

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 23/08/2018.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Lígia Maria Abraão

**CARREAMENTO NASAL/ORAL DE *Staphylococcus aureus*
EM POPULAÇÕES INDÍGENAS DO NORTE E SUDESTE DO
BRASIL: RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA, VIRULÊNCIA,
FATORES DE RISCO E EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor(a) em Doenças
Tropicais

Orientador: Prof^ª. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha
Co-orientador: Prof^º. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

**Botucatu
2017**

Lígia Maria Abraão

CARREAMENTO NASAL/ORAL DE *Staphylococcus aureus* EM POPULAÇÕES INDÍGENAS DO NORTE E SUDESTE DO BRASIL: RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA, VIRULÊNCIA, FATORES DE RISCO E EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor(a) em Doenças Tropicais

Orientador: Prof^ª. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha
Co-orientador: Prof^º. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Abraão, Lígia Maria.

Carreamento nasal/oral de *staphylococcus aureus* em populações indígenas do norte e sudeste do Brasil : resistência antimicrobiana, virulência, fatores de risco e epidemiologia molecular / Lígia Maria Abraão. - Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Coorientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Capes: 40101096

1. Epidemiologia molecular. 2. *Staphylococcus aureus*. 3. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. 4. Mucosa nasal. 5. Nativos. 6. Virulência (Microbiologia). 7. Fatores de risco.

Palavras-chave: Colonização Nasal/Oral; Epidemiologia molecular; MRSA; Populações indígenas.

"O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece." (Benjamin Disraeli)



A minha família (Minha Mãe Mara e irmãos, Aline e Guilherme), por todo amor, carinho e pelo apoio em todas as horas. Em especial, a minha mãe, pelo suporte inigualável, pelo cuidado, pelo amor incondicional e pela compreensão de sempre. A minha caminhada só tem sido possível, porque vocês são o alicerce que me sustenta.

Ao meu pai, Mário Augusto (in memoriam)

De quem eu sinto tanta falta... Obrigada por ter sido meu pai, por ter me apoiado e me amado ao longo de toda sua vida! Obrigada por ter permanecido firme nos momentos difíceis, o que nos tornou pessoas mais perseverantes.

A família Medeiros de Souza: Dona Aparecida, Sr. Edilmar e Rodrigo.

Obrigada pela forma tão acolhedora com a qual me receberam e pelo cuidado que tiveram comigo ao longo dos 3 meses que permaneci em Cruzeiro do Sul – Acre. Esse trabalho não teria sido possível sem o apoio de vocês. Vocês são muito especiais!

A Deus, centro de todas as coisas, centro da minha vida e razão do meu existir! Obrigada pela forma surpreendente com a qual tem agido em minha vida, obrigada por me sustentar e me permitir sempre a crer no melhor, mesmo quando tudo parece contrário.

A minha querida Mãe Mara, por ser a melhor mãe que eu poderia ter! Por acreditar em mim, por ser minha melhor amiga, por me encher de amor mesmo estando longe. Você é um exemplo para mim, obrigada por tudo!

Aos meus irmãos Aline e Guilherme, por serem tão especiais comigo, pelo amor, pelo auxílio e cuidado de sempre. Pelo apoio e por me proporcionarem tantos momentos de alegria, descontração e diversão. Tenho orgulho de ser irmã de vocês!

À minha Avó Irene, pelo amor, cuidado, carinho e preocupação. Pelo suporte que sempre me oferece, pelo exemplo vivo de amor ao próximo que me dá com suas ações diárias.

À minha Tia Guinha (Ana) pelo carinho, pelas orações constantes e por acreditar na realização dos meus sonhos.

À Família Shallom, pela convivência, aprendizado, suporte. Pelo crescimento que me proporcionaram ao longo desses anos, pela torcida, pelas incansáveis orações.

Aos meus queridos amigos (de longas e curtas datas): Cris Naves, Joseana, Fernanda Catane, Anita, Manuel Mário & Joice, Juliana, Maria Rachel, Domingos, Carol, Gustavo e Amanda, entre outros também especiais. Obrigada pelo bem que me proporcionam através dessa amizade especial, pelo companheirismo, carinho, apoio, auxílio nos momentos difíceis. Enfim, obrigada por tudo que vivenciamos. Vocês são muito especiais!

À equipe da CCIRAS do Hospital Unimed Botucatu (Dra. Sandra, Dr. Paulo e Fabiana). Obrigada pela oportunidade, pelo imenso aprendizado que fez toda a diferença em minha vida e pela compreensão ao longo da construção desse trabalho. Em especial a Dra. Sandra, pelos valiosos ensinamentos, pelo carinho e pelo crescimento profissional e pessoal que me proporcionou ao longo dessa trajetória.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, pelo aprendizado, pelas experiências e pelo suporte que me impulsionaram e capacitaram a seguir em frente. Em especial à Profa. Semíramis que tanto me apoiou e incentivou ao longo da realização desse trabalho.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Profa. Alexandrina, um exemplo de pró-atividade e competência! Obrigada por todo auxílio, suporte e preocupação ao longo desse trabalho.

À minha orientadora Prof^a. Lurdinha, pela oportunidade que me deu de fazer parte dessa equipe tão dedicada e competente, pelo apoio, pelo crescimento proporcionado, por ter acreditado que eu poderia dar bons frutos! Você é um exemplo de garra, determinação e perseverança... é um privilégio fazer parte dessa equipe!

Ao meu co-orientador Prof. Carlos Magno, por todo suporte, pela confiança, pela paciência, pelo aprendizado que me proporciona sempre! Obrigada pela ajuda com as análises estatísticas e pelo estímulo que tem me dado ao longo desses anos. Você é um profissional que tenho como referência.

Ao Prof. Rodrigo Medeiros, colaborador desse projeto. Muito obrigada por ter entrado nessa empreitada com todo entusiasmo e dedicação! Obrigada pelo suporte, pelo acolhimento, pelo aprendizado. Esse trabalho não teria caminhando sem o auxílio de vocês.

Ao Jairo, indigenista de Cruzeiro do Sul-Acre, obrigada por todo suporte e pelas tramitações com os indígenas.

Aos grupos indígenas que participaram desse estudo, pela abertura que nos deram, por compartilharem um pouco da história e cultura indígena e por nos permitirem realizar essa pesquisa tão diferenciada.

Aos meus amigos e colegas Laboratório de Bacteriologia: Adilson, Ayrir, Ana Cláudia, Camila, Danilo, Eliane, Katheryne, Luiza, Natália, Priscila, Taís Donegá, Thais Alves, Yohana e Felipe, por toda ajuda dispendida, pela amizade, pelo companheirismo, pelos momentos de alegrias e descontração, e pelo aprendizado mútuo ao longo do desenvolvimento desse trabalho. Em especial a Thais, por toda ajuda ao longo de todos esses anos (e que ajuda), pela amizade, pela parceria!

Aos amigos Carlos e Mariana, vocês são além de especiais! Obrigada pela amizade, companheirismo, e pelo suporte de sempre, aprendo constantemente com vocês!

Ao Adriano Martison, por todo auxílio e contribuição.

Aos funcionários, alunos e professores do Departamento de Microbiologia e Imunologia, pela assistência, pelo carinho e pela prontidão com a qual prestam os serviços.

Aos Funcionários do Departamento de Doenças Tropicais (Michele e Júlio) pela simpatia, atenção e por todo auxílio prestado.

À Seção técnica de Pós-Graduação pela atenção com as quais recebem os alunos, pela prontidão em sanar dúvidas e por todo serviço prestado.

À Bruna, secretária do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, pela simpatia de sempre, pela atenção e preocupação, pela paciência, e por todo auxílio despendido ao longo desse período.

À Banca do Exame Geral de Qualificação composta pelo Dr. Carlos Henrique Camargo e Dr. Ricardo Cavalcante, pelas pertinentes colocações e sugestões, que contribuíram diretamente para melhoria do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo suporte financeiro prestado.

À equipe do SCIH do Hospital Alemão Oswaldo Cruz (Dr. Ícaro, Cris Schmitt, Márcia e Paulinha) pelo aprendizado constante, pelo apoio e compreensão dos meus momentos de ausência nesse processo de finalização do trabalho. Vocês são incríveis, é uma honra fazer parte dessa equipe!

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o alcance de mais essa etapa em minha vida. Obrigada!

Breve experiência em terras indígenas

Desde o delineamento dessa pesquisa, sabia que essa seria uma missão bastante difícil. No entanto, era certo que essa tarefa viria acompanhada de experiências incríveis e de um aprendizado imensurável. Realmente não foi diferente, trabalhar com populações indígenas foi uma oportunidade enriquecedora, os indígenas possuem hábitos e costumes distintos, apresentam uma cultura única e uma dinâmica de vida extremamente peculiar.

Ao longo de toda essa trajetória, surgiram muitos desafios, dos quais gostaria de compartilhar alguns. A tramitação ética com populações especiais é extremamente difícil e demorada, exigindo o envolvimento de diversas frentes, inúmeras autorizações, negociações prévias. Mas, com muita perseverança, tudo foi possível!

Quanto à experiência em terras indígenas, certamente daria para escrever um livro com todas as vivências. Começamos as coletas no município de Arai, distrito de Bauru. As coletas eram programadas aos finais de semana, de modo que isso já tivesse combinado previamente. Transportávamos todo material necessário: swabs, solução fisiológica, os questionários para entrevista, entre outros. Normalmente, nos reuníamos em escolas (nas próprias aldeias) e os indígenas se dirigiam até o local de coleta. Fato interessante, era que, com aprovação e incentivo do Cacique, tudo caminhava muito bem. Foram longos dias de coletas, que normalmente eram sem parada para aproveitar o fluxo e otimizar o trabalho. Para realização das coletas em Arai (2 aldeias), contei com o apoio das Enfermeiras, amigas e parceiras de Laboratório, Eliane e Thaís, que fizeram toda a diferença.

