

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 31/08/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Epidemiologia molecular, susceptibilidade antimicrobiana e fatores de virulência em *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus lugdunensis* isolados de hemocultura por mais de uma década

LETÍCIA CALIXTO ROMERO

Discente

MARIA DE LOURDES RIBEIRO DE SOUZA DA CUNHA

Orientadora

VALÉRIA CATANELI PEREIRA

Coorientadora

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia de micro-organismos e imunidade.

Prof.^a Dra. Associada Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

**BOTUCATU – SP
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

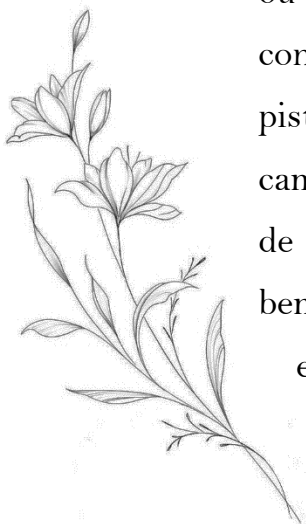
Romero, Leticia Calixto.

Epidemiologia molecular, susceptibilidade antimicrobiana e fatores de virulência em *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus lugdunensis* isolados de hemocultura por mais de uma década / Leticia Calixto Romero. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha
Coorientador: Valéria Cataneli Pereira
Capes: 21201021

1. Biofilmes. 2. Estafilococos. 3. Patogenicidade.
4. Evolução Clonal. 5. Anti-infecciosos. 6. Hemocultura.

Palavras-chave: Biofilme; Estafilococos coagulase-negativa; Patogenicidade; Relação clonal; Resistência antimicrobiana.



Se você tem a coragem de deixar para trás tudo que lhe é familiar e confortável (pode ser qualquer coisa, desde a sua casa aos seus antigos ressentimentos) e embarcar numa jornada em busca da verdade (interna ou externa), e se você tem mesmo a vontade de considerar tudo que acontece nessa jornada como uma pista, e se você aceitar cada um que encontrar no caminho como professor, e se estiver preparada, acima de tudo, para encarar (e perdoar) algumas realidades bem difíceis sobre você mesma...

então a verdade não lhe será negada.

Elizabeth Gilbert



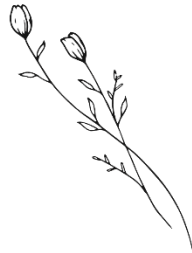
DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a quem sempre acreditou em mim,
mesmo quando eu mesma duvidei,
minha vó Áurea.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço à minha orientadora, **Prof.^a Dr.^a Maria de Lourdes**, por toda a confiança em mim e no meu trabalho, por ter me acolhido em seu laboratório e por fazer parte da minha história e do meu crescimento pessoal e profissional. Obrigada por todos os ensinamentos valiosos, que levarei por toda a vida, e pelas palavras de incentivo que me fizeram acreditar que eu poderia chegar mais longe.

Foi um privilégio aprender com a senhora!



AGRADECIMENTOS

Começo expressando minha gratidão à **Deus** por me abençoar tanto e por constantemente me lembrar que os sonhos Dele são maiores que os meus.

Agradeço, de forma especial, à minha **vó Áurea**, minha maior incentivadora, que sempre apostou em mim, na minha educação e nunca mediu esforços para me ver conquistar o que eu quisesse. Por causa de você eu pude aprender com os melhores, mas com você eu aprendi o essencial!

Agradeço à minha família, especialmente minha mãe **Ednéia** por ser minha fortaleza, meu pai **André** e meus irmãos, **Gabriela** e **Rafael**, pelo apoio e amor incondicional durante todos esses anos, e minha tia **Bel** por todo o cuidado que sempre teve por mim!

Agradeço ao meu parceiro de vida, **Guilherme**, por cuidar de mim, por tornar os dias angustiantes e cansativos mais leves, por me arrancar sorrisos mesmo nos piores momentos e enxergar o melhor em mim. Obrigada por ser meu porto seguro!

Agradeço à **Arlete** e **Roberto**, pelo imenso carinho e cuidado!

Obrigada por me acolherem na vida de vocês!

