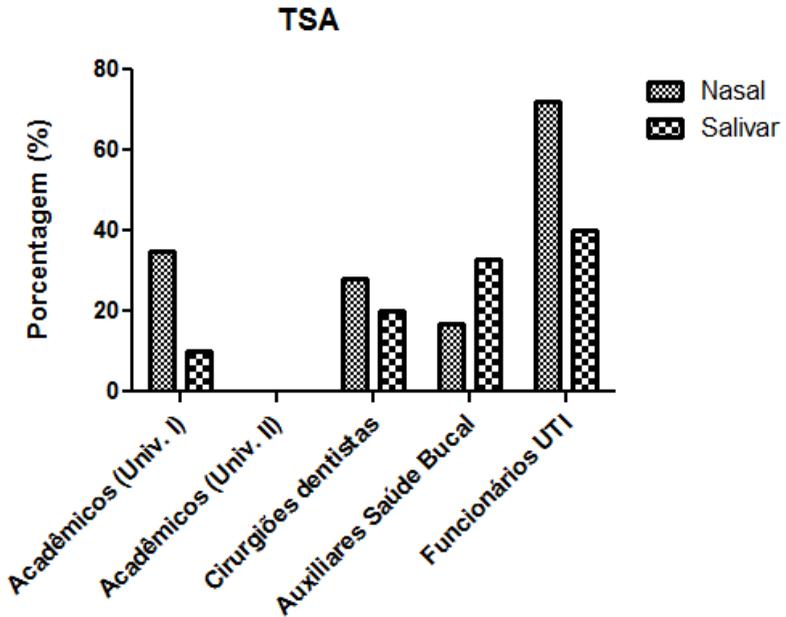


Figura 7C. Comprovação da resistência por TSA A figura mostra a porcentagem de colonização confirmadas pelo teste TSA MRSA positiva para nasal e salivar nos diferentes grupos obtidos da resistência a **CHROMagar MRSA**. Não existe diferença significativa entre colonização nasal e salivar nos grupos.

4.5. SIMILARIDADE ENTRE GRUPOS COLONIZADOS

4.5.1. Frequência Colonização nasal e salivar *Staphylococcus aureus*, (MSSA).

Referente à colonização nasal por *Staphylococcus aureus*, quando comparamos Universidade I, Universidade II, UTI e cirurgiões dentistas, a frequência de colonização na Universidade I é maior e estatisticamente significativa. Já nos demais grupos, não existe uma diferença estatisticamente significativa entre os mesmos. (Figura 8A). Na colonização salivar não apresenta diferença estatisticamente significativa de colonização entre os grupos (Figura 8B).

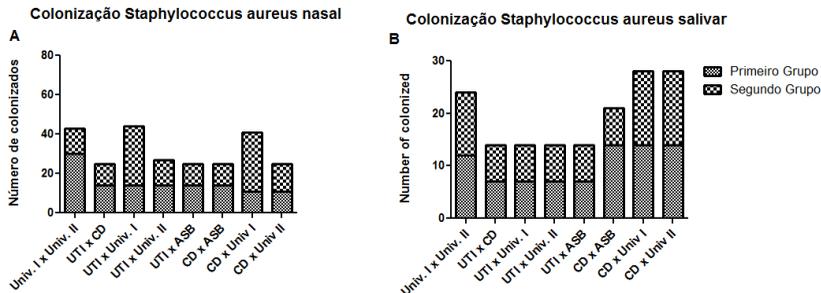


Figura 8A e 8B. Associação de colonização entre os grupos por *Staphylococcus aureus*, (MSSA) - Colonização de *Staphylococcus aureus* nasal (A) e salivar (B) Na figura A, Univ. I x Univ II ($p=0,005$); UTI x CD ($p=0,54$); UTI x Univ I ($p=0,005$); UTI x Univ II ($p=0,84$); UTI x ASB ($p=0,54$); CD x ASB ($p=1,00$); CD x Univ I ($p=0,005$); CD x Univ II ($p=0,68$). Na figura B Univ. I x Univ II ($p=1,00$); UTI x CD ($p=0,12$); UTI x Univ I ($p=0,25$); UTI x Univ II ($p=0,25$); UTI x ASB ($p=1,00$); CD x ASB ($p=1,27$); CD x Univ I ($p=0,69$); CD x Univ II ($p=1,00$).

4.5.2 Frequência Colonização nasal e salivar (MRSA) em meio CHROMagar MRSA

A figura 8C apresenta os resultados de resistência a *Staphylococcus aureus* (MRSA), em meio CHROMagar, a partir das amostras positivas obtidas anteriormente para (MSSA). Em relação à colonização nasal, comparando Universidade I, com o grupo de cirurgiões dentistas, temos uma maior frequência e estatisticamente significativa de acadêmicos colonizados em relação ao grupo de cirurgiões. Nos demais grupos não existem diferença estatisticamente significativa de frequência de colonização entre os mesmos.

A figura 8D apresenta os resultados de frequência de colonização salivar resistente (MRSA), em meio CHROMagar. Nestes, a colonização na Universidade II é maior e apresenta uma diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo funcionários da UTI (grupo controle) e cirurgiões dentistas. Nos demais grupos não existem diferença estatisticamente significativa de frequência de colonização entre os mesmos.

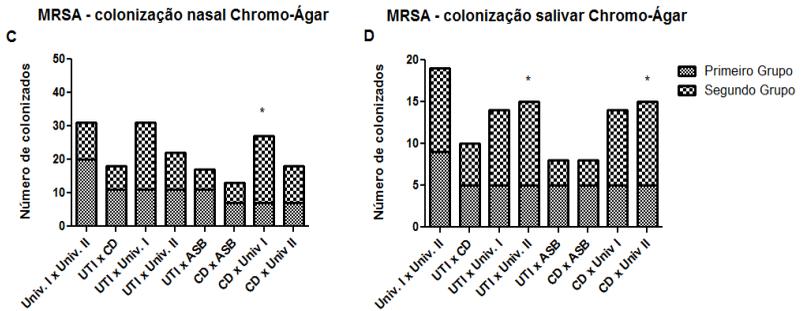


Figura 8C e 8D. Associação de colonização nasal e salivar (MRSA) em meio CHROMagar Figura 8C e 8D entre os grupos: Colonização de MRSA nasal (C) e salivar (D) por Cromo agar. Na figura C Univ. I x Univ II ($p=0,22$); UTI x CD ($p=0,34$); UTI x Univ I ($p=0,10$); UTI x Univ II ($p=0,82$); UTI x ASB ($p=0,22$); CD x ASB ($p=0,78$); CD x Univ I ($p=0,005$); CD x Univ II ($p=0,46$). Na figura B Univ. I x Univ II ($p=0,81$); UTI x CD ($p=1,00$); UTI x Univ I ($p=0,28$); UTI x Univ II ($p=0,05$); UTI x ASB ($p=0,48$); CD x ASB ($p=0,48$); CD x Univ I ($p=0,28$); CD x Univ II ($p=0,05$).

4.5.3. Frequência Colonização nasal e salivar por TSA

A figura 8E mostra que a frequência de colonização nasal por (MRSA) no grupo UTI é maior e estatisticamente significativa que a frequência de colonização no grupo auxiliares em saúde bucal e cirurgiões dentistas (Figura 8E).

Como não houve resistência entre os acadêmicos da universidade II não foi possível estabelecer uma associação estatisticamente significativa com outros grupos e acadêmicos da universidade I (Figura 8F). Em relação à frequência de colonização salivar entre os grupos, não existe diferença estatisticamente significativa de frequência de colonização entre os mesmos.

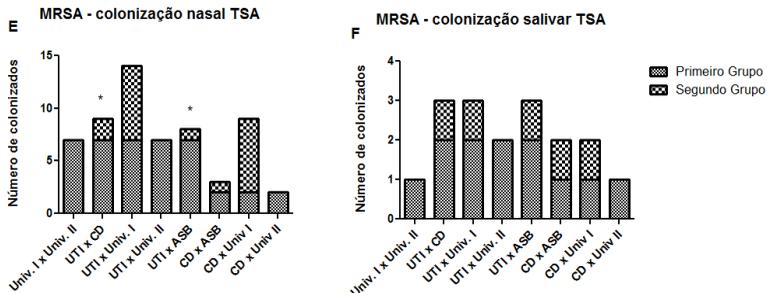


Figura 8E e 8F: Associação de colonização nasal e salivar (MRSA) por TSA entre os grupos. Colonização nasal (E) e salivar (F) por TSA. Na figure E Univ. I x Univ II (p= não foi possível); UTI x CD (p=0,09); UTI x Univ I (p=0,78); UTI x Univ II (p= não foi possível); UTI x ASB (p=0,005); CD x ASB (p=0,56); CD x Univ I (p=0,15); CD x Univ II (p= não foi possível). Na figure B Univ. I x Univ II (p= não foi possível); UTI x CD (p=0,56); UTI x Univ I (p=1,00); UTI x Univ II (p= não foi possível); UTI x ASB (p=0,56); CD x ASB (p=1,00); CD x Univ I (p=0,56); CD x Univ II (p= não foi possível). Univ. (Universidade); UTI (Unidade de Terapia Intensiva); CD (Cirurgiões Dentistas); ASB (Assistentes de saúde Bucal); TSA (Teste de susceptibilidade Antimicrobiana).

4.6. IDENTIFICAÇÃO DOS GENES *MecA* e *lukS-lukF*

Entre as amostras com gene *mecA*, 05 acadêmicos da mesma Universidade (Universidade I), outros 05 do grupo UTI e 01 amostra do grupo cirurgiões dentistas apresentaram gene *mecA*. Destes, 08 foram amostras de procedência nasal e 03 salivares. Quatro (04) amostras nasais destas apresentaram genes *lukS-lukF*-. Destas 04, 01 é referente ao grupo de C. Dentistas, 02 são do grupo Universidade I e 01 do grupo UTI.

Tabela 4 – Identificação dos genes *mecA* e PVL

Grupos	<i>mecA</i>	PVL
Acadêmicos (Univ. I)	05	02
Acadêmicos (Univ. II)		
Cirurgiões dentistas	01	01
Auxiliares em Saúde Bucal		
UTI	05	01

Legenda: Identificação dos genes *mecA* e PVL.

4.7 - INSTRUMENTOS DE CARACTERIZAÇÃO PROFISSIONAL

A tabela 5 apresenta os resultados que apresentaram significância estatística, referente às respostas obtidas quando da aplicação do Instrumento de Caracterização Profissional (Apêndice 1). O mesmo foi respondido pelos voluntários da pesquisa. Para algumas

questões inseridas, não houve respostas por parte dos voluntários entre os grupos.