Já no Acre, o cenário mudou completamente. Enquanto em Bauru o acesso era via terrestre, em Cruzeiro do Sul, um dos municípios do estudo, além do acesso via terrestre (com estradas totalmente acidentadas) era necessário um trajeto pelos rios para conseguir acessar as aldeias. Embora Cruzeiro do Sul tenha sido uma das áreas do estudo, também trabalhamos nos municípios adjacentes: Mâncio Lima e Feijó.

A programação das coletas dependia da disponibilidade e autorização dos Caciques. Trabalháramos acompanhando rotina de cada aldeia. Nessa circunstância, precisávamos pensar na logística de transporte, aluguel de barco, barqueiro, compra de combustível. Transportávamos além dos materiais, alimentos (para consumo próprio), protetor solar, guarda-chuvas, e um estoque de repelente (que nem sempre dava conta dos famosos "Diúns", que fazem dos "borrachudos" seres quase insignificantes).

Quando as coletas eram em Cruzeiro do Sul, nos programávamos para passar o dia na aldeia, retornando no final da tarde. Acordávamos cedo, percorríamos um trajeto em terra e depois era o momento de subir o Rio. O estado do Acre é cercado de Tigarapés de diversos tamanhos e profundidades. A distância entre as aldeias era variável, o tempo médio

para subir o rio era cerca de 1 hora ou mais, já para descer, era possível conseguir dentro de 40 minutos. Detalhe importante, tudo ficava mais difícil caso chovesse e no Acre, isso acontece todo final de tarde.

Para as coletas realizadas em Feijó (quase 300 km de Cruzeiro do Sul), era necessário passar o dia na cidade. A logística era a mesma, porém no final do dia retornávamos para a cidade e ficávamos hospedados em uma pousada. Foram 10 aldeias percorridas entre as diferentes etnias estudadas. Entre o calor de 40 graus, as caminhadas nas matas e as intensas pancadas de chuvas, coletamos amostras de mais de 400 indígenas. Logo após as coletas, as amostras eram devidamente acondicionadas e enviadas ao Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Biociências - IBBS, UNBRS de Botucatu. Permaneci na região um pouco mais de 3 meses, para conseguir finalizar o trabalho.

Foram momentos extremamente ricos, de muito aprendizado, com uma miscelânea de aventuras, novas experiências e muitas descobertas acerca dos povos indígenas. Se um dia tiver oportunidade, quero voltar! Além de ser um campo vasto para estudos, trata-se de uma população que carece por um serviço de assistência em saúde mais consistente e eficaz.

No Acre, contei com a colaboração do Prof. Rodrigo da Universidade Federal do Acre, que além de colaborador, se tornou um grande parceiro e amigo.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	<i>Staphylococcus aureus</i> : epidemiologia, patogênese, resistência antimicrobiana e relevância clínica.....	1
1.2.	Estudos sobre colonização/infecção por <i>Staphylococcus aureus</i> em populações indígenas.....	7
1.2.1	Cenário Nacional.....	9
2	JUSTIFICATIVA.....	11
3	OBJETIVOS.....	12
3.1	Objetivo Geral.....	12
3.2	Objetivos Específicos.....	12
4	METODOLOGIA.....	13
4.1	Local do Estudo.....	13
4.2	População do Estudo	14
4.3	Coleta de dados demográficos e clínicos.....	15
4.4	Coleta de espécimes microbiológicos.....	16
4.5	Identificação dos espécimes	16
4.6	Avaliação da sensibilidade <i>in vitro</i> aos antimicrobianos	17
4.7	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	17
4.8	Extração do DNA bacteriano	18
4.9	PCR – <i>Real Time</i>	18
4.9.1	Detecção do gene <i>mecA</i> de resistência à oxacilina	18
4.9.2	Detecção dos genes da Leucocidina Pantone Valentine	19
4.10	Caracterização do SCC <i>mec</i>	20
4.11	<i>Pulsed-field gel electrophoresis</i>	20
4.12	Pesquisa de genes de virulência (toxinas estafilocócicas)	23
4.13	Detecção dos genes envolvidos na formação e adesão do biofilme	23
4.14	Tipagem molecular de <i>Staphylococcus aureus</i> por MLST	23
4.14.1	Extração de DNA.....	23
4.14.2	Amplificação dos genes conservados para o MLST.....	23
4.14.3	Sequenciamento e análise do MLST.....	24
5	Análise <i>e-BURST</i>	25
6	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	25

7	ANÁLISE QUESTÕES ÉTICAS.....	25
8	RESULTADOS.....	26
9	DISCUSSÃO.....	45
10	CONCLUSÃO	52
11	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
12	ANEXOS.....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição das amostras por região e prevalência de carreamento por <i>S. aureus</i> entre sítios de colonização.....	26
Figura 2. Curva de <i>Melting</i> (Padrão) e corrida da reação do gene <i>mecA</i> no Real Time PCR – <i>Step One Plus (Applied Maths)</i>	28
Figura 3. Dendrograma gerado pela análise Dice/UPGMA (<i>Bionumerics Applied Maths</i>) dos perfis PFGE - <i>SmaI</i> de 190 isolados de <i>S. aureus</i> e MRSA provenientes de indivíduos hígidos de populações indígenas no sudeste e norte do Brasil.....	35
Figura 4. Dendrograma gerado pela análise Dice/UPGMA (<i>Bionumerics Applied Maths</i>) dos perfis PFGE - <i>SmaI</i> de isolados de <i>S. aureus</i> e MRSA dos principais clusters identificados entre as populações indígenas no sudeste e norte do Brasil.(<i>Dice; Optimization: 0.5 %; Tolerance:1.25 %</i>).....	37
Figura 5. <i>eBURST</i> de <i>S. aureus</i> baseado nos STs representados pelos isolados contidos no banco de dados on-line <i>S. aureus</i> MLST, incluindo os STs isolados de indígenas das populações do sudeste e norte do Brasil.....	38

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais síndromes infecciosas causadas por <i>Staphylococcus aureus</i>	1
Quadro 2. Diferenças entre MRSA e CA-MRSA.....	5
Quadro 3. Distribuição da população indígena estimada para o estudo.....	14
Quadro 4. Oligonucleotídeos para a detecção do gene <i>sau</i>	16
Quadro 5. Limites da concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) para categorização de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
Quadro 6. Oligonucleotídeos para a detecção do gene <i>mecA</i>	19
Quadro 7. Oligonucleotídeos para a detecção dos genes da Leucocidina Panton-Valentine.....	19
Quadro 8. Oligonucleotídeos utilizados nas técnicas de PCR para a detecção de genes de virulência.....	22
Quadro 9. Oligonucleotídeos utilizados nas técnicas de PCR para a detecção do operon <i>ica</i> .	23
Quadro 10. Primers utilizados na amplificação dos 7 genes conservados.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados obtidos na determinação da susceptibilidade antimicrobiana pelos métodos de disco-difusão e <i>E-test</i> (Oxacilina e Vancomicina).....	27
Tabela 2. Distribuição dos genes de virulência entre os isolados de <i>S. aureus</i>	29
Tabela 3. Distribuição dos genes relacionados à produção de biofilme entre os isolados <i>S. aureus</i>	29
Tabela 4. Modelo de Regressão de Poisson para análise dos fatores de risco associados ao carreamento de <i>S. aureus</i>	40
Tabela 5. Resultados de análise univariada dos fatores de virulência (prevalência de genes) associada aos tipos de Etnias.....	43
Tabela 6. Resultados da análise univariada dos fatores de risco associados ao carreamento de <i>S. aureus</i> distribuídos por Etnias.....	44

Resumo

A origem racial representa um dos principais determinantes dos riscos de colonização e infecção por *Staphylococcus aureus*. Há algum tempo, comunidades indígenas têm se mostrado mais propensas em relação a tais riscos, apresentando linhagens de *S. aureus* com perfis distintos dos quais normalmente se encontram em populações não-nativas. Características peculiares entre diferentes populações, tais como viver em condições de superlotação, assistência em saúde prejudicada e condições precárias de higiene podem ser mais relevantes na patogênese de algumas formas de infecções por *S. aureus*. Deste modo, os indígenas inegavelmente se enquadram no grupo de risco para o carreamento de microrganismos resistentes, estando suscetíveis tanto à aquisição quanto à disseminação de infecções. O presente estudo objetivou a identificação da prevalência e de fatores de risco para carreamento nasal e oral de *S. aureus* sensíveis e resistentes à meticilina (Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* MSSA e Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* MRSA, respectivamente) em indígenas de comunidades do Norte e Sudeste do Brasil, avaliando a diversidade genética, disseminação, fatores de virulência e resistência antimicrobiana, associados às questões étnicas, demográficas, ambientais e comportamentais. Para tanto, foram coletadas amostras nasais e de orofaringe de 400 indígenas (116 da região sudeste e 284 da região norte) através de *swabs* estéreis e posteriormente elas foram semeadas em meio de cultura e identificadas pelos métodos tradicionais. Concomitantemente, foram levantados dados demográficos e clínicos dos sujeitos da pesquisa. Isolados de *S. aureus* foram submetidos a testes fenotípicos e genotípicos de suscetibilidade antimicrobiana e à caracterização do cassete cromossômico SCC*mec*. Para detecção dos genes de virulência, foi realizada a técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR). A análise do perfil clonal se procedeu através da técnica *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* – PFGE a fim de se identificar os clusters endêmicos na população. Com o intuito de se identificar grupos de genótipos relacionados, foi realizada a tipagem por *Multilocus sequence typing* – MLST. Os resultados evidenciaram taxa de prevalência geral de *S. aureus* de 47,6% (IC 95%: 42,64-52,64), enquanto que na região sudeste obteve-se um total de 43,1 % (IC 95% 33.94-52.62) e na região da Amazônia 49,4 % (IC 95% 43.50-55-45). Quando realizada a distribuição por sítios de colonização, as taxas foram 31,8% (IC 95%: 27,23 -36,82) de carreamento nasal e 25,7 (IC 95%: 21,53-30,55) oral. Em relação ao gene *mecA* de resistência à meticilina, 3 isolados foram positivos, sendo todos orais. Todas as amostras *mecA* positivas albergaram o SCC*mec* IV. Desse modo, a prevalência de MRSA no estudo foi de 0,7% (IC 95%: 0,19-2,37).