Agradeço à minha companhia diária, **Jade**, por trazer tanta alegria na minha vida!

Agradeço à minha coorientadora **Prof.^a Dr.^a Valéria**, por todo o suporte, por me apresentar o mundo da microbiologia, pelos eternos ensinamentos e principalmente pelo encorajamento!

Agradeço à **Milena** e à **Karen** por serem o maior presente que a pós-graduação me deu. Obrigada por toda a ajuda, pela amizade inestimável, e por tornarem essa jornada mais divertida! Vocês moram no meu coração!

Agradeço aos colegas de laboratório, **Thais**, **Nathalia**, **Ana**, **Lucas**, **Guilherme** e **Julia** por toda a convivência no laboratório e pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei! Muito obrigada!

Agradeço à **Elka**, por ter sido minha mentora no início dessa caminhada, mas principalmente por ter se tornado uma amiga incrível! Sinto sua falta!

Agradeço aos funcionários do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas do Instituto de Biociências de Botucatu, em especial à **Aline, Larissa e Luiz** por todo o suporte!

Agradeço aos professores do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas que de alguma forma contribuíram para a minha formação, em especial ao **Prof. Dr. Eduardo Bagagli**, por toda gentileza!

Agradeço à equipe do **Laboratório Clínico** do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas do Instituto de Biociências pela colaboração e disposição em separar as amostras essenciais para a realização deste trabalho!

Agradeço aos membros da banca de qualificação, **Prof. Dr. Alessandro Lia Mondelli, Prof. Dr. Rodrigo Tavanelli Hernandes e Dr.^a Luiza Hubinger** pelas valiosas contribuições para o trabalho!

Agradeço à **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, pelo fornecimento de toda estrutura física e humana necessária à minha formação e execução do experimento!

Agradeço à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo auxílio financeiro, essencial para a realização desse trabalho!

Finalmente, gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

Na impossibilidade de nomear cada um, deixo aqui meu reconhecimento e gratidão a todos!



Sumário

RESUMO GERAL	11
GENERAL ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERÊNCIAS	29
3. OBJETIVOS	41
3.1. OBJETIVO GERAL	41
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
4. APRESENTAÇÃO DA TESE	42
4.1. ARTIGO CIENTÍFICO I	43
4.2. ARTIGO CIENTÍFICO II.....	86
CONCLUSÕES	123
ANEXOS	125

Lista de siglas e abreviaturas

ECN	Estafilococos coagulase-negativa
DMIs	Dispositivos médicos implantáveis
UTIN	Unidades de terapia intensiva neonatal
MALDI-TOF MS	Sistema de ionização/dessorção a laser assistida por matriz acoplado a analisador de massas de tempo de voo
EPS	Substâncias poliméricas extracelulares
e-DNA	DNA extracelular
PIA	Adesina intercelular polissacarídica
PNAG	N-acetil glucosamina polimérica
vWbl	Proteína de ligação do fator de von Willebrand
Fbl	Proteína de ligação do fibrinogênio
Aap	Proteína associada ao acúmulo
Pls	Proteína sensível à plasmina
Embp	Proteína de ligação à matriz extracelular
Bap	Proteína associada a biofilme
MSCRAMM	Molécula de adesão a superfície da matriz adesiva
SLUSH	<i>Staphylococcus lugdunensis</i> synergistic haemolysin
TSST-1	Toxina 1 da síndrome do choque tóxico
SEs	Enterotoxinas estafilocócicas
<i>Sel</i>	Enterotoxinas estafilocócicas - <i>like</i>
SaPI	Ilhas de patogenicidade
PBP	Proteína de ligação à penicilina
PBP2a	Proteína de ligação à penicilina alterada
SCC _{mec}	Cassete Cromossômico Estafilocócico <i>mec</i>
ccr	Cassete chromosome recombinase
IWG-SCC	Grupo de Trabalho Internacional sobre a Classificação de Elementos Cromossômicos de Cassetes Estafilocócicos
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
BrCAST	Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis
MLST	Multilocus Sequence Typing
Shh	<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>
Shn	<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>
MRSA	<i>S. aureus</i> resistentes à meticilina
PCR	Polymerase Chain Reaction
CFO	Cefoxitina
OXA	Oxacilina
LNZ	Linezolida
SUT	Sulfametoxazol/trimetoprim
MSSC	<i>S. capitis</i> sensível à meticilina