Tabela 5: Variáveis com Nível de Significância Estatística

Variável	Nível de Significância
Uso de Antimicrobianos por conta própria – Grupo C. dentistas	p<0,05*
Frequência da Troca de Máscara	p<0,05*
Frequência da troca do Gorro	p<0,05*
Desinfecção do Óculos de Proteção	p<0,05*
Profissional de saúde colonizado por germes resistentes aos antimicrobianos oferece algum risco	p<0,05*
Resposta Não	
Durante a sua jornada de trabalho você	p<0,05*

4.7.1 – Uso de Antimicrobianos por conta própria:

Quando questionados em relação a utilização de antimicrobianos por conta própria, no grupo dos acadêmicos 9,4% (n=5) responderam que utilizam e 90,6% (n=48) responderam que não. No grupo dos funcionários da UTI 18,5% (n=5) responderam que utilizam e 81,5% (n=22) responderam que não. No grupo dos cirurgiões dentistas 34,8% (n=8) responderam que sim e 65,2% (n=15) que não e no grupo dos auxiliares de saúde bucal 100% (n=13) responderam que não. Houve diferença estatisticamente significativa referente a utilização de antimicrobianos por conta própria quando comparado os quatro grupos ($\chi^2= 11,410$, $p < 0,001$). A análise dos resíduos ajustados revelou que o grupo dos cirurgiões dentistas são os que mais utilizam os antimicrobianos por conta própria.

Tabela 6 – Frequência da utilização de Antimicrobianos por conta Própria

Frequência da utilização de Antimicrobianos por conta Própria	de				Diferença 4 Grupos
	Acadêmicos	Funcionários UTI	Cirurgiões Dentistas	Auxiliares Saúde Bucal	
Sempre	n	0	1	1	-
	%	0,0%	25,0%	12,5%	-
Esporadicamente	n	4	3	7	-
	%	100,0%	75,0%	87,5%	-
Total	n	4	4	8	-
	%	100,0	100,0	100,0	-

Teste estatístico Empregado: Teste Qui-Quadrado: *Razão de Verossimilhança

4.7.2 – Frequência da Troca de Máscaras:

Além de serem questionados quanto a utilização da máscara, responderam em relação a troca da mesma durante o expediente. Nesta questão 60,0% (n=93) da amostra responderam a esta questão, no qual: no grupo dos acadêmicos 81,1% (n=43) respondeu utilizar sempre, 17,0% (n=9) mencionou fazer a troca esporadicamente e 1,9% (n=1) respondeu nunca. No grupo dos funcionários da UTI 33,3% (n=2) respondeu trocar sempre, 66,7% (n=4) esporadicamente. No grupo dos cirurgiões dentistas 81,8% (n=18) respondeu trocar sempre e 18,2% (n=4) esporadicamente e no grupo dos auxiliares de saúde bucal 100,0% (n=12) respondeu trocar sempre. Houve diferença estatisticamente significativa em relação a frequência da troca da máscara durante o expediente. A análise de resíduos ajustados revelou que o grupo dos funcionários da UTI são os que menos fazem a troca da máscara sempre e são os que mais fazem trocas esporádicas.

Tabela 7- Frequência da Troca de Máscara

Frequência da Troca de Máscara		Acadêmicos	Funcionários UTI	Cirurgiões Dentistas	Auxiliares de Saúde Bucal	Diferença 4 Grupos
Sempre	n	43	2	18	12	$\chi^2=$ 12,773
	%	81,1	33,3	81,8	100,0	
Esporadicamente	n	9	4	4	0	p = 0,047 p<0,05
	%	17,0	66,7	18,2	0,0%	
Nunca	n	1	0	0	0	
	%	1,9	0,0%	0,0%	0,0%	
Total	n	53	6	22	12	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Teste estatístico Empregado: Teste Qui-Quadrado: *Razão de Verossimilhança.

4.7.3. – Frequência da Troca de Gorro:

Sobre a frequência da troca do gorro dos 155 respondentes 61,3% (n=95) responderam a esta questão. No grupo dos acadêmicos 75,5% (n=40) sempre, 22,6% (n=12) esporadicamente e 1,9% (n=1) nunca. Dos funcionários da UTI 83,3% (n=5) esporadicamente e 16,7% (n=1) nunca. No grupo dos cirurgiões dentistas 39,1% (n=9) sempre, 47,8% (n=11) esporadicamente e 13,0% (n=3) nunca. E no grupo dos auxiliares de saúde bucal 69,2%(n=9) sempre, 23,1%(n=3) esporadicamente e 7,7% (n=1) nunca. Houve diferença estatisticamente significativa em relação a frequência na troca do gorro durante o expediente). Através da análise de resíduos ajustados pode-se observar que o grupo dos acadêmicos são os que mais trocam o gorro, já os funcionários da UTI são os que menos trocam sempre e os que mais trocam esporadicamente e os cirurgiões dentistas são os que menos trocam sempre seguido dos funcionários da UTI.

Tabela 8 - Frequência da troca do Gorro

Frequência da troca do Gorro		Acadêmicos	Funcionários UTI	Cirurgiões Dentistas	Auxiliares de Saúde Bucal	Diferença 4 Grupos
Sempre	n	40	0	9	9	$\chi^2=$ 22,423
	%	75,5	0,0%	39,1	69,2	
Esporadicamente	n	12	5	11	3	p = 0,001 p<0,05
	%	22,6	83,3	47,8	23,1	
Nunca	n	1	1	3	1	
	%	1,9	16,7	13,0	7,7%	
Total	n	53	6	23	13	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

4.7.4 - Desinfecção dos Óculos de Proteção

Além da utilização dos óculos os entrevistados foram indagados quanto a frequência da desinfecção do mesmo. Para esta questão dos 155 apenas 60,0% (n=93) responderam, no qual: no grupo dos acadêmicos 45,3% (n=24) desinfetam sempre, 26,4% (n=14) esporadicamente e 28,3% (n=15) nunca. No grupo dos funcionários da UTI 83,3% (n=5) relatam esporadicamente e 16,7% (n=1) nunca. No grupo dos cirurgiões dentistas 68,2% (n=15) sempre, 22,7% (n=5) esporadicamente. Houve diferença estatisticamente significativa em relação a desinfecção do óculos de proteção. Através da análise dos resíduos ajustados pode-se observar que o grupo dos funcionários da UTI são os que mais higienizam esporadicamente e os auxiliares de saúde bucal são os que mais higienizam sempre.

Tabela 9 - Desinfecção do Óculos de Proteção

Desinfecção do Óculos de Proteção		Acadêmicos	Funcionários UTI	Cirurgiões Dentistas	Auxiliares de Saúde Bucal	Diferença 4 Grupos
Sempre	n	24	0	15	10	$\chi^2=$ 20,773
	%	45,3	0,0%	68,2	83,3	
Esporadicamente	n	14	5	5	1	p = 0,002 p<0,05
	%	26,4	83,3	22,7	8,3%	
Nunca	n	15	1	2	1	
	%	28,3	16,7	9,1%	8,3%	
Total	n	53	6	22	12	
	%	100,0	100,0	100,0	100,0	
		%	%	%	%	
Teste estatístico	Empregado:		Teste	Qui-Quadrado:	*Razão	de
						Verossimilhança.

4.7.5 - Profissional de saúde colonizado por germes resistentes aos antimicrobianos oferece algum risco?

Quando questionados em relação se algum profissional de saúde colonizado por germes resistentes aos antimicrobianos oferece algum tipo de risco, 61,3% (n=95) responderam a esta questão, no qual: no grupo dos acadêmicos 96,2% (n=50) consideram que sim e 3,8% (n=2) consideram que não. No grupo dos funcionários da UTI 85,7% (n=6) consideram que sim e 14,3% (n=1) que não. No grupo dos cirurgiões dentistas 82,6% (n=19) responderam que sim e 17,4% (n=4) que não e dos auxiliares de saúde bucal 69,2% (n=9) que sim e 30,8% (n=4) que não. Houve diferença estatisticamente significativa em relação ao profissional de saúde ser colonizado por germes resistentes aos antimicrobianos oferecer algum risco p<0,05. Através da análise dos resíduos ajustados pode-se observar que: os acadêmicos são os que mais consideram a possibilidade de risco, diferente dos auxiliares de saúde bucal que consideram que não há possibilidade.

Tabela 10 - Profissional de saúde colonizado por micro-organismos resistentes aos antimicrobianos oferece algum risco:

Profissional de saúde colonizado por germes resistentes aos antimicrobianos oferece algum risco		Acadêmicos	Funcionários UTI	Cirurgiões Dentistas	Auxiliares de Saúde Bucal	Diferença
						a 4 Grupos
Sim	n	50	6	19	9	$\chi^2 =$
	%	96,2%	85,7%	82,6%	69,2%	8,108
Não	n	2	1	4	4	p =
	%	3,8%	14,3%	17,4%	30,8%	0,044
Total	n	52	7	23	13	p<0,05
	%	100,0	100,0	100,0	100,0	
		%	%	%	%	

Teste estatístico Empregado: Teste Qui-Quadrado: *Razão de Verossimilhança.

4.7.6 – Aspectos relativos a Jornada de Trabalho:

Quando questionados em relação aos acessórios durante a jornada de trabalho, têm-se: no grupo dos acadêmicos 2,8% (n=2) faz uso de relógios; 15,4% (n=8) faz uso de anéis; 21,2% (n=11) faz uso de aliança; 1,9 (n=1) faz uso de óculos; 5,8% (n=3) faz uso de unhas grandes; 50,0% (n=26) faz uso de uniforme limpo e 1,9% (n=1) faz uso de pulseiras. No grupo dos funcionários da UTI, 19,0% (n=4) fazem uso de relógio; 14,3% (n=3) faz uso de anéis; 9,5% (n=2) faz uso de aliança; 23,8% (n=5) faz uso de uniforme limpo; 14,3% (n=3) faz uso de pulseira; 9,5% (n=2) faz uso do mesmo uniforme que usou em outro estabelecimento de saúde; 9,5% (n=2) faz uso de alimentos. No grupo dos cirurgiões dentistas 21,7% (n=5) faz uso de anéis; 34,8% (n=8) faz uso de aliança; 4,3% (n=1) faz uso de unhas grandes e 39,1% (n=9) faz uso de uniforme limpo. Dos auxiliares de saúde bucal 25,0% (n=3) faz uso de anéis; 16,7% (n=2) faz uso de aliança e 58,3% (n=7) faz uso de uniforme limpo. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação aos acessórios utilizados durante a jornada de trabalho; (p<0,05). Através da análise de resíduos ajustados, pode-se evidenciar no grupo dos funcionários da UTI quando comparado aos outros grupos que: são os que mais fazem uso de relógios durante a jornada de trabalho; os que menos fazem uso de uniforme limpo; os que

mais fazem uso de pulseiras; os que mais utilizam o mesmo uniforme que utilizou em outro estabelecimento e os que mais fazem uso de alimentos durante a jornada de trabalho.