Nenhuma amostra resistente foi identificada na região sudeste. Tratando-se da detecção dos genes de virulência, pôde-se evidenciar maior percentual dos genes relacionados às hemolisinas *hla* 96,3 e *hld* 80,6% e dos genes associados à produção do biofilme *icaA* 82,2 e *icaD* 72,7%. A identificação do perfil clonal através da análise por PFGE evidenciou presença de 21 clusters (>80% de similaridade) entre as populações nativas de ambos os estados, nos quais 5 clones principais agruparam amostras tanto das populações do sudeste quanto da região amazônica. Quando realizada análise pelo MSLT, identificou-se prevalência do complexo clonal ST 5, o qual reuniu amostras tanto de MSSA quanto MRSA, o quê sugere uma provável origem comum. Os resultados epidemiológicos mostraram associação do fator etnia com prevalência de *S. aureus*. Esse trabalho traz dados pioneiros acerca da epidemiologia de *Staphylococcus aureus* e MRSA em meio aos indígenas brasileiros. A análise do perfil clonal impulsiona a elucidação de questões relacionadas ao processo de evolução da bactéria estudada, sugerindo uma provável origem comum entre as diferentes estirpes encontradas. Por fim, os resultados epidemiológicos permitem inferir que o fator etnia está relacionado à prevalência de *S. aureus* em populações humanas.

Palavras-chave: colonização nasal/oral, epidemiologia molecular, MRSA, populações indígenas.

Abstract

The racial origin is one of the main risk determinants of *Staphylococcus aureus* colonization and infection. For some time now, indigenous communities have been shown to be more prone to these risks as they present *S. aureus* strains different from those usually found in non-native populations. Culturally typical characteristics among different populations, such as overcrowded living conditions, lack of health assistance, and poor hygiene conditions can be more relevant to the pathogenesis of some *S. aureus* infections. Therefore, the indigenous people are definitively a risk group for the carriage of resistant microorganisms, and are susceptible to both acquisition and dissemination of infections. This study aimed to identify the prevalence and the risk factors for nasal and oral carriage of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *S. aureus* (MSSA and MRSA) in indigenous communities from the North and Southeast regions of Brazil by evaluating the genetic diversity, dissemination, virulence factors, and antimicrobial resistance associated to ethnic, demographic, environmental, and behavioral issues. To this end, nasal and oropharyngeal samples of 443 indigenous people (116 from the Southeast and 284 from the North) were collected with sterile swabs. Then, such samples were seeded in culture medium and identified by conventional methods. Meanwhile, clinical and demographic data from the subjects were collected. *S. aureus* isolates were phenotypically and genetically tested for oxacillin/methicillin susceptibility and the staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) was characterized. The virulence genes identification was carried out by Polymerase Chain Reaction (PCR). The characterization of the clonal profile was performed by The Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) to identify the endemic clusters in the population. In order to identify clusters of related genotypes, Multilocus Sequence Typing (MLST) was performed. The results showed a general prevalence rate of *S. aureus* of 47.6% (CI 95%: 42.64-52.64), while in the Southeast region there was a total of 43.1% (CI 95%: 33.94-52.62) and in the Amazon region 49.4% (CI 95%: 43.50-55-45). When the colonization sites were distributed, the rates were 31.8% (CI 95%: 27.23-36.82) of nasal carriage and 25.7 (CI 95%: 21.53-30.55) of oral carriage. Regarding the *mecA* gene detection, 3 isolates were positive, being 3 oral isolates. All the positive *mecA* samples harbored the SCC*mec* IV. Thus, the prevalence of MRSA in the study was 0.7% (CI 95%: 0.19-2.37). No resistant sample was identified in the Southeast region. With the detection of virulence genes, a higher percentage of genes related to hemolysins *hla* 96.3 and *hld* 80.6% and genes associated with the production of biofilm *icaA* 82.2 and *icaD* 72.7% could be evidenced. The identification of the clonal profile through the characterization by

PFGE evidenced 21 clusters (>80% similarity) among the native populations of both states in which 5 major clones clustered samples both from the Southeast and from the Amazon. When the MSLT analysis was carried out, a prevalence of clonal complex ST 5 was identified, which clustered samples both from MSSA and MRSA, suggesting a probable common origin. The epidemiological results showed an association between the ethnicity factor and the prevalence of *S. aureus*. This study brings pioneering data about the epidemiology of *Staphylococcus aureus* and MRSA among Brazilian indigenous populations. The analysis of the clonal profile promotes the elucidation of questions related to the evolution process of the bacterium studied, suggesting a probable common origin among the different strains found. Finally, the epidemiological results allow us to infer that the factor ethnicity factor is related to the prevalence of *S. aureus* in human populations.

Keywords: nasal and oral colonization, molecular epidemiology, MRSA, indigenous populations

1. INTRODUÇÃO

1.1 *Staphylococcus aureus*: epidemiologia, patogênese, resistência antimicrobiana e relevância clínica.

Staphylococcus aureus é um comensal humano versátil reconhecido como um dos principais agentes virulentos sendo capaz de causar um amplo espectro de infecções que se caracterizam pela variedade de apresentações clínicas, que incluem desde quadros localizados até doenças sistêmicas de alta letalidade.^(1,2) Embora seja considerado como o patógeno mais importante dentro do gênero, cerca de 15 das 52 espécies conhecidas de *Staphylococcus* são potencialmente patogênicas em humanos.⁽³⁾ Destaca-se globalmente como um agente etiológico de relevantes taxas de morbidade e mortalidade tanto no âmbito hospitalar quanto no comunitário.⁽⁴⁾

Dentre as principais síndromes infecciosas causadas por *Staphylococcus aureus*, podemos elencar os 3 tipos descritos no quadro abaixo:

Quadro 1. Principais síndromes infecciosas causadas por *Staphylococcus aureus*.

Tipos	Síndromes
Tipo I – Lesões superficiais	Infecções de pele e partes moles: foliculites, erisipelas, celulites
Tipo II – Toxinoses	Intoxicação alimentar
	Síndrome da pele escaldada
	Síndrome do choque tóxico
Tipo III – Condições sistêmicas potencialmente fatais	Endocardites, osteomielites
	Abscesso cerebral
	Pneumonias
	Meningites e bacteremias
	Infecções de sítio cirúrgico ^(1,5)

Do ponto de vista morfológico, espécimes de *Staphylococcus* spp. são cocos Gram-positivos que se agrupam em cachos (do grego, *staphilé* = cachos de uva). *S. aureus* diferencia-se dos demais membros do gênero pela produção da enzima coagulase, facilmente detectada em testes rotineiros.⁽³⁾ Seus reservatórios naturais são o homem e outros animais de

sangue quente. Apesar disso, *S. aureus* é capaz de sobreviver em superfícies inanimadas por um longo período de tempo. ⁽⁶⁾

Enquanto membro persistente da microbiota humana, esse potente patógeno encontra-se em diferentes sítios anatômicos, incluindo a nasofaringe. É capaz de se proliferar em qualquer parte do corpo humano e ser transmitido a outras pessoas suscetíveis ou animais, podendo, em certas circunstâncias, causar casos de infecção no próprio hospedeiro. ^(7,8)

A nasofaringe é considerada um nicho ecológico primário de colonização desse microrganismo. Sendo assim, entende-se por colonização o processo dinâmico em que a bactéria deve se anexar às superfícies do hospedeiro superando os componentes imunes e competindo com outros microrganismos comensais. O fenômeno da colonização, ou seja, o carreamento desse patógeno sem sinais clínicos ou interação imunológica, é uma propriedade biológica fundamental desse microrganismo, que tem sido identificada como um importante fator de risco para o desenvolvimento de infecções por *S. aureus* tanto na comunidade como nos hospitais. ⁽⁸⁻¹³⁾

A colonização por *S. aureus* tem início pouco após o nascimento e recorre diversas vezes ao longo da vida. ⁽¹⁴⁾ Aproximadamente um em cada três indivíduos saudáveis carregam *S. aureus* assintomaticamente em suas narinas sem qualquer doença associada. Logo, estima-se que 20% dos seres humanos carreguem persistentemente essa bactéria na mucosa nasal e outros 30% o carreguem de forma intermitente. ^(14,15)

Acredita-se que carreadores de *S. aureus* apresentem maiores riscos de adquirir infecção e presume-se que os mesmos sejam uma importante fonte de disseminação da bactéria entre os indivíduos. ⁽¹²⁾ Estudos revelam que indivíduos colonizados com uma grande carga bacteriana apresentam risco seis vezes maior de desenvolver infecção estafilocócica quando comparados a indivíduos não-carreadores ou com baixa carga bacteriana. ⁽¹⁶⁾

É necessário acrescentar que, embora a nasofaringe seja o local mais consistente de colonização por *S. aureus*, sendo indicado como o ambiente mais apropriado para *screening* com *swabs*, outros sítios extra-nasais também podem ser colonizados, como garganta, axilas, períneo e trato gastrointestinal. ^(2,12,15,17)