MRSC	<i>S. capitis</i> resistente à meticilina
NT	Não tipável
S	Sensível
SSD	Sensível dose-dependente
R	Resistente
M-PCR	PCRs multiplex
TSB	Tryptic-Soy Broth
PBS	Solução tampão fosfato salina
NA	Não Aderente
FRA	Fraço Aderente
FOA	Forte Aderente
DO	Densidade óptica
UTI	Unidade de terapia intensiva
BORSA	Borderline Oxacillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>

RESUMO GERAL

Estafilococos coagulase-negativa (ECN) são micro-organismos oportunistas de patogenicidade múltipla, associados à uma ampla gama de infecções que, frequentemente, se manifestam em pacientes com imunossupressão ou com dispositivos médicos implantados, além de serem importantes agentes causais de sepse neonatal tardia em bebês prematuros. A produção de biofilme e a alta resistência a antimicrobianos compõem aspectos importantes da estratégia de persistência desses micro-organismos, além do notável potencial de atuarem como reservatórios de genes de resistência e virulência capazes de serem transferidos a outras espécies, como *Staphylococcus (S.) aureus*. No entanto, a caracterização minuciosa dos aspectos moleculares da epidemiologia e da patogênese de espécies clínicas emergentes como *S. hominis*, *S. capitis* e *S. lugdunensis* não são bem esclarecidos, apesar da evidente evolução do perfil de resistência e virulência relatada em clones clinicamente relevantes, dessas espécies. Dado o exposto, este estudo teve como objetivo caracterizar o perfil genético de virulência, a produção de biofilme, a evolução de resistência antimicrobiana e a epidemiologia molecular em isolados de *S. capitis*, *S. hominis* e *S. lugdunensis* provindos de hemoculturas coletadas entre 2009 e 2019, e no ano de 2021, de um hospital no interior do estado de São Paulo, com alta abrangência populacional. Ao todo foram estudados 141 isolados de *S. capitis*, 177 isolados de *S. hominis*, dos quais 17 (9,6%) foram caracterizados como *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, além de 13 isolados de *S. lugdunensis*, para a qual também foram inclusas amostras coletadas em 2022. Taxas elevadas de resistência à metilina mediada pelo gene *mecA* foram encontradas em *S. hominis* e *S. capitis*, chegando a 76,8% e 70,2%, respectivamente. Em contrapartida, isolados de *S. lugdunensis* se mostraram altamente suscetíveis, no entanto, frequentemente carreadores de genes de virulência. A diversidade genética foi acentuada em *S. hominis*, com SCC*mec* frequentemente não tipados, e genes *ccr* não caracterizados, além da prevalência de um novo elemento descrito recentemente, o SCC*mec* tipo XIV, majoritariamente detectado nos isolados de *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*. Já amostras de *S. capitis* apresentaram perfil mais homogêneo, com predominância de SCC*mec* tipo III, tipo IV e tipo V, além de clones persistentes dispersos em diferentes unidades hospitalares e na UTI, principalmente a neonatal. Os isolados de *S. lugdunensis* se mostraram geneticamente relacionados, indicando baixa variabilidade genética nessa espécie. A produção de biofilme foi pouco prevalente, e sem correlação com a presença de genes do operon *icaADBC*. Ademais, isolados de *S. hominis* subsp. *novobiosepticus* produziram biofilme com maior frequência e se mostraram mais resistentes à metilina do que *S. hominis* subsp. *hominis*. Dentre as três espécies, a produção de biofilme foi mais correlacionada à *S. capitis*, que também formou biofilmes mais forte aderentes do que as demais espécies, frequentemente associado à co-ocorrência de SCC*mec* tipo III e IV. Além disso, isolados de *S. capitis* provenientes de UTIs tiveram a produção de