Tabela 11 – Aspectos da jornada de trabalho.

		Acadêmicos	Funcionários UTI	Cirurgiões Dentistas	Auxiliares de Saúde Bucal	Diferença 4 Grupos
Faz uso de relógio	n	2	4	0	0	$\chi^2=$ 40,427
	%	3,8%	19,0%	0,0%	0,0%	
Faz uso de anéis	n	8	3	5	3	p = 0,019
	%	15,4%	14,3%	21,7%	25,0%	
Faz uso de aliança	n	11	2	8	2	p<0,05
	%	21,2%	9,5%	34,8%	16,7%	
Faz uso de óculos	n	1	0	0	0	
	%	1,9%	0,0%	0,0%	0,0%	
Faz uso de unhas grandes	n	3	0	1	0	
	%	5,8%	0,0%	4,3%	0,0%	
Faz uso de uniforme limpo	n	26	5	9	7	
	%	50,0%	23,8%	39,1%	58,3%	
Faz uso de pulseiras	n	1	3	0	0	
	%	1,9%	14,3%	0,0%	0,0%	
Faz uso de mesmo uniforme que usou em outro estabelecimento de saúde	n	0	2	0	0	
	%	0,0%	9,5%	0,0%	0,0%	
Total	n	52	21	23	12	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Teste estatístico Empregado: Teste Qui-Quadrado: *Razão de Verossimilhança.

5. DISCUSSÃO

A Colonização humana por *Staphylococcus aureus*, varia entre (30–50%), em pessoas saudáveis. Esta taxa varia de região para região e também em diferentes populações (Lowy, 1998). Cooper et al., (2003), relataram que *S. aureus* normalmente coloniza as narinas ou a pele de cerca de 30% da população. Este valor aumenta para 50% quando se trata de profissionais da saúde ou pessoas hospitalizadas na UTI. A Colonização por *Staphylococcus aureus* pode ocorrer em várias partes do corpo, incluindo pele, perineo, faringe, trato gastrointestinal, axilas e orofaringe, mas o reservatório principal são as narinas (Wertheim et al., 2005). Estudos mostram que colonização nasal deste micro-organismo, varia entre 19.5% e 31.1%, com uma porcentagem de MRSA, entre 0.7% e 1.2% (Munckhof et al., 2009; Lamaro-Cardoso et al., 2009).

Em nosso estudo tanto a colonização nasal como salivar por *Staphylococcus aureus*, em todos os grupos, ficou acima de 30%, ou seja, acima da média da população normal. Na Figura 7 demonstramos que a predominância em todos os grupos é de colonização nasal em relação à salivar, exceto entre o grupo de cirurgiões-dentistas. Supõe-se que esta maior colonização salivar, neste grupo, seja devido ao tempo de exercício profissional (média 23 anos), dados estes obtidos no questionário aplicado e também pela ineficiência e pelo uso inadequado dos protetores faciais (Chen et al., 1992) coincidem com os dados constatados neste estudo e descritos na tabela 7. Uma maior prevalência de colonização salivar sobre a nasal é demonstrada também na figura 7B que descreve os percentuais obtidos quando o meio CHROMagar foi utilizado para se obter o percentual de colonização por MRSA. Percentualmente também foi na saliva que nos grupos Universidade I e II ocorreu uma maior prevalência em relação à colonização nasal. A relevância destes dados está no fato de que, diferentemente do que sugere a maior parte da literatura, sobre os principais sítios de colonização destes micro-organismos, em estudos referentes às questões epidemiológicas sobre os mesmos, a cavidade oral é um sítio importante de colonização, e não deve ser ignorado. A mesma pode servir como um reservatório de MRSA para a colonização de outros locais do próprio corpo, outros pacientes ou profissionais da saúde, portanto nosso estudo está em consonância com o de (Martin et al., 1991).

Importante ainda a constatação da elevada porcentagem de colonização nasal de *Staphylococcus aureus* (Figura 7A), em todos os grupos, com índices próximos ou acima aos dos índices encontrados em pacientes imunodeprimidos. Esta prevalência alta identificada nos grupos caracteriza uma preocupação se levarmos em conta o estudo de Hidron et al., (2005) que relatam que pacientes com infecção de pele e de tecidos moles contaminados com *Staphylococcus aureus* apresentam um risco maior para desenvolver MRSA e que somado ao surgimento de colonização por CA-MRSA representando um novo reservatório de MRSA e aumentando potencialmente o risco de transmissão horizontal. Na figura 7A fica evidenciada ainda em termos percentuais a hipótese de que a colonização *Staphylococcus aureus* em profissionais relacionados à odontologia é tão prevalente quanto à funcionários de UTIs, corroborando com Martínez Ruíz, (2014). A mesma constatação pode ser sugerida através dos resultados da figura 7B que descreve os percentuais obtidos de colonização por MRSA em cada um dos grupos, quando foi utilizado o meio CHROMagar para se obter o percentual de colonização por MRSA. No entanto, na figura 7C, que representa a porcentagem de colonização nasal e salivar em cada um dos grupos por MRSA, quando as amostras foram testadas através do TSA (Cefoxitina e Oxacilina), evidencia-se que o grupo UTI, quando se trata de colonização nasal e salivar, foi o grupo que apresentou maior porcentagem de colonização por MRSA, quando comparado aos demais. Enfatizando-se que na universidade II não ocorreu colonização por MRSA em ambas as amostras (salivar e nasal). Da mesma forma na figura 8E damos ênfase ao grupo UTI, por apresentar uma alta e estatisticamente significativa frequência de colonização por MRSA, quando as amostras foram testadas através do TSA, em relação ao grupo auxiliares em saúde bucal e cirurgiões-dentistas, nas amostras nasais. Isto não ocorre quando comparamos a frequência de MRSA, nos outros grupos, exceto na Universidade II que não teve colonização por MRSA. Nossos dados encontrados durante este estudo convergem com a literatura e como dito anteriormente, descreve uma alta prevalência de MRSA em UTIs (Ericson et al., 2015; Layer et al., 2015; Leone et al., 2013).

Identificamos nos dados descritos no parágrafo acima, uma situação de contradição dos resultados obtidos em relação a colonização por MRSA, quando os meios CHROMagar foram utilizados para a detecção de MRSA nas amostras de *Staphylococcus aureus* e quando posteriormente as amostras consideradas resistentes pelo meio citado, foram submetidos ao TSA. De acordo com a literatura Philippe et al.,

(2014), o TSA deveria comprovar os resultados do meio cromogênico, porém a prevalência em todos os grupos diminuiu, em número de colonizações de maneira acentuada após o TSA. A razão para estas diferenças apresentadas possivelmente seja uma questão de sensibilidade e especificidade, ou seja, os meios cromogênicos são mais sensíveis, porém o padrão de especificidade é dado pelo TSA o que reforça a confiabilidade nos resultados obtidos. No entanto, fica novamente evidenciada se levarmos em consideração os dados do meio CHROMagar a hipótese de que a colonização *Staphylococcus aureus* em profissionais relacionados à odontologia é tão prevalente quanto à funcionários de UTIs.

Infecções causadas por MRSA sempre foram limitadas a hospitais, mas em anos recentes, infecções associadas ou adquiridas na comunidade começaram a ocorrer cada vez mais em indivíduos saudáveis, sem qualquer fator de risco identificável (Gelatti et al., 2009). Um estudo por Ribeiro et al., (2014) mostrou uma prevalência de 38.2% de pacientes com *S. aureus* nas Universidades. Ambientes onde são realizados procedimentos cirúrgicos, seja de pequeno ou grande impacto, estão mais susceptíveis a contaminação por MRSA (Klein et al., 2008). A razão para este elevado índice de colonização ocorre devido à introdução de novos equipamentos e novas tecnologias, nos últimos anos na odontologia. Estes contribuem significativamente para que os ambientes clínicos sejam impregnados por aerossóis biológicos (Cotone et al., 1991). Os mesmos são apresentados sob a forma de partículas com propriedades físicas típicas tais como energia cinética e de baixo peso molecular que podem atingir lugares distantes à sua geração (Kurita et al., 2006). Crawford et al., (1983), relataram que esta espécie de micro-organismo, pode permanecer no ambiente clínico e nas superfícies, por até cinco dias. Universidades são ambientes propícios a colonizações. Roberts et al., (2011), apresentaram um estudo onde 8% das superfícies em clínicas odontológicas de Universidades estavam contaminadas com MRSA. Este estudo também sugere que superfícies de consultórios odontológicos e estudantes de odontologia podem ser reservatórios de MRSA. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, foram identificados em superfícies de casas de estudantes de odontologia, na comunidade e em universidades, sugerindo que estas superfícies colonizadas, podem ser reservatórios para a transmissão de MRSA na comunidade (Roberts et al., 2011).

Embora não tenha sido um dos objetivos deste estudo, os dados relevantes de colonização em estudantes de odontologia e por consequência, possivelmente, também de professores, sugerem que

atitudes devem ser tomadas em relação a esta maior possibilidade de colonização na academia. Constatamos, a este respeito dados relevantes no que diz respeito à colonização por MRSA, entre as universidades amostradas quando as amostras foram testadas através do TSA. Na Universidade II, somente uma superfície apresentou colonização por MRSA, proveniente de uma amostra coletada do braço da cadeira do operador e como dito anteriormente todos os acadêmicos estavam isentos de colonização na Universidade II (Figura 7C). No entanto a mesma figura mostra taxas de colonização para MRSA quando as amostras foram testadas através do TSA na Universidade I de 35% e 10% nasal e salivar, respectivamente. Estudos adicionais devem ser realizados para determinar se os dados comparativos de colonização por MRSA entre as duas universidades está relacionada com as normas de biossegurança adotadas nas mesmas, uma vez que diferem basicamente nos critérios de paramentação e ambas seguem as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2006). Na figura 8C, observamos que quando associamos a frequência de colonização nasal por MRSA, entre os grupos, esta é maior e estatisticamente significativa na Universidade I em relação ao grupo de cirurgiões-dentistas. Em colonização salivar não houve diferença entre os grupos figura 8D. Concluímos que um fator sugestivo dos motivos de maiores taxas de colonização na academia deve-se a maior quantidade de aerossol gerado no ambiente das clínicas odontológicas destas Universidades e a ineficiência dos EPI(s) utilizados ou pelo seu uso de forma inadequada.