A patogênese do *S. aureus* é complexa e depende de diversos fatores associados à doença, os quais incluem a virulência do patógeno, a resistência antimicrobiana e a susceptibilidade do hospedeiro. ^(16,18,19) A multiplicidade de infecções causadas pelos *S. aureus* está relacionada a um arsenal de fatores de virulência que lhe garantem sucesso como colonizantes e agentes de infecção, permitindo a adesão desse microrganismo à superfície das células e a invasão ou evasão do sistema imune, causando efeitos tóxicos nocivos ao

hospedeiro. Esses fatores compreendem a expressão de inúmeras toxinas distintas, proteínas de adesão da parede celular, enzimas extracelulares e exotoxinas. ^(16,20) Estudiosos afirmam que o primeiro passo para a infecção por *Staphylococcus* é o processo de adesão à superfícies. ⁽²¹⁾ Este se inicia por meio da colonização mediada por diversas adesinas. Uma das principais classes de adesinas compreende as proteínas covalentemente ancoradas no peptidoglicano que se ligam ao plasma ou componentes da matriz extracelular, sendo denominadas coletivamente de componentes de superfície microbiana reconhecendo moléculas de matriz adesiva (MSCRAMMS). ⁽¹⁾ Essas moléculas reconhecem componentes importantes do plasma como fibrinogênio, fibronectina e colágeno. Fazem parte dos MSCRAMMS a proteína A (SpA), as proteínas ligadoras da fibronectina (FnbpA e FnbpB), a proteína ligadora do colágeno e fator *clumping* (proteínas A e B). ⁽¹³⁾

Junto aos fatores supracitados, a formação de biofilme representa um importante fenótipo de virulência no estabelecimento de infecções crônicas. ⁽²¹⁾ Biofilmes são comunidades estruturadas de células bacterianas incorporadas por uma matriz polimérica auto-produzida capazes de se aderir tanto a superfícies vivas quanto inertes. Essas estruturas acabam dificultando o tratamento de infecções por conferir à bactéria resistência à ação dos antimicrobianos e contra o sistema imune do hospedeiro. ^(21,22)

Praticamente todas as cepas de *S. aureus* secretam um grupo de exoproteínas, tais como as exotoxinas e enzimas, incluindo as nucleases, proteases, lípases, hialuronidase e colagenase. A principal função dessas proteínas parece estar ligada a conversão do tecido local do hospedeiro em nutrientes necessários para o crescimento bacteriano. Existem as exoproteínas com atividade citolítica, dentre as quais destacamos as hemolisinas alfa, beta e delta e a Leucocidina de Pantón-Valentine (PVL). ⁽¹³⁾

Esta última a PVL, é classificada como um biocomponente de citolisina, capaz de formar poros nos leucócitos. Está associada a quadros de extensa necrose tecidual e é responsável por infecções de pele graves e pneumonias necrotizantes. É encontrada principalmente em isolados de *S. aureus* resistentes à metilina adquiridos na comunidade. ^(13,16,23,24) Já as hemolisinas apresentam atividade citotóxica para os eritrócitos e leucócitos.

Adicionalmente às exotoxinas já descritas incluem-se a toxina 1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1), as enterotoxinas estafilocócicas descritas e designadas pelas letras *SEA*, *SEB*, *SECn*, *SED*, *SEE*, *SEG*, *SEH*, *SEI*, *SER*, *SES* e *SET* e as toxinas esfoliativas. ^(13,25) Dentre essas, a TSST-1 e as enterotoxinas pertencem a um grupo de toxinas conhecidas como superantigênicas, caracterizadas especialmente por estimularem a proliferação de linfócitos T. A toxina 1 da síndrome do choque tóxico é um superantígeno associado a um quadro clínico

de febre alta, exantema e extravasamento de líquido em vasos capilares, resultando em hipotensão e edema, o que caracteriza a Síndrome do Choque Tóxico. ^(13,24) As enterotoxinas ingeridas em alimentos associam-se a quadros de intoxicação alimentar caracterizados por diarreias e vômitos. ^(25,26)

As esfoliatinas (ETA, ETB, ETD) determinam a clivagem de camadas profundas do epitélio, causando quadros de eritema e descamação disseminados, sendo possível afirmar que estão diretamente envolvidas com a Síndrome da Pele Escaldada ou lesões bolhosas (impetigo bolhoso). ^(24,25)

Recentemente foi identificada uma nova toxina através de proteômica de superfície celular em cepas de USA300. Tal toxina recebeu o nome de LukGH e apresenta atividade citolítica sobre os neutrófilos, assim como a PVL e as hemolisinas, representando potencialmente um novo fator de virulência. ⁽¹⁶⁾ Atualmente, um fato descoberto que se tem questionado é a relação causal entre a presença do gene codificador da PVL e a gravidade das infecções, visto que essa associação também está presente em quadros leves de infecção, existindo ainda, cepas de CA-MRSA invasivas que não são portadoras do gene. ⁽²⁷⁾

Além da expressão dos fenótipos de virulência, a alta patogenicidade do *Staphylococcus aureus* se deve à ampla resistência antimicrobiana entre os isolados, fator que tem dificultado consideravelmente o tratamento das infecções em âmbito mundial. ⁽²⁸⁾ De fato, desde o início da “era dos antibióticos”, essa espécie provou-se capaz de desenvolver resistência a praticamente todas as classes de antimicrobianos disponíveis na prática clínica. ⁽²⁹⁾ Em meados da década de 1940, logo após a introdução da penicilina, foram relatadas cepas de *S. aureus* resistentes, seguidas por uma pandemia de resistência à referida droga. Prevalente inicialmente apenas nos hospitais, hoje a resistência à penicilina está presente em mais de 90% dos isolados da comunidade. Essas estirpes interrompem a ação do anel β -lactâmico da penicilina por meio da produção de uma penicilinase mediada por plasmídeos. ⁽¹⁶⁾

No final da década de 1950, foi introduzida a meticilina como um protótipo de uma classe de penicilinas resistentes à inativação por penicilinas. A essa classe pertence também a oxacilina. ⁽³⁰⁾ Embora apresentem grande potência antiestafilocócica, seu uso clínico foi limitado pela emergência da resistência. Estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina (conhecidos pela sigla MRSA, do inglês *methicillin-resistant S. aureus*) surgiram inicialmente na Europa na década de 1960, após a introdução da meticilina na prática clínica e emergiram como uma séria ameaça à saúde pública mundial. ^(30,31) Ao longo do tempo, sofreram grande disseminação em hospitais e em outros serviços de saúde. Já na década de 1990, a maioria dos

isolados de origem hospitalar eram MRSA. ⁽³²⁾ Um fenômeno mais preocupante se observou na década seguinte: a identificação de MRSA em pessoas sem história de exposição a ambiente hospitalar. ⁽³³⁾ Nesse cenário, delinearam-se duas importantes classes de microrganismos problema, identificadas como HA-MRSA (*Hospital-acquired* [adquiridos no hospital]-MRSA) e CA-MRSA (*Community-acquired* [adquiridos na comunidade]-MRSA). ⁽³⁴⁾

A distinção entre cepas de HA-MRSA e CA-MRSA foi possível até o surgimento do primeiro relato de CA-MRSA. Consideravam-se infecções por CA-MRSA aquelas ocorridas em indivíduos oriundos da comunidade, que não apresentassem fatores de risco de exposição ao ambiente hospitalar, exibindo um perfil de sensibilidade distinto dos HA-MRSA. Porém, nos últimos anos, um fato interessante é a infiltração do CA-MRSA no ambiente hospitalar, ocupando lugar dos HA-MRSA, principalmente em países em que a prevalência do CA-MRSA é alta. ⁽²⁰⁾

Ainda que na atualidade seja difícil a distinção entre essas cepas em termos de apresentação clínica, sensibilidade antimicrobiana e caracterização molecular, é possível identificar características distintas (quadro 2) dos CA-MRSA, quando comparados aos HA-MRSA.

Quadro 2. Diferenças entre HA-MRSA e CA-MRSA

	HA-MRSA	CA-MRSA
Pacientes típicos	Pacientes idosos muitas vezes debilitados Pacientes com doenças crônicas (ex. diabéticos com úlceras de pele)	Pessoas saudáveis, frequentemente jovens. Indivíduos envolvidos em atividades de contato próximo (ex. equipes esportivas ou serviços militares, especialmente aquelas que resultam em abrasões de pele)
Infecções clínicas	Pacientes em Unidades de Terapia Intensiva. Pacientes com doenças renais associados a dispositivos de longa permanência. Infecções de ferida, doenças respiratórias e do trato urinário.	Tendem a ser mais agressivas na pele e tecidos moles. Pneumonias necrotizantes, choque séptico e bacteremia nos casos mais graves.
Fatores de risco	Dispositivos invasivos, hospitalização e uso de antibióticos prolongados.	Contato físico próximo, baixas condições de higiene, instalações sanitárias compartilhadas, indivíduos que vivem em

		locais superlotados, (ex. recrutas militares, prisioneiros).
Transmissão	Hospitalar, pouco difundida entre os contatos intradomiciliares.	Predominantemente adquirida na comunidade Dissemina-se no seio das famílias e equipes esportivas
Susceptibilidade antibiótica	Geralmente resistentes à eritromicina, ciprofloxacina, aminoglicosídeos, clindamicina, tetraciclina, rifampicina e ácido fusídico.	Geralmente mais susceptíveis aos agentes não-betalactâmicos, incluindo a ciprofloxacina.
Características moleculares	SCC <i>mec</i> tipos I, II ou III (exceto o EMRSA 15 da Inglaterra que tem o SCC <i>mec</i> tipo IV) PVL é menos comum	Principalmente o SCC <i>mec</i> tipo IV ou V. PVL é mais comum.