biofilme favorecida em resposta ao estresse hiperosmótico, resultando em um aumento de 26,5% nessa taxa, semelhante ao já descrito para linhagens clonais de *S. capitis* isoladas de UTIs neonatais ao redor do mundo. A detecção de um ou mais genes associados a produção de enterotoxinas foi verificada em 68,6% das amostras, indicando o potencial enterotoxigênico dessas linhagens. Os resultados obtidos revelam resistência antimicrobiana elevada, produção de biofilme sem correlação com determinantes genéticos descritos, porém com expressão influenciável por condições ambientais, clones persistentes circulando no hospital e diversidade genética capaz de influenciar outras espécies estafilocócicas. Destacamos a diversidade e a complexidade que permeia a existência dessas espécies clinicamente relevantes, seja pela diversidade genética de *S. hominis*, pela clonalidade e persistência de *S. capitis* em UTIs, ou pela virulência atípica de *S. lugdunensis*. É de extrema importância investirmos no monitoramento desses e outros aspectos que impactam a ascensão dessas linhagens no cenário clínico atual.

Palavras-chave: Estafilococos coagulase-negativa, biofilme, relação clonal, resistência a β -lactâmicos, fator de virulência, PFGE, *mecA*, hemocultura.

GENERAL ABSTRACT

Coagulase-negative staphylococci (CoNS) are opportunistic microorganisms characterized by variable pathogenicity. These microorganisms are associated with a wide range of infections that often manifest in immunosuppressed patients and patients with implanted medical devices. In addition, CoNS are important causative agents of late-onset sepsis in preterm infants. Biofilm production and high antimicrobial resistance are important aspects of the persistence strategy of these microorganisms. Furthermore, CoNS possess a remarkable potential of acting as reservoirs of resistance and virulence genes that can be transferred to other species, such as *Staphylococcus aureus*. However, the molecular aspects of the epidemiology and pathogenesis of emerging clinical species such as *S. hominis*, *S. capitis* and *S. lugdunensis* are not well understood despite the evident evolution of the resistance and virulence profile reported for clinically relevant clones of these species. Given the above, this study aimed to characterize the genetic virulence profile, biofilm production, evolution of antimicrobial resistance, and molecular epidemiology of *S. capitis*, *S. hominis* and *S. lugdunensis* strains isolated from blood cultures collected between 2009 and 2019 and in 2021 at a hospital in the interior of the state of São Paulo. The hospital is characterized by high population coverage. A total of 141 *S. capitis* isolates, 177 *S. hominis* isolates, including 17 (9.6%) characterized as *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, and 13 *S. lugdunensis* isolates were studied. In the last case, samples collected in 2022 were also included. High rates of methicillin resistance mediated by the *mecA* gene were found in *S. hominis* and *S. capitis*, reaching 76.8% and 70.2%, respectively. In contrast, the *S. lugdunensis* isolates were highly susceptible but often carried virulence genes. Marked genetic diversity was observed in *S. hominis*, which frequently carried untypable SCC*mec* and uncharacterized *ccr* genes. In addition, a new recently described element, SCC*mec* type XIV, was mostly detected in *S. hominis* subsp. *novobiosepticus* isolates. On the other hand, the *S. capitis* isolates exhibited a more homogeneous profile, with a predominance of SCC*mec* type III, type IV, and type V. In addition, persistent clones were distributed across different hospital units and the ICU, especially the neonatal ICU. Biofilm production was less prevalent and with the presence of *icaADBC* operon genes. Furthermore, *S. hominis* subsp. *novobiosepticus* isolates produced biofilm more frequently and were more resistant to methicillin than *S. hominis* subsp. *hominis*. Among the three species, biofilm production was more correlated with *S. capitis*, which also formed stronger adherent biofilms than the other species, often associated with the co-occurrence of SCC*mec* types III and IV. Furthermore, *S. capitis* isolates collected from ICUs favored biofilm production in response to hyperosmotic stress, resulting in a 26.5% increase in this rate, similar to what has been described for clonal strains of *S. capitis* isolated from neonatal ICUs around the world. One or more genes associated with the production of enterotoxins were detected in 68.6% of the isolates, indicating the enterotoxigenic potential of these

strains. The results obtained reveal high antimicrobial resistance, biofilm production not correlated with described genetic determinants but whose expression is influenced by environmental conditions, persistent clones circulating in the hospital, and genetic diversity capable of influencing other staphylococcal species. We highlight the diversity and complexity of these clinically relevant species, whether due to the genetic diversity of *S. hominis*, the clonality and persistence of *S. capitis* in ICUs, or the atypical virulence of *S. lugdunensis*. It is extremely important that we invest in monitoring these and other characteristics that affect the rise of these strains in the current clinical scenario.