Em se tratando do uso inadequado por parte dos profissionais de saúde de EPI(s), os dados obtidos no questionário respondido pelos voluntários da pesquisa reforçam esta inadequação. A tabela 3 apresenta a caracterização da população em estudo. Dentre a população estudada, todos alegam usar EPI's em todos os procedimentos durante o atendimento pacientes. No entanto, no questionário (Apêndice 1), foram obtidos dados estatisticamente significativos, que nos levam a concluir que, majoritariamente, os profissionais em seus grupos não têm a percepção que eles próprios, ou os pacientes estão em risco de colonização por MSSA ou MRSA. Parece haver influência dessa percepção nas atitudes, levando-os a não cumprir as recomendações existentes dos padrões de biossegurança. O cuidado com os EPI(s) inclui-se nas práticas menos implementadas, embora seja valorizada pelos mesmos que responderam que 100% usam EPI(s). Além disso, práticas do uso de antimicrobianos, sem que os mesmos tenham sido prescritos por médicos ou cirurgiões-dentistas, reforça ainda mais a ideia de não percepção dos riscos que micro-organismos multirresistentes

representam nos índices epidemiológicos de saúde pública. Além disso, os dados obtidos neste estudo, em se tratando da colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA sugerem que estudos específicos devem ser realizados em relação a segurança do paciente e do profissional, em se tratando do uso de EPIs, especialmente para proteção oral e nasal. A proteção facial através de máscaras e respiradores são muito importantes, no entanto, não parecem ser suficientes na rotina e nos protocolos de biossegurança em consultórios e clínicas pertencentes à academia. Corroborando com esta conclusão, Chen et al., (1992) relatam que, apesar de a máscara cirúrgica ser suficiente para eliminar as bactérias exaladas por profissionais de saúde, elas podem não ser suficientes para eliminar partículas submicrométricas de aerossóis, que contêm agentes patogênicos aos quais profissionais de saúde são potencialmente expostos, especialmente aos relacionados à odontologia. Em uma revisão sistemática com metanálise, Smith et al., (2016) concluíram que enquanto respiradores N95 (no Brasil PFF2), parecem ter uma grande vantagem de proteção em relação às máscaras cirúrgicas, o estudo mostrou que não há dados suficientes para determinar definitivamente se respiradores N95, (PFF2), são superiores à máscaras cirúrgicas para proteger profissionais da saúde contra infecções respiratórias agudas transmissíveis em ambientes clínicos. Os dados apresentados por esses autores permeiam a ideia de que nas unidades de saúde, os procedimentos de controle de infecção devem seguir protocolos rigorosos, especialmente no que diz respeito à prevenção de colonização cruzada, incluindo ambientes odontológicos.

Agravando a possibilidade de colonização ou infecção cruzada, além dos aspectos relacionados a ineficiência dos EPI(s) e de seu uso inadequado, outros fatores, contribuem para a disseminação deste micro-organismo. Superfícies em ambientes ocupados por pacientes colonizados e/ou contaminados por MRSA, podem ser transmitidos às mãos dos profissionais de saúde, mesmo na ausência de contato direto com o mesmo (Schmitz et al., 1998). Esta afirmativa aplica-se, por analogia, para equipamentos utilizados no tratamento de doentes com MRSA. A hotelaria de nosocômios e objetos localizados neles também podem atuar como transmissão, pois são reservatórios de agentes resistentes (Oie et al., 1996). Boyce et al., (1997), identificaram que 73% dos quartos de pacientes estão colonizados por MRSA e 69% destes ambientes apresentam superfícies colonizadas. Em nossos estudos das 40 amostras coletadas apenas 04 (9%) apresentaram colonização por *Staphylococcus aureus*, destas 02 (50%) apresentaram resistência quando testadas através do meio cromogênico, porém estas mesmas

duas não se apresentaram como resistentes quando o meio utilizado foi o TSA.

A importância deste micro-organismo, em termos de saúde pública, não está apenas na sua capacidade de adquirir resistência a antimicrobianos, mas sim na sua capacidade de adaptabilidade ao meio ao qual está inserido. Várias teorias supõem a forma de como *Staphylococcus aureus* adquiriu a capacidade de se tornar resistente de origem comunitária. Dentre as mais aceitas está a de que *Staphylococcus aureus* susceptível a meticilina MSSA, adquiriu o cassete estafilocócico cromossomo mec (SCCmec), que contém o gene *mecA* que, por sua vez, codifica uma proteína de ligação à penicilina (PBP), alterada, (PBP2' ou PBP2a), com afinidade de ligação reduzida para a β -lactâmicos (Hiramatsu et al., 2001). Além do fator resistência, embora *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina de origem comunitária (CA-MRSA), sejam sensíveis à varias classes de antimicrobianos, os mesmos produzem uma toxina denominada, Panton Valentine Leucocidina (PVL), que é considerado um dos mais importantes fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*. Esta toxina é responsável pela destruição de leucócitos, necrose de tecidos e apoptose e é considerada como um marcador de MRSA adquirido na comunidade.

Neste estudo PVL, assim como, Gene *mecA* e *femA*, foram detectados através da realização de PCR (Polymerase Chain Reaction), considerada padrão ouro para determinação de CA-MRSA e para os genes *mecA* e *femA*. Os resultados obtidos através de PCR são os seguintes: do total de 19 amostras, 11 foram positivas para a amplificação do gene *mecA*, destas 04, com características de origem comunitária que foram identificadas pela amplificação dos genes *LukS-lukF* (CDC 1981; CDC 2005).

Graças a estas peculiaridades inerentes e na sua maioria, exclusivas do *Staphylococcus aureus*, sua identificação e o uso de medidas de controle para evitar a colonização em profissionais, pacientes e superfícies e se possível a descolonização, são de extrema importância, no controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (IRAS), considerando que *Staphylococcus aureus*, expressa seus fatores de virulência em adaptação ao hospedeiro e ao ambiente (Oogai et al., 2011).

6. CONCLUSÃO

Através deste estudo, confirmamos que a colonização por *Staphylococcus aureus* e MRSA em profissionais que atuam em ambientes odontológicos pode ser tão prevalente como os de uma UTI Hospitalar. Em relação ao MRSA os dados do mesmo identificam através da detecção do gene *MecA* que a incidência no meio odontológico é no mínimo 03 vezes maior que a média das pessoas em geral que é de 0,7 a 1,2%, (Munckhof et al., 2009; Lamaro-Cardoso et al., 2009). Provavelmente, as diferentes prevalências encontradas nos diferentes estudos, derivem de fatores como a susceptibilidade do epitélio nasal e salivar à colonização por micro-organismos nos grupos étnicos estudados e também devido às diferenças na metodologia utilizada para realizar estudos de determinação fenotípica em microbiologia. Mesmo sem determinar o risco absoluto da ocorrência de uma possível contaminação cruzada por MRSA e *Staphylococcus aureus* em procedimentos odontológicos, nosso estudo sugere uma associação de prevalência em ambientes odontológicos e hospitalares. Futuros estudos são necessários para estabelecer uma associação direta entre infecções pós-operatórias em procedimentos invasivos e não invasivos realizados na prática odontológica.

Além disso, o mesmo traz contribuições no contexto das Infecções Relacionadas a Assistência a Saúde, que pode ter como reservatório de bactérias multirresistentes os profissionais e superfícies portadores de *Staphylococcus aureus*, especialmente MRSA, sendo este de grande impacto tanto em ambientes de prestação de serviços de saúde como comunitários. O seu reflexo para as ciências da saúde decorre do fato de ter sido investigado especialmente MRSA em diferentes grupos envolvidos na assistência à saúde. Diante desta premissa, ressalta-se a importância da conscientização do problema por parte de todos os profissionais de saúde e do trabalho a ser desenvolvido pelos mesmos, que tenha como objetivos, o planejamento, avaliação e implementação de medidas direcionadas ao controle de bactérias multirresistentes e consequentemente de doenças infecciosas.

REFERÊNCIAS

- Adcock PM, Pastor P, Medley F, Patterson JE, Murphy TV. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in two child care centers. *J Infect Dis.* 1998; 178:577-80.
- Archer GL, Scott J. Conjugate transfer genes in staphylococcal isolates from the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991. 35(12):2500-4.
- Archer GL, Niemeyer DM. Origen and evolution of DNA associated with resistance to methicillin in staphylococci. *Trends Microbiology* 1994;343-7.
- Archer GL, Bosilevac JM. Signaling antibiotic resistance in staphylococci. *Science.* 2001;291:1915-6.
- Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence.* 2011;2:445-59.
- Arvidson S, Tegmark K. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol.* 2001;291:159-70.
- Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yuzawa H, Aoki K, Oguchi A, Nagai Y, Iwama N, Asano K, Naimi T, Kuroda H, Cui L, Yamamoto K, Hiramatsu K. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired (MRSA). *Lancet.* 2002; 359:1819-27.
- Batista N, Gutiérrez I, Lara M, Laich F, Méndez S. 2008. Evaluación del método de difusión en disco de 30 µg de cefoxitina en la detección de resistencia a meticilina en aislamientos seleccionados de *Staphylococcus aureus*. *Rev Esp Quimioter.* 21(4):213-6.
- Beck WD, Berger-Bachi B, Kayser FH. Additional DNA in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and molecular cloning of mec-specific DNA. *J Bacteriol.* 1986; 165:373-8.
- Berger-Bachi B, Barberis-Maino L, Strassle A, Kayser FH. FemA, a host-mediated factor essential for methicillin resistant in *Staphylococcus*

aureus molecular cloning and characterization. Mol Gen Genet. 1989;219:263-9.

Berger-Bachi B. Role of fem factors in methicillin resistance. Drug Resist Update; 1998;1(5):325-35.

Black JG. Microbiologia: fundamentos e perspectivas - 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

Bohach GA, Dinges MM, Mitchell DT, Ohlendorf DH, Schlievert PM. Exotoxins. In The Staphylococci in human disease (ed.: Crossley, K. B. and Archer, G. L.)1997; 83-111.

Boyce JM, Potter-Bynoe G, Chenevert C, King T. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. Infect Control Hosp Epidemiol. 1997; 18(9):622-7.

Boyce JM. Understanding and controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Infect Control Hosp Epidemiol. 2002;23(9):485-7.

Bumpous JM, Johnson JT. The infected wound and its management. Otolaryngol Clin North Am. 1995;28(5):987-1001.

Brady RR, Kalima P, Damani NN, Wilson RG, Dunlop MG. Bacterial contamination of hospital bed-control handsets in a surgical setting: a potential marker of contamination of the healthcare environment. Ann R Coll Surg Engl. 2007;89(7):656-60.