Fonte: Cooke et al.,⁽³⁴⁾

De acordo com estudos realizados nos EUA, um modelo matemático determinístico previu que o CA-MRSA se tornará a cepa dominante em instituições hospitalares e estabelecimentos de saúde, mediante à expansão dos reservatórios de CA-MRSA na comunidade e à crescente admissão de indivíduos portadores da cepa em hospitais. Além disso, pesquisadores têm sugerido que o CA-MRSA pode estar invadindo ambientes hospitalares, causando infecções com início até 72 horas de admissão no hospital.⁽³⁴⁾

A resistência à meticilina é mediada por uma alteração no receptor celular dos beta-lactâmicos, a proteína ligadora de penicilina (PBP2a), a qual tem baixa afinidade à penicilina e é codificada pelo gene *mecA*, conferindo resistência a maioria dos antibióticos pertencentes a classe dos β -lactâmicos.^(16,35)

O gene *mecA* está localizado em uma “ilha genômica” de resistência, conhecida como cassete cromossômico estafilocócito *mec* (SCC*mec*, *Staphylococcal chromosome cassette mec*).⁽³⁶⁾ Os elementos do SCC*mec* são divididos em diferentes tipos com base nas diferenças entre os nucleotídeos em dois componentes essenciais: complexo *ccr* (recombinase cassete cromossômico), representado pelos genes *ccr*, e complexo de genes *mec*.⁽²⁰⁾ Segundo o IWG-SCC (*International Working Group on the Staphylococcal Cassette Chromosome elements*), existem cerca de onze tipos de SCC*mec* em cepas de *S. aureus* descritos até o momento, que diferem em tamanho e composição dos elementos de resistência antimicrobiana.^(16,37)

Geralmente, cepas HA-MRSA albergam o SCC*mec* tipo I, II ou III, que são maiores e incluem diversos determinantes de resistência. Por essa razão, isolados hospitalares de MRSA

costumam apresentar resistência simultânea a várias classes de antimicrobianos. Por outro lado, as cepas de MRSA adquiridas na comunidade carregam um SCC_{mec} menor tipo IV, V, VI, apresentando menos elementos de resistência, ou seja, frequentemente mais susceptíveis a macrolídeos, quinolonas, tetraciclinas, trimetoprim, sulfametoxazol, e lincosamidas. No entanto, podem estar associados à presença de genes codificadores da PVL e de outras exotoxinas que conferem aos CA-MRSA maior virulência.⁽³⁸⁾ Essas cepas estão associadas a infecções graves de pele e pneumonias necrotizantes.⁽³⁹⁾

As opções terapêuticas para MRSA (e em particular HA-MRSA) eram bastante restritas. No entanto, devido aos grandes investimentos de indústrias farmacêuticas, atualmente se dispõe de uma lista considerável de opções para tratamento de MRSA. Além da vancomicina, teicoplanina, linezolida, daptomicina, tigeciclina, oritavancina e dalbavancina, existem as cefalosporinas de quinta geração recentemente introduzidas no mercado, como a ceftarolina e ceftobiprole.⁽⁴⁰⁾

Os glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina) ainda são as drogas comumente utilizadas contra essas cepas. No entanto, isolados com susceptibilidade intermediária a esse agentes foram descritos desde a década de 1990.^(40,41) Fato ainda mais preocupante é a emergência de *S. aureus* com resistência completa a vancomicina, que se deve à aquisição de genes *vanA* a partir de enterococos resistentes à vancomicina. Felizmente, esse fenótipo tem distribuição reservada, com 13 casos descritos nos Estados Unidos e 1 caso descrito no Brasil.^(42,43) Drogas como a linezolida e a daptomicina são comumente recomendadas para tratamento de *S. aureus* resistente a meticilina.⁽⁴⁴⁾ No entanto, resistência parcial ou completa a esses agentes já foi detectada. Lipoglicopeptídeos tais como a telavancina, oritavancina, dalbavancina e também as cefalosporinas de quinta geração tem se mostrado como uma boa opção para tratamento de *S. aureus* resistente.⁽⁴⁵⁻⁴⁸⁾

1.2 Estudos sobre colonização/infecção por *Staphylococcus aureus* em populações indígenas

CA-MRSA emergiu como uma das principais causas de infecções de pele e tecidos moles em diversas partes do mundo. Nos EUA, o clone USA300 tem sido responsável por aproximadamente 70% dessas infecções. Já na Austrália, onde foram realizados grandes estudos com *Staphylococcus aureus* em comunidades nativas, existe uma diversidade cada vez maior de estirpes reconhecidas em circulação. Grupos clonais previamente reconhecidos

foram descritos em regiões geograficamente distintas. Os dados levam a crer, hipoteticamente, que a ocorrência dessa transmissão é facilitada em populações socialmente desvantajadas, e presume-se até que essas cepas tenham surgido a partir dessas definições.⁽⁴⁹⁾

Há algum tempo, pesquisadores clínicos afirmam que as infecções por *Staphylococcus aureus* podem estar associadas a atributos raciais, sociais e físicos do hospedeiro humano. De acordo com uma análise secundária realizada pelo NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) 2001-2002, a origem racial é um dos principais determinantes dos riscos de colonização e infecção pela bactéria. Indivíduos brancos ou caucasianos apresentam risco estatisticamente maior de serem colonizados do que negros ou hispânicos. Populações indígenas também se mostram mais propensas em relação aos riscos para colonização e infecção por CA-MRSA, como se tem observado entre os nativos americanos, populações das ilhas do Pacífico e os aborígenes australianos.⁽¹⁶⁾

Dentre as populações de alto risco para ocorrência de surtos de CA-MRSA, além das comunidades indígenas, encontram-se as equipes de esportes coletivos, indivíduos encarcerados, militares, pessoas que frequentam locais aglomerados como crianças em creches e homens que praticam sexo com homens.⁽⁵⁰⁾

Comportamentos culturalmente típicos entre diferentes populações, tais como viver em condições de superlotação, assistência à saúde prejudicada e condições precárias de higiene podem ser mais relevantes na patogênese de algumas formas de infecções por *S. aureus*. Deste modo, os nativos inegavelmente se enquadram no grupo de risco para o carregamento de microrganismos resistentes, estando susceptíveis tanto à aquisição quanto à disseminação de infecções.^(49,51)

Sabe-se que as cepas de CA-MRSA não apresentam multirresistência; no entanto, albergam um elemento genético móvel *SCCmec* menor (normalmente tipo IV ou V) que lhes garantem maior mobilidade. Infecções ocasionadas por essa estirpe têm sido vistas tanto no ambiente comunitário quanto no hospitalar, com grandes surtos ocasionais, o quê também tem ocorrido com as cepas HA-MRSA. Acredita-se que linhagens de MSSA sejam susceptíveis de adquirir o gene de resistência (*mecA*) de outras fontes, tais como os *Staphylococcus coagulase-negativa*. Há evidências de que esse fato incida com mais frequência do que se pensava, sendo mais propenso em locais caracterizados por intensa carga de colonização e infecções de pele frequentes.^(52,53)

Em estudos retrospectivos realizados em comunidades indígenas americanas submetidas à assistência em saúde, a ocorrência de infecções por MRSA correlacionada aos fatores de risco foi de 74% sendo que, do total de isolados (112), 55% eram MRSA e 45%

MSSA.⁽⁵⁴⁾ Já um trabalho realizado com aborígenes australianos, a partir de amostras de lesões de pele e *swabs* de garganta, identificou durante o período de um ano uma taxa de 58% de *S. aureus* em que 23% destes eram resistentes. Os achados foram similares aos obtidos na comunidade, não havendo variação em nível de sazonalidade.⁽⁵²⁾ Outro estudo realizado com a população aborígine revelou presença de MRSA em 61% dos isolados, contra 33% na população não-nativa.⁽⁵⁵⁾

As populações indígenas apresentam altas taxas de doenças em virtude de uma profunda desigualdade de saúde em comparação as populações não-indígenas. Dessa forma, é notável que indivíduos nativos são altamente negligenciados no que se diz respeito aos serviços de atenção pública. Neste cenário, as principais características entre os padrões de morbidade e mortalidade incluem altas taxas de doenças infecciosas, altas taxas de mortalidade materna e infantil e baixa expectativa de vida ao nascer.⁽⁵¹⁾

Vale ressaltar que a ocorrência de infecções por CA-MRSA em populações nativas ou aborígenes tem sido crescente em todo mundo, sendo que os estudos realizados permitiram inferir que indivíduos aborígenes carreadores da cepa foram seis vezes mais propensos a desenvolverem infecção do que não-aborígenes.⁽⁵⁵⁾

Embora a epidemiologia e características clínicas do MRSA em comunidades nativas como os aborígenes sejam similares as de outros países, sabe-se que existe distinção entre essas infecções em grupos não-indígenas.⁽⁴⁹⁾

1.2.1 Cenário Nacional

No Brasil, residem aproximadamente 230 grupos étnicos indígenas. Desta forma, o país apresenta uma das mais amplas diversidades sociais do continente, ainda que a proporção total da população ainda seja uma das mais baixas.⁽⁵⁶⁾

Embora a população indígena do Brasil seja considerada pequena, mais da metade de todas as etnias da América Latina estão localizadas neste país. Existem cerca de 220 povos distintos, falando cerca de 180 línguas diferentes. Os estados de maior concentração indígena são o Amazonas, Acre, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Roraima, sendo que a maioria vive sob condições precárias de saúde.⁽⁵⁷⁾

Estudos demográficos realizados apontam que, nos últimos anos, houve um crescimento rápido da população em alguns grupos indígenas. Todavia, os indicadores dos povos indígenas tendem a ser piores do que para os não-indígenas, sendo necessário o

aumento da frequência de estudos a fim de compreender os complexos determinantes sócio-biológicos de saúde desses povos. O panorama mundial revela que tais grupos apresentam altas taxas de doenças, em virtude de uma profunda desigualdade de saúde em comparação com as populações não-indígenas, fato que não difere da situação brasileira atual. ⁽⁵¹⁾

Existem fortes evidências da ocorrência de infecções por CA-MRSA nas comunidades nativas em vários países ao redor do mundo, principalmente por se tratarem de indivíduos que vivem em condições propícias para aquisição e disseminação de microrganismos resistentes, o que se explica especialmente por conta de fatores demográficos e socioeconômicos. ⁽⁵⁵⁾ Porém, no Brasil ainda são escassos os relatos de CA-MRSA em populações específicas.