Keywords: Coagulase-negative staphylococci, biofilm, clonal relationship, β -lactam resistance, virulence factor, PFGE, *mecA*, blood culture.

1. INTRODUÇÃO

1.1. A ascensão patogênica de estafilococos coagulase-negativa

Os estafilococos são cocos Gram-positivos imóveis, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos e catalase-positivos. Aparecem predominantemente em grupos semelhantes a cachos de uva e são capazes de crescer em meio contendo 10% de cloreto de sódio [1].

Pautada por diversas reclassificações taxonômicas e renomeações de espécies, a história da descoberta dos estafilococos teve origem com os primeiros relatos de micro-organismos isolados de feridas, quando o cirurgião Ogston propôs pela primeira vez o termo “*Staphylococcus*” no final do século XIX [2–4]. Já as primeiras referências às diferentes espécies de “*Staphylococcus*” em termos de patogenicidade foram atribuídas à Rosenbach, um cirurgião alemão, a partir do estudo de diferentes micro-organismos recuperados de abscessos [5].

Em 1940, Fairbrother propôs um esquema simplificado de diferenciação para espécies estafilocócicas, separando-as em (1) estafilococos coagulase-positiva, quase que exclusivamente representado por *Staphylococcus (S.) aureus*, e (2) Estafilococos Coagulase-Negativa (ECN), com base na produção da enzima coagulase, cuja função é promover a coagulação do plasma e fluidos ricos em fibrinogênio induzindo a formação de um coágulo nas imediações das células estafilocócicas [6,7].

Além de *S. aureus*, os estafilococos coagulase-positiva isolados de humanos também incluem *S. argenteus*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, *S. coagulans* e *S. hyicus*, primordialmente caracterizados como patógenos animais, embora já tenham sido associados à doenças humanas [8].

Por muitas décadas, espécies de ECN tiveram seu potencial patogênico subestimado dentro da prática clínica diária, devido à clássica e genérica compreensão da natureza comensal e raramente virulenta desses micro-organismos. Decerto, ECN são exímios colonizadores da microbiota normal humana e, por consequência, contaminantes em potencial para espécimes clínicas, tal como hemoculturas que, quando positivas para ECN, têm sua interpretação problematizada. Nesses casos, a fronteira entre infecção e contaminação é frequentemente nebulosa enquanto tentativas de identificar um ou mais marcadores discriminativos, até agora, não tiveram sucesso [9].

Ainda assim, ECN têm emergido como patógenos oportunistas com notório impacto na saúde humana, de forma adjacente à recente evolução da medicina moderna, a qual tem

favorecido importantes mudanças demográficas – como o aumento do número de pacientes vulneráveis, a prática de terapias imunomoduladoras ou imunossupressoras e, principalmente, o uso crescente de dispositivos médicos implantáveis (DMIs) – como dispositivos de acesso venoso central, substituições totais de articulações e enxertos vasculares [4,9]. É sabido que algumas espécies de ECN estão associadas à uma ampla gama de infecções, que frequentemente se manifestam em pacientes com imunossupressão, com DMIs ou naqueles com comorbidades relevantes, incluindo diabetes mellitus ou insuficiência renal [10]. Outro grupo particularmente vulnerável inclui recém-nascidos e prematuros, acometidos por taxas de morbidade e mortalidade decorrentes, sobretudo, de quadros de sepse neonatal tardia, nos quais algumas espécies de ECN se destacam entre os principais agentes causais, atuando em 30% a 50% dessas infecções, especialmente em unidades de terapia intensiva neonatal (UTIN) [9,11,12].