Cavassin ED, Figueiredo LFP, Otoch JP, Seckler MM, ORA, Franco FF, Marangoni VS, Zucolott V, Levin AS; Costa SF. Comparison of methods to detect the in vitro activity of silver nanoparticles (AgNP) against multidrug resistant bacteria. J Nanobiotech. 2014;13:64.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* - New York, 2004. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2004;53:322-23.

Cerlana P, Corso A, Ggetti P, Rodriguez M, Corbella S, Iglesias M, Galas M. Evaluation of the new chromogenic media "CHROMagar™ Staph aureus" for presumptive identification of *S.aureus*. Antimicrobial Unit, INEI-ANLIS. Hospital. Buenos Aires. Argentina

Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino PM. Importancia del *Staphylococcus aureus* meticilina resistente intrahospitalario y adquirido en la comunidad. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2014;61(4):196-204

Chadi Dendani Z, Bezille P, Arcangioli M. PCR and PCR-RFLP genotyping of *Staphylococcus aureus* coagulase gene: convenience compared to pulse-field gel electrophoresis, Comp Clin Pathol. 2016;25:1061.

Chambers HF. Coagulase-negative staphylococci resistant to betalactam antibiotics in vivo produce penicillin-binding protein 2a. Antimicrob Agents Chemother. 1987;31:1919-24.

Chambers RW, Sledziewska-Gojska E, Hirani-Hojatti S, Borowy-Borowski H. *uvrA* and *recA* mutations inhibit a site-specific transition produced by a single O6-methylguanine in gene G of bacteriophage phi X174. Proc Natl Acad Sci USA. 1985;82(21):7173-7.

Charlebois ED, Perdreau-Remington F, Kreiswirth B, Bangsberg DR, Ciccarone D, Diep BA, Ng VL, Chansky K, Edlin BR, Chambers HF. Origins of community strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2004;39(1):47-54.

Chavakis T, Wiechmann K, Preissner KT, Herrmann M. *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial "secretable expanded repertoire adhesive molecules" (SERAM) in disturbing host defense systems. Thromb Haemost. 2005;94(2):278-85.

Chen CC, Willeke K. Aerosol penetration through surgical masks. Am J Infec Control. 1992;20(4):177-84.

Cheung AL, Bayer AS, Zhang G, Gresham H, Xiong YQ. Regulation of virulence determinants in vitro and in vivo in *Staphylococcus aureus*. FEMS Immunol Med Microbiol. 2004;40:1-9.

Cheung AL, Chien YT, Bayer AS. Hyperproduction of alpha-hemolysin in a sigB mutant is associated with elevated SarA expression in *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*. 1999;67:1331-7

Clarke SR, Foster SJ. Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol*. 2006;51:187-224.

Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec): Guidelines for Reporting Novel SCCmec Elements Commentary Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Dec. 2009;53(12):4961-7.

Cole AM, Tahk S, Oren A, et al. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001;8:1064-9.

Cooper EJ, Grundmann H, Robinson DA, Enright MC, Berendt T, Peacock SJ, Smith JM, Murphy M, Spratt BG, Moore CE, Day NP. How clonal is *Staphylococcus aureus*? *J Bacteriol*. 2003;185:3307-16.

Cotone J, Terezhalmay GT, Molinari JA. *Practical Infection Control in Dentistry*. Pennsylvania. Lea & Febiger. 1991;1:285.

Couto I, de Lencastre H, Severina E, Kloos W, Webster JA, Hubner RJ, Sanches IS, Tomasz A. Ubiquitous presence of a mecA homologue in natural isolates the *Staphylococcus sciuri*. *Microb. Drug Resist*. 1996;2:377-91.

Crawford JJ. Sterilization, disinfection, and asepsis in dentistry. In: S.S. Block (Ed.) *Disinfection, sterilization and preservation*. Ed 3. Lea & Febiger, Philadelphia; 1983:505-23.

De Lencastre H, Figueiredo AMS, Urban C, Rahal J, Tomasz A. Multiple mechanisms of methicillin resistance and improved methods for detection in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991;35:632-9.

De Lencastre H, De Jonge BLM, Matthews PR, Tomasz A. Molecular aspects of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 1994;33:7-24.

Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2007;13(3):222-35.

Dominguez MA, de Lancastre H, Llares J, Tomasz A. Spread and maintenance of a dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone during an outbreak of (MRSA) disease in Spanish hospital. J Clin Microbiol. 1994;32:2081-7.

Enright MC, Day NP, Davies CE, et al. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2000;38:1008-15.

Enright MC, Robinson DA, Randle G, et al. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Proc Natl Acad Sci U.S.A. 2002;99:7687-92.

Ericson JE, Popoola VO, Smith PB, Benjamin DK, Fowler VG, Benjamin DK Jr, Clark RH, Milstone AM. Burden of Invasive *Staphylococcus aureus* Infections in Hospitalized Infants. JAMA Pediatr. 2015;169(12):1105-11.

Euzéby JP, Tindall BJ. Status of strains that contravene Rules 27(3) and 30 of the Bacteriological Code. Request for an opinion. Int J Syst Evol Microbiol. 2004;54(Pt 1):293-301.

Feil EJ, Cooper JE, Grundmann H, Robinson DA, Enright MC, Berendt T, Peacock SJ, Smith JM, Murphy M, Spratt BG, Moore CE, Day NP. How clonal is *Staphylococcus aureus*? J Bacteriol. 2003;185(11):3307-16.

Figueiredo AMS, Ha E, Kreiwirth BN, De Lancastre H, Noel GH, Senterfit L, Tomasz A. In vivo stability of heterogeneous expression classes in clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci. J Infect Dis. 1991;164:883-7.

Garrity GM, Holt JG. The road map to the manual. In: Boone, R.D., Castenholz, R.W., Garrity, G.M. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. SpringerVerlag, New York, NY, 2002;119-66.

Gelatti LC, Bonamigo RR, Becker AP, D Azevedo PA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: emerging community dissemination. *An Bras Dermatol*. 2009;84(5):501-6.

Giesbrecht P, Kersten T, Maidhof H, Wecke J. Staphylococcal cell wall: morphogenesis and fatal variations in the presence of penicillin. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998;2(4):1371-414.

Giraud AT, Calzolari A, Cataldi AA, Bogni C, Nagel R. The *sae* locus of *Staphylococcus aureus* encodes a two-component regulatory system. *FEMS Microbiol Lett*. 1999; 177:15- 22.

Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*. 2006;2:368(9538):874-85.

Grundmann RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:222-35.

Georgopapadakou NH, Dix BA, Mauriz YR. Possible physiological functions of penicillin-binding proteins in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1986;29(2):333-6.

Goodwin KD, Pobuda M. Performance of CHROMagar Staph aureus and CHROMagar MRSA for detection of *Staphylococcus aureus* in seawater and beach sand--comparison of culture, agglutination, and molecular analyses. *Water Res*. 2009;43(19):4802-11.

Gorak EJ, Yamada SM, Brown JD. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized adults and children without known risk factors. *Clin Infect Dis*. 1999;29:797-800.

Haidegge T, Varga V. Information Technology Tools Employed in Infection Control, in Proc. of the 16th IEEE Intl. Symp. on Computational Intelligence and Informatics (CINTI), Budapest, pp. 2015, 339–44,

Hanssen AM, Ericson Sollid JU. SCCmec in staphylococci: genes on the move. *FEMS Immunol Med Mic*. 2006;46:8-20.

Hanssen AM, Kjeldsen G, Sollid JU. Local variants of Staphylococcal cassette chromosome mec in sporadic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci: evidence of horizontal gene transfer? *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(1):285-96.

Hartman BJ, Tomasz A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 1984;158:513-6.

Herwaldt LA, Cullen JJ, French P, Hu J, Pfaller MA, Wenzel RP, Perl TM. Preoperative risk factors for nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004;25(6):481-4.

HIDRON Alicia I. , Kourbatova Ekaterina V. , J. Halvosa Sue , Terrell Bianca J. , McDougal Linda K. , Tenover Fred C. , Blumberg Henry M. , King Mark D. ,Risk Factors for Colonization with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Patients Admitted to an Urban Hospital: Emergence of Community-Associated MRSA Nasal Carriage *Oxford Journals Medicine & Health Clinical Infectious Diseases* Volume 41, Issue 2Pp. 159-166

Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *The Lancet Infectious Diseases.* 2001;1(3):147-55.

Hiramatsu K. Elucidation of the mechanism of antibiotic resistance acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and determination of its whole genome nucleotide sequence. *JMAJ.* 2004;47:153-9.

Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 2001;9(10):591-5.

Hookey JV, Richardson JF, Cookson BD. Molecular Typing of *Staphylococcus aureus* Based on PCR Restriction Fragment Length Polymorphism and DNA Sequence Analysis of the Coagulase Gene. *J Clin Microbiol.* 1998;36(4):1083-9.

Ito T, Hiramatsu K. Acquisition of methicillin resistance and progression of multiantibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Yonsei Medical Journal*. 1998;39:525-33.

Ito T, Katayama Y, Hiramatsu K. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire *mecA* of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:1449-58.

Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsuminoto K, Tiensasitorn CH, Hiramatsu K. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:1323-36.

Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:2637-51.

Ito T, Hiramatsu K, Tomasz A, de Lencastre H, Perreten V, Holden MT, Coleman DC, Goering R, Giffard PM, Skov RL, Zhang K, Westh H, O'Brien F, Tenover FC, Oliveira DC, Boyle-Vavra S, Laurent F, Kearns AM, Kreiswirth B, Ko KS, Grundmann H, Sollid JE, John JF, Jr., Daum R, Soderquist B, Buist G. Guidelines for reporting novel *mecA* gene homologues. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:4997-9.

Kalmeijer MD, Coertjens H, Van Nieuwland-Bollen PM, et al. Surgical site infections in orthopedic surgery: the effect of mupirocin nasal ointment in a double blind, randomized, placebo-controlled study. *Clin Infect Dis*. 2002;35:353-8.

Katayama. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:2680-5.

Kavanaugh JS, Horswill AR. Impact of Environmental Cues on Staphylococcal Quorum Sensing and Biofilm Development. *J Biol Chem*. 2016;291(24):12556-64.

H, Maruyama A, Murakami H, Hosoyama A, Mizutani-Ui Y, Takahashi NK, Sawano T, Inoue R, Kaito C, Sekimizu K, Hirakawa H, Kuhara S, Goto S, Yabuzaki J, Kanehisa M, Yamashita A, Oshima K, Furuya K, Yoshino C, Shiba T, Hattori M, Ogasawara N, Hayashi H, Hiramatsu K. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 2001;357:1225-40.