Embora não existam estimativas seguras, é razoável inferir que as infecções estafilocócicas sejam bastante incidentes na população brasileira como um todo. Em um relato do programa SENTRY, *S. aureus* foi o agente mais frequentemente isolado em espécimes clínicos de hospitais brasileiros. O microrganismo manteve a liderança entre os agentes de infecções de tegumento e corrente sanguínea, e ficou em segundo lugar entre os agentes de pneumonias. ⁽⁵⁸⁾ Dados mais recentes confirmaram esse padrão, e identificaram resistência à meticilina em 31,0% dos isolados. ⁽⁵⁹⁾ Por outro lado, o sistema de vigilância de infecções hospitalares do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo reportou o isolamento de *S. aureus* em 14% das hemoculturas colhidas em Unidades de Terapia Intensiva (2015), sendo que, ao todo, 67% dos isolados eram de MRSA. ^(60,61)

A ampla disseminação de MRSA em hospitais do Brasil é bem documentada. Por outro lado, embora o MRSA seja endêmico nos hospitais, ainda são poucos os relatos sobre colonização por CA-MRSA no país.

Nascimento-Carvalho et al., relatam a identificação de 125 infecções de pele por MRSA adquiridas na comunidade, mas não realizaram caracterização molecular desses isolados. ⁽⁶²⁾ Por outro lado, relatos de casos isolados ⁽⁶³⁾ e estudos em bancos de cepas documentaram a disseminação de isolados de MRSA carreando SCC*mec* IV em centros urbanos do país. Estudo recente, realizado com indivíduos hígidos de uma população do interior do estado de São Paulo, evidenciou taxa de 0,9% de MRSA. ^(64,65)

O combate ao surgimento, bem como a contenção da disseminação do CA-MRSA podem exigir o redirecionamento e criação de novas estratégias para o controle de infecções dirigidas a grupos específicos da comunidade. Assim, se faz necessária também uma melhor compreensão da epidemiologia das infecções estafilocócicas nessas populações ⁴⁶, visando não somente uma assistência qualitativa, como também a equidade no cuidado à saúde indígena.

10. CONCLUSÃO

O presente trabalho traz dados pioneiros acerca da epidemiologia de *Staphylococcus aureus* e MRSA em meio aos indígenas brasileiros. As taxas distintas de prevalência de carreamento tanto de *S. aureus* quanto de MRSA, bem como da disseminação de determinados genes de virulência em isolados de *S. aureus*, parecem evidenciar uma dinâmica peculiar do microrganismo entre os indígenas brasileiros. Estes são achados que, no entanto, não contrastam de forma importante dos dados descritos previamente em população não-indígena. A análise do perfil clonal impulsiona a elucidação de questões relacionadas ao processo de evolução da bactéria estudada, sugerindo uma provável origem comum. Por fim, os resultados epidemiológicos nos permitem inferir que o fator etnia está relacionado à prevalência de *S. aureus* em populações especiais (no qual se destacou o grupo Shanenawa), e que, associados os hábitos e costumes peculiares, condições precárias de habitação, higiene e saneamento, podem exercer influência sobre o carreamento e disseminação de *Staphylococcus aureus* em populações humanas.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Waryah CB, Gogoi-tiwari J, Wells K, Eto KY, Masoumi E, Costantino P, et al. Diversity of Virulence Factors Associated with West Australian Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* Isolates of Human Origin. 2016;2016.
2. Smith TC, Forshey BM, Hanson BM, Wardyn SE, Moritz ED. Molecular and epidemiologic predictors of *Staphylococcus aureus* colonization site in a population with limited nosocomial exposure. *Am J Infect Control* [Internet]. 2012 Dec [cited 2014 Jan 20];40(10):992–6. Available from:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22418604>
3. Euzéby JP. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature – Genus *Staphylococcus*. Acesso em: 03 fev 2017. Disponível em: <http://www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.html>
4. Marimón JM, Villar M, García-Arenzana JM, Caba ID La, Pérez-Trallero E. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* carrying the panton-valentine leucocidin genes in northern Spain. *J Infect* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Jan 17];64(1):47–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22080089>
5. Bronesky D, Wu Z, Marzi S, Walter P, Geissmann T, Moreau K, et al. *Staphylococcus aureus* RNAIII and Its Regulon Link Quorum Sensing , Stress Responses , Metabolic Adaptation , and Regulation of Virulence Gene Expression. 2016;(June):299–316.
6. Wehrhahn MC, Robinson JO, Pascoe EM, Coombs GW, Pearson JC, Brien FGO, et al. Illness Severity in Community-Onset Invasive *Staphylococcus aureus* Infection and the Presence of Virulence Genes. 2012;205.
7. Silva, ECBF, Samico, TM, Cardoso RR, Rabelo MA, Bezerra-Neto AM, Melo FL, Lopes ACS AI et al. Colonização pelo *Staphylococcus aureus* em profissionais de enfermagem de um hospital escola de Pernambuco. *Rev Esc Enferm USP*. 2012;46:132–7.
8. Edwards a M, Massey RC, Clarke SR. Molecular mechanisms of *Staphylococcus aureus* nasopharyngeal colonization. *Mol Oral Microbiol* [Internet]. 2012 Feb [cited 2014 Jan 17];27(1):1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22230461>
9. Jarvis WR. The epidemiology of colonization. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 1996 Jan [cited 2014 Jan 20];17(1):47–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8789688>
10. Chen C-J, Hsu K-H, Lin T-Y, Hwang K-P, Chen P-Y, Huang Y-C. Factors associated with nasal colonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among healthy children in Taiwan. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2011 Jan 1 [cited 2014 Jan 20];49(1):131–7. Available from: <http://jcm.asm.org/content/49/1/131.full>
11. Jarvis WR, Jarvis A a, Chinn RY. National prevalence of methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus in inpatients at United States health care facilities, 2010. *Am J Infect Control* [Internet]. 2012 Apr [cited 2014 Jan 17];40(3):194–200. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22440670>
12. Lo W-T, Wang C-C, Lin W-J, Wang S-R, Teng C-S, Huang C-F, et al. Changes in the nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children: 2004–2009. *PLoS One* [Internet]. 2010 Jan [cited 2014 Jan 17];5(12):e15791. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3012095&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 13. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory Response. *J Pathog* [Internet]. 2011 Jan [cited 2014 Jan 17];2011:601905. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3335658&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 14. Mulcahy ME, Mcloughlin RM. Host – Bacterial Crosstalk Determines *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization. *Trends Microbiol* [Internet]. 2016;xx:1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.06.012>
 15. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh H a, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2005;5(12):751–62. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309905702954>
 16. Tong SYC, Chen LF, Fowler VG. Colonization, pathogenicity, host susceptibility, and therapeutics for *Staphylococcus aureus*: what is the clinical relevance? *Semin Immunopathol* [Internet]. 2012 Mar [cited 2014 Jan 17];34(2):185–200. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3272122&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 17. Muenks CE, Hogan PG, Wang JW, Eisenstein KA, Burnham C-AD, Fritz SA. Diversity of *Staphylococcus aureus* strains colonizing various niches of the human body. *J Infect* [Internet]. 2016;72(6):698–705. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163445316300111>
 18. Bhatta DR, Cavaco LM, Nath G, Kumar K, Gaur A, Gokhale S, et al. Association of Panton Valentine Leukocidin (PVL) genes with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Western Nepal: a matter of concern for community infections (a hospital based prospective study). *BMC Infect Dis* [Internet]. 2016;16(1):199. Available from: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-016-1531-1>
 19. Felden B, Vandenesch F, Bouloc P, Romby P. The *Staphylococcus aureus* RNome and its commitment to virulence. Vol. 7, *PLoS Pathogens*. 2011.
 20. Shambat S, Nadig S, Prabhakara S, Bes M, Etienne J, Arakere G. Clonal complexes and virulence factors of *Staphylococcus aureus* from several cities in India. *BMC Microbiol* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Jan 17];12(1):64. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3438138&tool=pmcentrez>

&rendertype=abstract

21. Szczuka E, Urbańska K, Pietryka M, Kaznowski A. Biofilm density and detection of biofilm-producing genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Folia Microbiol (Praha)* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Jan 17];58(1):47–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22711180>
22. Atshan SS, Shamsudin MN, Lung LTT, Sekawi Z, Ghaznavi-Rad E, Pei CP. Comparative characterisation of genotypically different clones of MRSA in the production of biofilms. *J Biomed Biotechnol* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Jan 17];2012:417247. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3312323&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
23. Hewagama S, Spelman T, Woolley M, Mcleod J, Gordon D, Einsiedel L. The Epidemiology of *Staphylococcus aureus* and Panton-Valentine Leucocidin (pvl) in Central Australia , 2006-2010. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2016;1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-016-1698-5>
24. Murray RJ. Recognition and management of *Staphylococcus aureus* toxin-mediated disease. *Intern Med J* [Internet]. 2005 Dec [cited 2014 Jan 20];35 Suppl 2:S106-19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16271055>
25. Aung MS, Urushibara N, Kawaguchiya M, Aung TS, Mya S, San T, et al. Virulence factors and genetic characteristics of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* isolates in Myanmar. *Microb Drug Resist* [Internet]. 2011 Dec [cited 2014 Jan 17];17(4):525–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21834665>
26. Johler S, Sihto H, Macori G, Stephan R. Sequence Variability in Staphylococcal Enterotoxin. 2016;1–10.
27. Kobayashi SD, Malachowa N, Whitney AR, Braughton KR, Gardner DJ, Long D, et al. Comparative Analysis of USA300 Virulence Determinants in a Rabbit Model of Skin and Soft Tissue Infection. *J Infect Dis* [Internet]. 2011 Sep 15 [cited 2014 Jan 13];204(6):937–41. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3156927&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
28. Li M, Du X, Villaruz AE, Diep BA, Wang D, Song Y, et al. MRSA epidemic linked to a quickly spreading colonization and virulence determinant. *Nat Med* [Internet]. 2012 May [cited 2014 Jan 13];18(5):816–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3378817&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
29. DeLeo FR, Chambers HF. Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. Vol. 119, *Journal of Clinical Investigation*. 2009. p. 2464–74.
30. Yao D, Yu F, Qin Z, Chen C, He S, Chen Z, et al. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolates causing skin and soft tissue infections (SSTIs). 2010.