Lamaro-Cardoso J, de Lencastre H, Kipnis A, Pimenta FC, Oliveira LS, Oliveira RM, Nouer SS, Aires-de-Sousa M, Milheiriço C, Andrade AL. Molecular epidemiology and risk factors for nasal carriage of staphylococcus aureus and methicillin-resistant *S. aureus* in infants attending day care centers in Brazil. *J Clin Microbiol*. 2009;47(12):3991-7.

Laupland KB, Parkins MD, Church DL, Gregson DB, Louie TJ, Conly JM, Elsayed S, Pitout JD. Population-based epidemiological study of infections caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the Calgary Health Region: importance of metallo-beta-lactamase (MBL)-producing strains. *J Infect Dis*. 2005;192(9):1606-12.

Layer F, Sanchini A, Strommenger B, Cuny C, Breier AC, Proquitté H, Bühner C, Schenkel K, Bätzing-Feigenbaum J, Greutelaers B, Nübel U, Gastmeier P, Eckmanns T, Werner G. Molecular typing of toxic shock syndrome toxin-1- and Enterotoxin A-producing methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* isolates from an outbreak in a neonatal intensive care unit. *Int J Med Microbiol*. 2015;305(7):790-8.

Layton MC, Hierholzel W, Patterson JE. The evolving epidemiology of (MRSA) at a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1996;16:12-7.

Leone M, Malavieille F, Papazian L, Meyssignac B, Cassir N, Textoris J, Antonini F, La Scola B, Martin C, Allaouchiche B, Hraiech S; AzuRea Network. Routine use of *Staphylococcus aureus* rapid diagnostic test in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Crit Care*. 2013;6;17(4):R170.

Li M, Du X, Villaruz AE, Diep BA, Wang D, Song Y, Tian Y, Hu J, Yu F, Lu Y, Otto M. MRSA epidemic linked to a quickly spreading colonization and virulence determinant. *Nat Med*. 2012;18:816-9.

- Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al. Involment of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis. 1999;29: 1128-32.
- Lyon BR, May JW, Skurray RA. Tn4001: a gentamicin andkanamycin resistant transposon in *Staphylococcus aureus*. Mol. Gen. Genet. 1984;193:554-6.
- Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med. 1998;339:520-32.
- Luong TT, Newell SW, Lee CY. Mgr, a novel global regulator in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. 2003;185:3703-10.
- Ma XX, Galiana A, Pedreira W, Mowszowicz M, Christophersen I, Machiavello S, Lope L, Benaderet S, Buella F, Vincentino W, Albini M, Bertaux O, Constenla I, Bagnulo H, Llosa L, Ito T, Hiramatsu K. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Uruguay. Emerg Infect Dis. 2005;11(6):973-6.
- Ma XX, Ito T, Tiensasitorn CH, Jamklang M, Chongtrakool P, Boyle-Vavra S, Draum RS, Hiramatsu K. Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:1147-52.
- Martinez Ruíz FJ. Higher prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among dental students. J Hosp Infect. 2014; 86(3):216-8.
- Massidda O, Montanari MP, Mingoia M, Varaldo PE. Borderline methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strain have more in common that reduced susceptibility to penicillinase-resistant penicillins. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40:2769-74.
- McCarthy H, Rudkin JK, Black NS, Gallagher L, O'Neill E, O'Gara JP. Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *Staphylococcus aureus* . Front Cell Infect Microbiol; 1993;5(1)online.

McDevitt D, Francois P, Vaudaux P, Foster TJ. Molecular characterization of the clumping factor (fibrinogen receptor) of *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*. 1994;11:237-48.

McDougal LK, Thomsberry C. The role of β -lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. *J Clin Microbiol*. 1986;23:832-9.

McNamara PJ, Milligan-Monroe KC, Khalili S, Proctor RA. Identification, cloning, and initial characterization of rot, a locus encoding a regulator of virulence factor expression, in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*. 2000;182:3197-203.

Méndez IA, Holguín-Riaño DF, Pachón-Barinas DP. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant isolated from medical students. *CES Medicina*. 2013;27(1):21–30.

Merlino J, Leroi M, Bradbury R, Veal D, Harbour C. New chromogenic identification and detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus*. *J Clin Microbiol*. 2000; 38:2378–80.

Mímica MJ, Mendes CMF. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. *J Bras Patol Med Lab*. 2012;43(6):399-406.

Moncayo JI, Corredor LFA, Espinal JSL, Aldana A, Ibarra JJS. Correlación entre la detección de superantígenos y resistencia a oxacilina en aislamientos hospitalarios de *Staphylococcus aureus*. *Infect*. 2015;19(3):109-14.

Moussallem BC, Kury CMH, Acosta EM. Detecção dos genes *mecA* e *femA*, marcadores moleculares de resistência a meticilina, em *Staphylococcus* spp. isolados de pacientes admitidos em uma Unidade Neonatal de Tratamento Intensivo. *Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos*. 2007;2(2):2-9.

Mukovnikova M, Yusuf E, Cossey V, Schuermans A, Saegeman V. Evaluation of a chromogenic biplate medium (ChromID MRSA/ChromID *S. aureus*) for the simultaneous detection of

methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in preoperative screening samples from the anterior nares. *J Clin Microbiol*. 2014;52(2):678-80.

Mulligan K, Grunfeld C, Hellerstein MK, Neese RA, Schambelan M. Anabolic effects of recombinant human growth hormone in patients with wasting associated with human immunodeficiency virus infection. *J Clin Endocr Metab*. 1993;77:956–62.

Munckhof WJ, Nimmo GR, Schooneveldt JM, Schlebusch S, Stephens AJ, Williams G, Huygens F, Giffard P. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*, including community-associated methicillin-resistant strains, in Queensland adults. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(2):149-55.

Murakami K, Minamide W, Wada K, et al. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1991;29:2240–4.

Murray PR, Rosenthal Ken S, Michael A. *Medical Microbiology* 9thed. 1997, St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book Inc.

Murphy EL, Huwyler L, Bastos MC. Transposon Tn554: Complete nucleotide sequence and isolation of transposition-defective and antibiotic-sensitive mutants. *EMBO J*. 1985;4:3357-65.

Nagahama F, Tsuzukibashi O, Uchibori S, Fukumo M. Frequency of *Staphylococci* in Oral Cavity of Healthy Medical Workers. *Int J Oral-Med Sci*. 2013;12(1):35-40.

Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabeti K, et al. Comparison of community and health care-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*. 2003;290:2976-84.

Nouwen JL, Fieren MW, Snijders S, Verbrugh HA, van Belkum A. Persistent (not intermittent) nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is the determinant of CPD-related infections. *Kidney Int*. 2005;67:1084–92.

Novick RP. Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol Microbiol*. 2003; 48:1429-49.

Nulens E, Gould I, Mackenzie F. *Staphylococcus aureus* carriage among participants at the 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2005;24:145-8.

Ohkushi D, Uehara Y, Iwamoto A, Misawa S, Kondo S, Shimizu K, Hori S, Hiramatsu K. An effective active surveillance method for controlling nosocomial MRSA transmission in a Japanese hospital. J Infect Chemother. 2013;19(5):871-5.

Oie S, Kamiya A. Survival of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on naturally contaminated dry mops. J Hosp Infect. 1996;34(2):145-9.

Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD, Grubb WB, Bell JM, O'Brien FG, Coombs GW, Pearman JW, Tenover FC, Kapi M, Tiensasitorn Ch, Ito T, Hiramatsu K. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. J Clin Microbiology. 2002;40:4289-94.

Oliveira DC, Tomasz A, De Lancastre H. The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated mec elements. Microb Drug Resist. 2001;7:349-61.

Oogai Y, Matsuo M, Hashimoto M, Kato F, Sugai M, Komatsuzawa H. Expression of Virulence Factors by *Staphylococcus aureus* Grown in Serum. Appl Environ Microbiol. 2011;77(22):8097-105.

Omine H, Tsuzukibashi O, Uchibori S, Saito M, Kobayashi T, Fukumoto M. Frequency of Staphylococci in the Nasal Cavities of Healthy Medical Workers. Int J Oral-Med Sci. 2012;11(3):218-22.

Pao-Kuei Hsiao, Wan-Ting Chen, Kai-Chih Chang, Yu-Ju Ke, Chung-Long Kuo, Chun-Chieh Tseng. Performance of CHROMagar Staph aureus and CHROMagar MRSA for Detection of Airborne Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive Staphylococcus aureus. Aerosol Science and Technology. 2010;46(3)297-308.

Pattee PA, Lee CH, Bannantine JP. Genetical and physical mapping of the chromosome of *Staphylococcus aureus*. 1990;41-48. A: Molecular Biology of the Staphylococci. Editor: Novick RP. VCH publishers. New York (EEUU).

Philippe A, Schaumann GE. Evaluation of hydrodynamic chromatography coupled with UV-visible, fluorescence and inductively coupled plasma mass spectrometry detectors for sizing and quantifying colloids in environmental media. PLoS One. 2014;9(2):e90559.

Pinto AN, Seth R, Zhou F, Tallon J, Dempsey K, Tracy M, Gilbert GL, O'Sullivan MV. Emergence and control of an outbreak of infections due to Panton-Valentine leukocidin positive, ST22 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit. Clin Microbiol Infect. 2013;19(7):620-7.

Plata K, Rosato AE, Wegrzyn G. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. Acta Biochim Pol. 2009;56(4):597-612.

Plowman RG. The socio-economic burden of hospital acquired infection. Euro Surveill. 2000;5(4):49-50.

Raddi MSG, Leite Mendonça CQF. *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. Rev Saúde Pública. 2009;22:36-40.

Rahman A, Hossain MA, Paul SK, Sultana S, Haque N, Kabir MR, Hoque SM. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (MRCoNS) by disk diffusion method. Mymensingh Med J. 2013;22(2):229-31.

Rezaee MA, Mirkarimi SF, Hasani A, Sheikhalizadeh V, Soroush MH, Abdinia B. Molecular Typing of *Staphylococcus aureus* Isolated From Clinical Specimens During an Eight-Year Period (2005 - 2012) in Tabriz, Iran. Arch Pediatr Infect Dis. 2016;4(2).

Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. J Clin Microbiol. 2005; 43(4):1985-8.

Robinson DA, Kearns AM, Holmes A, Morrison D, Grundmann H, Edwards G, O'Brien FG, Tenover FC, McDougal LK, Monk A B, Enright MC. Re-emergence of early pandemic *Staphylococcus aureus* as a community-acquired methicillin-resistant clone. *Lancet*. 2005;365:1256-8.

Robert S, Chambers S. Diagnosis and management of *Staphylococcus aureus* infections of the skin and soft tissue. *Intern Med J*. 2005;35:97S-105S.

Roberts MC, Soge OO, No D, Helgeson SE, Meschke JS. Characterization of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from public surfaces on a University Campus, Student Homes and Local Community. *J Appl Microbiol*. 2011;110:1531-7.

Rodriguez-Baño J, Millan AB, Dominguez MA, Almirante B, Cercenado E, Padilla B et al. GEIH/GEMARA/REIPI. Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Spanish Hospitals. A Survey from the (MRSA) 2003 GEIH/GEMARA/REIPI Project. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;24:149-56.

Rogasch K, Ruhmling V, Pane-Farre J, Hoper D, Weinberg C, Fuchs S, Schmutte M, Broker BM, Wolz C, Hecker M, Engelmann S. Influence of the two-component system SaeRS on global gene expression in two different *Staphylococcus aureus* strains. *J Bacteriol*. 2006;188:7742-58.

Rosenbach AJ. Mikro-Organismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen. Wiesbaden, J.F. Bergmann, 1884;18.

Rouch DA, Messerotti LJ, Loo LS, Jackson CA, Skurray RA. Trimethoprim resistance transposon Tn4003 from *Staphylococcus aureus* encodes genes for a dihydrofolate reductase and thymidylate synthetase flanked by three copies of IS257. *Mol Microbiol*. 1989;3(2):161-75.

Rowland SJ, Dyke KGH. Characterization of the staphylococcal -lactamase transposon Tn552. *EMBO J*. 1989;8:2761-73.

Saïd-Salim B, Mathema B, Kreiswirth BN. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003;24:451-5.

Said-Salim B, Dunman PM, McAleese FM, Macapagal D, Murphy E, McNamara PJ, Arvidson S, Foster TJ, Projan SJ, Kreiswirth BN. Global regulation of *Staphylococcus aureus* genes. *Rot J Bacteriol.* 2003;185:610-9.

Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Ilídio AF, Rodrigues CR, Castro HC. *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance. *J Bras Patol Med Lab.* 2007;43(6):413-23.

Schmitz FJ, Jones ME. Antibiotics for treatment of infections caused by MRSA and elimination of MRSA carriage. What are the choices? *International J Antimicrob Agents.* 1997;9:1-19.

Schmitz FJ, Verhoef J, Idel H, et al. Impact of hygienic measures on the development of methicillin resistance among staphylococci between 1991 and 1996 in a university hospital. *J Hosp Infect.* 1998;38(3):237-40.

Sendi P, Proctor RA. *Staphylococcus aureus* as an intracellular pathogen: the role of small colony variants. *Trends Microbiol.* 2009;17:54-8.

Sinha BM. *Staphylococcus aureus* host cell invasion and post-invasion events. *Int J Med Microbiol.* 2010;300:170.

Shiomori T, Miyamoto H, Makishima K. Significance of airborne transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an otolaryngology-head and neck surgery unit. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001;127(6):644-8.

Shiomori T, Miyamoto H, Makishima K, Yoshida M, Fujiyoshi T, Udaka T, et al. Evaluation of bedmaking-related airborne and surface methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination. *J Hosp Infect.* 2002;50(1):30-5.

Skurray RA, Firth N. Molecular evolution of multiply antibiotic resistant staphylococci. 1997;167-91. A: Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread. Editor: Wiley J. Ciba Foundation Symposium 207.

Smith AJ, Brewer A, Kirkpatrick P, Jackson MS, Young J, Watson S, Thakker B. Staphylococcal species in the oral cavity from patients in a regional burns unit. *J Hosp Infect.* 2003;55:184–9.

Sierra-Madero JG, Knapp C, Karaffa C, Washington JA. Role of β -lactamase and different testing conditions in oxaciline-bordelinesusceptible staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988;32:1754-7.

Silbert S, Kubasek C, Uy D, Widen R. Comparison of ESwab with traditional swabs for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using two different walk-away commercial real-time PCR methods. *J Clin Microbiol.* 2014;52(7):2641-3.

Sykes R. The 2009 Garrod Lecture: The Evolution of Antimicrobial Resistance: A Darwinian Perspective. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010;65:1842-52.

Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:11030-5.

Tomasz A, Drugeon HB, de Lencastre HM, Jabes D, McDougall L, Bille J. New mechanism for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: clinical isolates that lack the PBP 2a gene and contain normal penicillin-binding proteins with modified penicillin-binding capacity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989;33(11):1869-74.

Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev.* 2015 Jul;28(3):603-61. doi: 10.1128/CMR.00134-14.

Tokue Y, Shoji S, Satoh K, et al. Comparison of a polymerase chain reaction assay and a conventional microbiologic method for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992;36:6–9.

Townsend DE, Ashdown N, Bolton S, Bradley J, Duckworth G, Moorhouse EC, Grubb WB. The international spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect.* 1987:60-71.

Todar K. Web Review of Todar's Online Textbook of Bacteriology. "The Good, the Bad, and the Deadly". In: TODAR, K. eb Review of Todar's Online Textbook of Bacteriology. "The Good, the Bad, and the Deadly". [S.l.]: On Line Textbook Of Bacteriology. 2014;1-6.

Ubukata K, Yamahita N, Konno M. Ocurrence of a beta-lactaminducible penicillin-binding protein in methicillin-resistant staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;34:170-2.

Vandendriessche S, Vanderhaeghen W, Larsen J, de Mendonça R, Hallin M, Butaye P, Hermans K, Haesebrouck F, Denis O. High genetic diversity of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) from humans and animals on livestock farms and presence of SCCmec remnant DNA in MSSA CC398.J *Antimicrob Chemother.* 2014;69(2):355-62.

Vaudaux PE, Lew DP, Waldvogel FA: Host factors predisposing to and influencing therapy of foreign body infections. p. 1. In Bisno AL, Waldvogel FA (eds): *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*. 2nd Ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1994

Velázquez-Meza ME. *Staphylococcus aureus* methicillin-resistant: emergence and dissemination. *Salud Pública de México.* 2005;47:381-7.

Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J Med.* 2001;4;344(1):11-6.

Voyich JM, Braughton KR, Sturdevant DE, Whitney AR, Said-Salim B, Porcella SF, Long RD, Dorward DW, Gardner DJ, Kreiswirth BN, Musser JM, DeLeo FR. Insights into mechanisms used by *Staphylococcus aureus* to avoid destruction by human neutrophils. *J Immunol.* 2005;175:3907-19.

Weber JT. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2005;41:269-72.

Wenzel RP, Reagan DR, Bertino JS Jr, Baron EJ, Arias KA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak: a consensus

panel's definition and management guidelines. *Am J Infect Control.* 1998;26:102-10.

Wertheim HF, Vos MC, Ott A, van Belkum A, Voss A, Kluytmans JA, van Keulen PH, Vandenbroucke-Grauls CM, Meester MH, Verbrugh HA. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet.* 2004;21-27;364(9435):703-5.

Wielders CLC, Fluit AC, Brisse S, Verhoef J, Schmitz FJ. *mecA* Gene is widely disseminated in *Staphylococcus aureus* population. *J Clin Microbiol.* 2002;40:3970-5.

Wilcox MH. Antibiotic prescribing as a risk factor for (MRSA). *Hosp Med.* 2005;66(3):180-4.

White A. Increased infection rates in heavy nasal carriers of coagulase-positive staphylococci. *Antimicrobial Agents Chemother.* 1963;161:667-70.

Wu S, Piscitelli C, De Lencastre H, Tomasz A. Tracking the evolutionary origin of the methicillin resistance gene: Cloning and sequencing of a homologue *mecA* from a methicillin susceptible strain of *Staphylococcus sciuri*. *Microbial Drug Resistance.* 1996;2:435-41.

Younai FS. Health Care-Associated Transmission of Hepatitis B & C Viruses in Dental Care (Dentistry) Clinics in Liver Disease. 2010;14(1):93-104.

Zhang HZ, Hackbarth CJ, Chansky KM, Chambers HF. A proteolytic transmembrane signalling pathway and resistance to β -lactams in staphylococci. *Science.* 2001;291:1962-5.

Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome *mec* types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5026-33.

APÊNDICES

Apêndice I – Instrumento de Caracterização Profissional

ANEXO C

Questionário aos acadêmicos de Odontologia e Funcionários da UTI: **Colonização por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em estudante de odontologia da Universidade Extremo Sul Catarinense e funcionários da UTI do Hospital São José em Criciúma – Santa Catarina – Brasil** e as interfaces com infecções nosocomiais e ambulatoriais.

1. Caracterização do acadêmico UNESC/Profissional UTI Hospital São José

1. a. Número do Entrevistado _____

1. b. Fase do curso (para os acadêmicos) _____

1. c. Data de Contratação no Hospital (para funcionários do Hospital)

1. d. Data de Nascimento _____ / _____ / _____

1. e. Sexo _____

2. Quantas horas você permanece nas clínicas odontológicas/UTI semanalmente?

2.1. a: () 6 horas

2.1. b: () 9 horas

2.1. c: () 12 horas

2.1. d: () 20 horas

2.1. e: () 30 horas

2.1. f: () 36horas

2.1. g: () 40 horas

2.1. h: () acima de 40 horas

3. Você apresenta quadros:

3.1 Faringites?

3.1. a () Frequentemente

3.1. b () Às vezes

3.1. c () Raramente

3.1. d () Nunca

3.2 Amigdalites?

3.2. a () Frequentemente

3.2. b () Às vezes

3.2. c () Raramente

3.2. d () Nunca

3.3 Sinusites?

3.3. a () Frequentemente

3.3. b () Às vezes

3.3. c () Raramente

3.3. d () Nunca

4. Você faz uso de antissépticos orais (Cepacol, Listerine, Plax, Anapion, outros)?

4. a () Sim 4.b () Não

4. C Quantas vezes ao dia? _____

5. Você fez uso de antimicrobianos recentemente?

5. a () Sim 5.b () Não

5. c Quando? _____

5. d Quais? _____

5. e Durante quanto tempo? _____

6. Você utiliza antimicrobianos por conta própria?

6. a () Sim 6.b () Não

6. c Frequencia:

6. d () Sempre 6.e () Esporadicamente 6.f () Nunca

6. g Quais:

7. Você prepara e administra antimicrobianos?

7. a () Sim 7.b () Não

7.2 Em caso afirmativo com que frequência?

7.2. a () Sempre 7.2.b () Esporadicamente 7.2.c () Nunca

7.2 d: Qual (is)

8. Você utiliza Equipamento de Proteção Individual (EPI) ao atender o paciente?

8.1 () Sim 8.2 () Não

8.2 Se afirmativo assinala qual(is)

8.2. a () Máscara

8.2. b A troca de máscara é feita com que frequência:

8.2. c () Sempre 8.2 d () Esporadicamente 8.2.e () Nunca

9. () Luvas

9. a A troca de luvas é feita com que frequência:

9. b () Sempre 9.c () Esporadicamente 9.d () Nunca

10 () Jaleco (avental de mangas longas)

10. a A troca de jalecos é feita com que frequência:

10. b () Sempre 10.c () Esporadicamente 10.d () Nunca

11. () Gorro

11. a A troca de gorros é feita com que frequência:

11. b () Sempre 11.c () Esporadicamente 11.d () Nunca

12. () Óculos de Proteção:

12. a A troca de óculos é feita com que frequência:

12. b () Sempre 12.c () Esporadicamente 11.e () Nunca

13. Com qual frequência você higieniza as mãos?

13. a () Sempre 13.b () Esporadicamente 13.c () Nunca

14. Um profissional de saúde colonizado por germes resistentes aos antimicrobianos oferece algum risco para a equipe de saúde e para os clientes?