31. Tavares D a, Sá-Leão R, Miragaia M, de Lencastre H. Large screening of CA-MRSA among *Staphylococcus aureus* colonizing healthy young children living in two areas (urban and rural) of Portugal. *BMC Infect Dis.* 2010;10:110.
32. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg Infect Dis.* 2001;7(2):178–82.
33. Bassetti M, Nicco E, Mikulska M. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? *Int J Antimicrob Agents.* 2009;34(SUPPL. 1).
34. Cooke FJ, Brown NM. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Vol. 94, *British Medical Bulletin.* 2010. p. 215–27.
35. Valle DL, Paclibare PAP, Cabrera EC, Rivera WL. Molecular and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a tertiary hospital in the Philippines [Internet]. Vol. 44, *Tropical Medicine and Health.* 2016. p. 1. Available from: <http://tropmedhealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41182-016-0003-z>
36. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2008 Dec [cited 2014 Jan 9];8(6):747–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18718557>
37. Ito T, Kuwahara-Arai K, Katayama Y, Uehara Y, Han X, Kondo Y, et al. *Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec)* analysis of MRSA. *Methods Mol Biol.* 2014;1085:131–48.
38. Diep BA, Otto M. The role of virulence determinants in community-associated MRSA pathogenesis. *Trends Microbiol.* 2008;16(8):361–9.
39. Gosbell IB. Epidemiology, clinical features and management of infections due to community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (cMRSA). Vol. 35, *Internal Medicine Journal.* 2005.
40. Vuong C, Scientist [Principal, Yeh AJ, Irta P-B, Cheung GY, Scientist [Staff, et al. Investigational drugs to treat methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* HHS Public Access. *Expert Opin Investig Drugs.* 2016;25(1):73–93.
41. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: Resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(1):99–139.
42. Périchon B, Courvalin P. VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(11):4580–7.
43. Rossi F, Diaz L, Wollam A, Panesso D, Zhou Y, Rincon S, et al. Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage. *NEnglJMed.*

- 2014;370(1533–4406 (Electronic)):1524–31.
44. Panesso D, Planet PJ, Diaz L, Hugonnet J, Tran TT, Narechania A, et al. Methicillin-Susceptible, Vancomycin-Resistant. 2015;21(10):1844–8.
 45. Yarlagadda V, Samaddar S, Haldar J. Intracellular activity of a membrane-active glycopeptide antibiotic against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *J Glob Antimicrob Resist* [Internet]. 2016;5:10–3. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213716516000060>
 46. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA* [Internet]. 2007;298(15):1763–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17940231>
 47. Hayward A, Knott F, Petersen I, Livermore DM, Duckworth G, Islam A, et al. Increasing hospitalizations and general practice prescriptions for community-onset staphylococcal disease, England. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(5):720–6.
 48. Arshad S, Huang V, Hartman P, Perri MB, Moreno D, Zervos MJ. Ceftaroline fosamil monotherapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia (MRSAB): A comparative clinical outcomes study. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2017; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S120197121730022X>
 49. Tong SYC, McDonald MI, Holt DC, Currie BJ. Global implications of the emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Indigenous populations. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2008 Jun 15 [cited 2014 Jan 17];46(12):1871–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18462175>
 50. Tong SYC, McDonald MI, Holt DC, Currie BJ. Global implications of the emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Indigenous populations. *Clin Infect Dis*. 2008;46(12):1871–8.
 51. Tatiana C, Barreto G. Mortality among Guarani Indians in Southeastern and Southern Brazil Mortalidade indígena Guarani no Sul e Sudeste do Brasil. 2011;222–36.
 52. McDonald M, Dougall A, Holt D, Huygens F, Oppedisano F, Giffard PM, et al. Use of a single-nucleotide polymorphism genotyping system to demonstrate the unique epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in remote aboriginal communities. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2006 Oct [cited 2014 Jan 17];44(10):3720–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1594797&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 53. Robinson DA, Enright MC. Evolutionary Models of the Emergence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Evolutionary Models of the Emergence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. 2003;47(12).
 54. Groom A V, Wolsey DH, Naimi TS, Smith K, Johnson S, Boxrud D, et al. American Indian Community. 2012;286(10).

55. Ofner-Agostini M, Simor AE, Mulvey M, Bryce E, Loeb M, McGeer A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian aboriginal people. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Feb;27(2):204–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16465642>
56. GARCIA-GRAELLS C, ANTOINE J, LARSEN J, CATRY B, SKOV R, DENIS O. Livestock veterinarians at high risk of acquiring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398. *Epidemiol Infect.* 2012;140(3):383–9.
57. Camilo A, Filho M. Incidência da tuberculose em indígenas do município de São Gabriel da Cachoeira , AM Incidence of tuberculosis among indigenous people in the municipality of São Gabriel Cachoeira , AM. 2008;41(3):243–6.
58. Sader HS, Gales a C, Pfaller M a, Mendes RE, Zoccoli C, Barth A, et al. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Brazilian J Infect Dis* [Internet]. 2001;5:200–14. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-86702001000400006&script=sci_arttext
59. Lu P, Chin L, Peng C, Chen T, Ma L, Siu LK, et al. Risk Factors and Molecular Analysis of Community Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage Risk Factors and Molecular Analysis of Community Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage. 2005;
60. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: Results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73(4):354–60.
61. Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo. In: Dados de Infecção Hospital Geral 2015. Acesso em: 03 fev 2017. Disponível em: <http://http://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/>
62. Nascimento-Carvalho CM, Lyra TG, Alves NN, Caldas RM, Barberino MG. Resistance to methicillin and other antimicrobials among community-acquired and nosocomial *Staphylococcus aureus* strains in a pediatric teaching hospital in Salvador, Northeast Brazil. *Microb Drug Resist* [Internet]. 2008;14(2):129–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18479198>
63. Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, Berquó L, Ferreira FA, Santos RNS, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J Clin Microbiol.* 2005;43(4):1985–8.
64. Ribeiro A, Coronado AZ, Silva-Carvalho MC, Ferreira-Carvalho BT, Dias C, Rozenbaum R, et al. Detection and characterization of international community-acquired infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Rio de Janeiro and Porto Alegre cities causing both community- and hospital-associated diseases. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007;59(3):339–45.

65. Silva-Carvalho MC, Bonelli RR, Souza RR, Moreira S, dos Santos LCG, de Souza Conceição M, et al. Emergence of multiresistant variants of the community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineage ST1-SCCmecIV in 2 hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2009;65(3):300–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.07.023>
66. Wassenberg MWM, Bootsma MCJ, Troelstra A, Kluytmans JAJW, Bonten MJM. Transmissibility of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (ST398) in Dutch hospitals. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2010;17(2):316–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03260.x>
67. Jiménez JN, Vélez LA, Mediavilla JR, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodríguez EA, et al. Livestock- associated Methicillin- Susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 Infection in Woman, Colombia. *Emerg Infectious Dis*. 2011;17(10):1970–1.
68. Chen F-J, Huang I-W, Wang C-H, Chen P-C, Wang H-Y, Lai J-F, et al. *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* with low-level oxacillin MIC in Taiwan. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2012 May [cited 2014 Jan 17];50(5):1679–83. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3347131&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
69. Riffon E, Sayasith K, Khalil H, Dubreuil P, Drolet M, Lagace J. Development of a Rapid and Sensitive Test for Identification of Major Pathogens in Bovine Mastitis by PCR. 2001;39(7):2584–9.
70. Gharsa H, Ben Slama K, Lozano C, Gómez-Sanz E, Klibi N, Ben Sallem R, et al. Prevalence, antibiotic resistance, virulence traits and genetic lineages of *Staphylococcus aureus* in healthy sheep in Tunisia. *Vet Microbiol* [Internet]. 2012 May 4 [cited 2014 Jan 17];156(3–4):367–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22176760>
71. Fang H, Hedin G. Rapid Screening and Identification of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Clinical Samples by Selective-Broth and Real-Time PCR Assay. *J Clin Microbiol*. 2003;41(7):2894–9.
72. Johnsson D, Mölling P, Strålin K, Söderquist B. Detection of Panton-Valentine leukocidin gene in *Staphylococcus aureus* by LightCycler PCR: Clinical and epidemiological aspects. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(10):884–9.
73. Milheirico C, Oliveira DC, de Lencastre H. Update to the Multiplex PCR Strategy for Assignment of *mec* Element Types in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2007 Nov 19 [cited 2014 Jan 20];51(12):4537–4537. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2168021/>
74. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McCallister SK, Tenover FC. Pulsed-Field Gel Electrophoresis Typing of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from the United States : Establishing a National Database. 2003;41(11):5113–20.

75. Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, Ashton FE, Pollard DR, Rozee KR. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1991 Mar [cited 2014 Jan 20];29(3):426–30. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=269793&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
76. Cunha MDLRS, Calsolari R a O, Júnior JPA. Detection of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin 1 genes in *Staphylococcus*, with emphasis on coagulase-negative staphylococci. *Microbiol Immunol* [Internet]. 2007;51(4):381–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17446677>
77. Marconi C, Cunha MLRS, Araújo Jr JP, Rugolo LMSS. Standardization of the PCR technique for the detection of delta toxin in *Staphylococcus* spp. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* [Internet]. 2005 Jun [cited 2014 Jan 20];11(2):117–28. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-91992005000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=em
78. Koning S, Van Belkum A, Snijders S, Van Leeuwen W, Verbrugh H, Nouwen J, et al. Severity of nonbullous *Staphylococcus aureus* impetigo in children is associated with strains harboring genetic markers for exfoliative toxin B, Panton-Valentine leukocidin, and the multidrug resistance plasmid pSK41. *J Clin Microbiol*. 2003;41(7):3017–21.
79. Arciola CR, Gamberini S, Campoccia D, Visai L, Speziale P, Baldassarri L, et al. A multiplex PCR method for the detection of all five individual genes of *ica* locus in *Staphylococcus epidermidis*. A survey on 400 clinical isolates from prosthesis-associated infections. *J Biomed Mater Res A* [Internet]. 2005 Nov 1 [cited 2014 Jan 17];75(2):408–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16088896>
80. Enright MC, Day NPJ, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 2000;38(3):1008–15.
81. e-BURST V3 Algorithm – *Staphylococcus aureus*. Acesso em: 03 fev 2017. Disponível em: <http://eburst.mlst.net/>
82. Coutinho LMS, Scazufca M, Menezes PR. Methods for estimating prevalence ratios in cross-sectional studies. *Rev Saude Publica*. 2008;42(6):992–8.
83. Barros AJD, Hirakata VN. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. *BMC Med Res Methodol* [Internet]. 2003;3:21. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=521200&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
84. Tong SYC, Varrone L, Chatfield MD, Beaman M, Giffard PM. SHORT REPORT Progressive increase in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Indigenous populations in northern Australia from 1993 to 2012. 2015;2:1519–23.

85. Shukla SK, Stemper ME, Ramaswamy S V, Conradt JM, Reich R, Graviss EA, et al. Molecular Characteristics of Nosocomial and Native American Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones from Rural Wisconsin. 2004;42(8):3752–7.
86. Park SY, Chung DR, Yoo JR, Baek JY, Kim SH, Ha YE, et al. Sequence type 72 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged as a predominant clone of nasal colonization in newly admitted patients. 2016;93:386–9.
87. Frank KM, Zhou T, Moreno-Vinasco L, Hollett B, Garcia JGN, Bubeck-Wardenburg J. Host response signature to *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin implicates pulmonary Th17 response. *Infect Immun* [Internet]. 2012 Sep [cited 2014 Jan 17];80(9):3161–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3418743&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
88. Coimbra Júnior CE, Santos R V., Tanus R. Estudos epidemiológicos entre grupos indígenas de Rondônia. I--Piodermite e portadores inaparentes de *Staphylococcus* sp. na boca e nariz entre os Suruí e Karitiana. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1985;27(1):13–9.
89. Ruimy R, Angebault CC, Lix Djossou F, Dupont C, Epelboin L, Jarraud S, et al. Are Host Genetics the Predominant Determinant of Persistent Nasal *Staphylococcus aureus* Carriage in Humans? *J Infect Dis*. 2010;202(6):924–34.
90. Pires FV, Da Cunha MDLRDS, Abraão LM, Martins PYF, Camargo CH, Fortaleza CMCB. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in Botucatu, Brazil: A population-based survey. *PLoS One*. 2014;9(3).
91. Vandendriessche S, Hallin M, Cattray B, Jans B, Deplano A, Nonhoff C, et al. Previous healthcare exposure is the main antecedent for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage on hospital admission in Belgium. 2012;2283–92.
92. Sader HS, Mendes RE, Jones RN, Flamm RK. Antimicrobial susceptibility patterns of community- and hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from United States Hospitals: results from the AWARE Ceftaroline Surveillance Program (2012–2014). *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2016;86(1):76–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.06.017>
93. Franchi EPLP. Epidemiologia molecular e estudo dos fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina isolados de feridas em pacientes atendidos em unidades básicas de saúde da cidade de Botucatu. Tese (doutorado) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP). Botucatu-SP.
94. Liu Y, Zhang J, Ji Y. PCR-based Approaches for the Detection of Clinical Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. 2016;45–56.
95. Gorwitz RJ, Kruszon-Moran D, McAllister SK, McQuillan G, McDougal LK, Fosheim GE, et al. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001–2004. *J Infect Dis* [Internet]. 2008 May 1 [cited 2014 Jan

- 15];197(9):1226–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18422434>
96. Davis MF, Iverson SA, Baron P, Vasse A, Silbergeld EK, Lautenbach E, et al. Household transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other staphylococci. Vol. 12, *The Lancet Infectious Diseases*. 2012. p. 703–16.
 97. Alvarez-Uria G, Gandra S, Laxminarayan R. Poverty and prevalence of antimicrobial resistance in invasive isolates. *Int J Infect Dis*. 2016;52:59–61.
 98. Kocsis E, Lagler H, Pesti N, Stich K, Kristóf K, Nagy K, et al. Comparison of Austrian, Hungarian and Macedonian methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* strains in relation to prevalence of cytotoxin genes. *Microb Pathog* [Internet]. 2009 Jun [cited 2014 Jan 17];46(6):328–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19366626>
 99. Access O. Detection of genes involved in biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates Detektion verschiedener in die Biofilmbildung involvierter Gene von *Staphylococcus aureus*. 2016;11:1–5.
 100. Balaji K, Thenmozhi R, Pandian SK. Effect of subinhibitory concentrations of fluoroquinolones on biofilm production by clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*. *Indian J Med Res*. 2013;137(5):963–71.
 101. Ghasemian A, Peerayeh SN, Bakhshi B, Mirzaee M. Comparison of biofilm formation between methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates of *staphylococcus aureus*. *Iran Biomed J*. 2016;20(3):175–81.
 102. Abraão LM. Detecção dos genes de virulência e identificação do perfil clonal de isolados de *Staphylococcus aureus* colonizantes de nasofaringe obtidos em estudo de base populacional. Botucatu, 2013. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP). Botucatu-SP.
 103. Pacheco RL, Lobo IRD, Oliveira IIMS, Farina IIEF, Santos ICR, Costa IISF, et al. Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) carriage in a dermatology unit. 2011;66(12):2071–7.
 104. Boan P, Tan H, Pearson J, Coombs G, Heath CH, Robinson JO. Epidemiological , clinical , outcome and antibiotic susceptibility differences between PVL positive and PVL negative *Staphylococcus aureus* infections in Western Australia : a case control study. 2015;1–6.
 105. R.Z. K, A.A.I. F, H.M. H, E.M. A. Prevalence of exfoliative toxin A and B genes in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens [Internet]. Vol. 7, *Journal of Infection and Public Health*. 2014. p. 177–85. Available from: http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/716388/description/nhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed12&NEWS=N&AN=2014316088
 106. Kato F, Kadomoto N, Iwamoto Y, Bunai K, Komatsuzawa H, Sugai M. Regulatory Mechanism for Exfoliative Toxin Production in *Staphylococcus aureus* □.

- 2011;79(4):1660–70.
107. Munckhof WJ, Nimmo GR, Schooneveldt JM, Schlebusch S, Stephens a J, Williams G, et al. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*, including community-associated methicillin-resistant strains, in Queensland adults. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2009 Feb;15(2):149–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19154489>
 108. M Cristina G, Brisse S, Brosch R, Fabre M, Omais B, Marmiesse M, et al. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog*. 2005;1(1):0055–61.
 109. Cockfield JD, Pathak S, Edgeworth JD, Lindsay JA. Rapid determination of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. *J Med Microbiol*. 2007;56(5):614–9.
 110. Witzel C de L, Fortaleza CMCB, de Souza CSM, Riboli DFM, da Cunha M de LR de S, Castelo Branco Fortaleza C, et al. Nasopharyngeal carriage of *Staphylococcus aureus* among imprisoned males from Brazil without exposure to healthcare: risk factors and molecular characterization. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* [Internet]. 2014;13(1):25. Available from: <http://www.ann-clinmicrob.com/content/13/1/25>
 111. Schuenck RP, Nouér SA, de Oliveira Winter C, Cavalcante FS, Scotti TD, Ferreira ALP, et al. Polyclonal presence of non-multiresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying SCCmec IV in health care-associated infections in a hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;64(4):434–41.
 112. Lozano C, Gómez-Sanz E, Benito D, Aspiroz C, Zarazaga M, Torres C. *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain, with detection of CC398 and CC97 strains. *Int J Med Microbiol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2014 Jan 13];301(6):500–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21570348>
 113. Sola C, Paganini H, Egea AL, Moyano AJ, Garneró A, Kevric I, et al. Spread of epidemic MRSA-ST5-IV clone encoding PVL as a major cause of community onset staphylococcal infections in Argentinean children. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Jan 17];7(1):e30487. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3264586&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 114. Ray GT, Suaya JA, Baxter R. Incidence, microbiology, and patient characteristics of skin and soft-tissue infections in a U.S. population: a retrospective population-based study. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2013;13(1):252. Available from: <http://europepmc.org/articles/PMC3679727/?report=abstract>
 115. Al-Rawahi GN, Reynolds S, Porter SD, Forrester L, Kishi L, Chong T, et al. Community-associated CMRSA-10 (USA-300) is the predominant strain among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing skin and soft tissue infections in patients presenting to the emergency department of a Canadian tertiary

- care hospital. *J Emerg Med* [Internet]. 2010;38(1):6–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18325716>
116. Rabello RF, Moreira BM, Lopes RMM, Teixeira LM, Riley LW, Castro ACD. Multilocus sequence typing of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from cows with mastitis in Brazilian dairy herds. *J Med Microbiol* [Internet]. 2007;56(11):1505–11. Available from: <http://jmm.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.47357-0>
117. Ouedraogo AS, Dunyach-Remy C, Kissou A, Sanou S, Poda A, Kyelem CG, et al. High nasal carriage rate of *Staphylococcus aureus* containing panton-valentine leukocidin- and EDIN-encoding genes in community and hospital settings in Burkina Faso. *Front Microbiol*. 2016;7(SEP):1–7.
118. Linz B, Balloux F, Moodley Y, Manica A, Liu H, Roumagnac P, et al. An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature* [Internet]. 2007;445(7130):915–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17287725>