14. a () Sim 14.b () Não

14. c Que tipo de risco?

15 Na sua opinião existe algum profissional de saúde mais suscetível à colonização por germes resistentes aos antimicrobianos

15. a () Sim 15. b () Não

16. Quanto a gravidade das doenças, como você considera as causadas por germes resistentes

aos antimicrobianos? Assinale as alternativas que considere corretas.

- 16 a. São como quaisquer outras
- 16. b Estão associados ao maior índice de mortalidade
- 16. c São de difícil tratamento
- 16. d O tratamento pode ser inexistente
- 16 e outros; cite-os _____

17. Você tem conhecimento sobre germes resistentes aos antimicrobianos?

- 17. a Sim 17. b Não

18. Para você o que dificulta o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI) pelo profissional de saúde?

- 18. a Interfere no trabalho
- 18. b Acesso difícil aos EPI(s)
- 18. c Inabilidade para seu uso
- 18. d Desconhecimento da indicação de uso
- 18. e Não estão disponíveis na unidade em quantidades suficientes
- 18. f Esquecimento
- 18. g Acha desnecessário
- 18. h Desconfortável
- 18. i Compromete o visual
- 18. j Outros

19. Durante a sua jornada de trabalho, você:

- 19. a Faz uso de anéis
- 19. b Faz uso de aliança
- 19. c Faz uso de pulseiras
- 19. d Faz uso de relógios
- 19. e Faz uso de unhas grandes
- 19. f Faz uso de uniforme limpo
- 19. g Faz uso de mesmo uniforme que usou em outro estabelecimento de saúde
- 19. h Faz uso de alimentos

20. Deseja acrescentar algo? _____

ANEXOS

Anexo I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **COLONIZAÇÃO POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTES À METICILINA EM ESTUDANTES DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE EXTREMO SUL CATARINENSE E FUNCIONÁRIOS DA UTI DO HOSPITAL SÃO JOSÉ EM CRICIÚMA – SANTA CATARINA – BRASIL E AS INTERFACES COM INFECÇÕES NOSOCOMIAIS E AMBULATORIAS**

Justificativa do estudo: Nos dias atuais a preocupação com a presença de micro-organismos faz parte da rotina estabelecida em consultórios odontológicos e em ambientes hospitalares. A presença destes patógenos torna-se motivo de preocupação entre as medidas de biossegurança que são adotadas durante o atendimento, tentando evitar a contaminação cruzada. O *Staphylococcus aureus* é um microrganismo que habita os locais próximos aos locais de atuação do Cirurgião Dentista, ou seja: a cavidade oral, garganta e também o nariz. Por outro lado, *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (*MRSA*) quando causam infecções no ser humano, estas apresentam um grande número de morbidades e mortalidades em hospitais. Nestas situações estes patógenos são resistentes a múltiplas classes de antibióticos, o *MRSA* adquirido na comunidade era suscetível à eritromicina, azitromicina, tetraciclina, etc. e demais antibióticos e geneticamente foi adquirindo resistência (SEVENS, et al. 2007). Por este motivo a pesquisa de sua identificação molecular em estabelecimentos ambulatoriais, tais como consultórios odontológicos e em UTI(s) e em profissionais da Odontologia, assim como em funcionários de Unidades de Terapias Intensivas, torna-se nos dias de hoje extremamente importante.

Objetivo do estudo: Este trabalho se propõe a isolar e caracterizar cepas de *MRSA* e de *MSSA* em superfícies clínicas odontológicas e UTI hospitalar (funcionários e superfícies), quantificar a prevalência de acadêmicos e funcionários da UTI hospitalar colonizados por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, que frequentam a clínica escola do curso de odontologia s trabalham na UTI do Hospital São José de Criciúma-SC.

Proposta do Estudo: O Sr (a) _____ está sendo convidado (a) a participar deste estudo, que busca definir a possibilidade de contaminação por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina em Odontologia da UNESC e em Funcionários da UTI do Hospital São José

Explicação dos procedimentos:

Serão coletadas amostras nasais através de swab (espécie de cotonete mais alongado). Este procedimento será realizado uma única vez a partir de seu consentimento e por pessoas previamente treinadas para tanto.

Benefícios

Pode haver benefício direto sobre o controle da colonização por *Staphylococcus aureus* resistentes ou não a meticilina adquirido e que encontra-se presente em seu organismo. O encaminhamento, orientações e prescrições para esta descolonização deste micro-organismo deverá contribuir para sua saúde geral.

Desconfortos e Riscos

Os desconfortos conhecidos são aqueles relacionados com a retirada do material para análise de dentro de seu nariz. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos critérios da ética em pesquisa com seres humanos conforme resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Participação voluntária no estudo

A participação neste estudo é voluntária. Você pode se recusar a participar, bem como cancelar sua participação a qualquer momento do mesmo. Esta decisão não afetará de nenhuma maneira os cuidados médicos que lhe serão oferecidos.

Confidencialidade:

Seu prontuário médico poderá ser consultado pelos profissionais envolvidos no estudo. Entretanto, o seu nome não será mencionado em publicações ou relatórios produzidos para este. Será garantido a manutenção do sigilo e da privacidade dos participantes da pesquisa durante todas as fases da mesma.

Armazenamento de amostras:

As amostras serão armazenadas no Laboratório de Fisiopatologia Experimental da UNESC para a realização das análises. Se no futuro houver necessidade de dosagem de outras substâncias o paciente ou responsável serão contatados para nova autorização para uso deste material.

Custos de Participação: A participação no estudo não acarretará custos para você não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

Forma de acompanhamento e assistência:

Todos os participantes serão acompanhados se necessário no decorrer do estudo nas consultas pré-agendadas, por telefone ou nas Clínicas Integradas da UNESC.

Consentimento para a participação no estudo

A sua assinatura significa que você leu este formulário, ou que ele foi lido para você, que lhe foram dadas todas as explicações sobre o estudo, que você recebeu respostas para as suas dúvidas, está satisfeito com as informações que lhe foram dadas e concordou com a participação no estudo

Eu, _____
abaixo assinado, fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Em caso de dúvidas poderei chamar o(a) Coordenador(a) do estudo Prof. Dr. Felipe Dal- Pizzol no telefone (48) 99885483, os pesquisadores responsáveis Wolnei Luiz Centenaro no telefone (54) 91066294. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Nome do participante: _____

Assinatura: _____

Data: _____

Prof. Dr. Felipe Dal-Pizzol Orientador

Assinatura _____

Data _____

Wolnei Luiz Amado Centenaro Pesquisador

Assinatura _____

Data: _____

ANEXO II – PARECER CONSUBSTANCIADO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE DO EXTREMO
SUL CATARINENSE - UNESC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: COLONIZAÇÃO POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS E STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES À METICILINA EM ESTUDANTES DE ODONTOLOGIA E FUNCIONÁRIOS DE UMA UTI GERAL E AS INTERFACES COM INFECÇÕES NOSOCOMIAIS E AMBULATORIAIS.

Pesquisador: felipe dal pizzol

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 37760114.2.0000.0119

Instituição Proponente: Universidade do Extremo Sul Catarinense

Patrocinador Principal: Universidade do Extremo Sul Catarinense

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 887.907

Data da Relatoria: 29/10/2014

Apresentação do Projeto:

A presente pesquisa tem por objetivo verificar a colonização por STAPHYLOCOCCUS AUREUS E STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES À METICILINA em estudantes de odontologia e funcionários de uma UTI geral e as interfaces com infecções nosocomiais e ambulatoriais de um hospital da região do extremo sul catarinense. com uma amostra de 27 estudantes e 30 funcionários selecionados aleatoriamente.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

-Isolar e caracterizar cepas de Staphylococcus aureus e Staphylococcus aureus resistentes à meticilina em superfícies clínicas odontológicas e em acadêmicos de um curso de odontologia além das superfícies clínicas e funcionários de uma UTI geral

Objetivos Específicos:

-Quantificar a prevalência de acadêmicos do curso de Odontologia e funcionários da UTI geral colonizados por Staphylococcus aureus e Staphylococcus aureus resistentes à

Endereço: Avenida Universitária, 1105

Bairro: Universitário

CEP: 88.806-000

UF: SC

Município: CRICIUMA

Telefone: (48)3431-2723

Fax: (48)3431-2750

E-mail: cetica@unesc.net

UNIVERSIDADE DO EXTREMO
SUL CATARINENSE - UNESC



Continuação do Parecer: 887.907

metilina;

-Caracterizar do ponto de vista molecular as cepas isoladas de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina;

-Traçar o perfil dos profissionais e acadêmicos colonizados por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina, e a adesão dos mesmos às medidas de precaução-padrão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A presente pesquisa, resguardado a confidencialidade dos dados pessoais dos participantes não apresenta maiores riscos aos mesmos, pode ocorrer um leve desconforto na coleta de material para a cultura nasal mas nada que comprometa a pesquisa. Quanto aos benefícios a presente pesquisa pode contribuir para um melhor entendimento das infecções hospitalares e ambulatoriais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante e que apresenta condições de ser realizada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória estão adequados.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A presente pesquisa não apresenta pendências ou inadequações.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Avenida Universitária, 1105
Bairro: Universitário **CEP:** 88.806-000
UF: SC **Município:** CRICIUMA
Telefone: (48)3431-2723 **Fax:** (48)3431-2750 **E-mail:** cetica@unesc.net

UNIVERSIDADE DO EXTREMO
SUL CATARINENSE - UNESC



Continuação do Parecer: 887.907

CRICIUMA, 27 de Novembro de 2014

Assinado por:
RENAN ANTONIO CERETTA
(Coordenador)

Endereço: Avenida Universitária, 1105
Bairro: Universitário **CEP:** 88.806-000
UF: SC **Município:** CRICIUMA
Telefone: (48)3431-2723 **Fax:** (48)3431-2750 **E-mail:** cetica@unesc.net