O perfil causal dessas infecções, embora ainda pouco esclarecido, se dá através de fatores de virulência que, em condições específicas, atuam viabilizando a patogenicidade bacteriana [13]. Do ponto de vista terapêutico, ECN passam a representar uma ameaça, principalmente devido à produção de biofilme e à multirresistência antimicrobiana, que compõem pilares centrais da estratégia patogênica desses micro-organismos. Infecções sanguíneas por ECN associadas à inserção de dispositivos médicos na corrente sanguínea estão fortemente relacionadas à capacidade de certas linhagens formarem biofilme [14]. Um estudo multicêntrico realizado em nove países da América Latina evidenciou taxas elevadas de infecção da corrente sanguínea relacionadas a cateteres, semelhantes ao descrito para países economicamente limitados da Ásia e Oriente Médio, com espécies de ECN representando a maioria dos isolados, com 75% de resistência à oxacilina [15]. Proporções semelhantes são reforçadas por outros estudos conduzidos em regiões geográficas distintas [16–18].

Algumas linhagens de ECN ainda têm sido descritas como detentoras de um extenso repertório de genes codificadores de fatores de adesão, hemolisinas, exoenzimas e superantígenos, ao passo que as altas taxas de resistência antimicrobiana entre espécies de ECN superam a resistência à oxacilina reportada para *S. aureus* [19,20]. Com efeito, o perfil genético de virulência e resistência dessas espécies não só desafia e limita as opções terapêuticas por si só, como também parecem favorecer, indiretamente, o perfil patogênico de outras espécies estafilocócicas. Afinal, ECN atuam como importantes reservatórios genéticos, capazes de compartilhar genes, contribuindo com o aumento da resistência antimicrobiana e do potencial patogênico em espécies mais significativas do ponto de vista médico, como *S. aureus* [4].

CONCLUSÕES

- ❖ *S. lugdunensis* foram mais frequentemente isolados da UTI neonatal, enquanto amostras de *S. hominis* foram mais correlacionadas ao setor de Pediatria. Já em relação às subespécies de *S. hominis*, *S. hominis* subsp. *hominis* foi mais recorrente em pacientes adultos e pediátricos, em contrapartida, *S. hominis* subsp. *novobiosepticus* foi mais encontrado em idosos;
- ❖ Taxas elevadas de resistência à meticilina mediada pelo gene *mecA* foram encontradas em *S. hominis* e *S. capitis*, particularmente em isolados provenientes de UTIs neonatais e pediátricas. A taxa de detecção do gene *mecA* foi mais frequente em isolados de *S. hominis* subsp. *novobiosepticus* do que em *S. hominis* subsp. *hominis*. Já isolados de *S. lugdunensis* se mostraram altamente suscetíveis, sem detecção do gene *mecA*;
- ❖ O fenótipo de resistência à cefoxitina e/ou oxacilina foi encontrado em amostras *mecA* negativas. Ademais, o perfil fenotípico de resistência aos discos de cefoxitina e/ou oxacilina foi inferior à taxa de detecção do gene *mecA* em ambas as espécies resistentes, com destaque para *S. hominis*, a qual apresentou mais resultados inconsistentes entre os testes fenotípicos e genotípicos de resistência, evidenciando o desempenho desigual entre os dois métodos, podendo induzir a falhas no tratamento em laboratórios clínicos que só utilizam testes fenotípicos;
- ❖ Foi evidenciada resistência a sulfametoxazol/trimetoprim apenas em *S. hominis*, majoritariamente resistentes à meticilina, sem detecção de resistência à linezolida em nenhuma das espécies;
- ❖ A detecção dos genes de hemolisinas α e δ e dos genes *seb*, *sed* e *see* associados à produção de enterotoxinas, foi verificada em poucos isolados das três espécies estudadas, enquanto o gene *tst* não foi encontrado. A prevalência do gene *sec* também foi reduzida, e os genes codificadores de fatores de virulência mais comumente encontrados foram *seg*, *seh* e *sea*, revelando o potencial enterotoxigênico desses isolados. Ademais, em *S. hominis* o perfil de genes de enterotoxinas foi predominantemente *seg* & *sea* enquanto nas demais espécies foi *seg* & *sei*;

- ❖ Isolados de *S. lugdunensis* se revelaram, frequentemente, carreadores de genes codificadores de hemolisinas e proteínas associadas ao perfil de virulência dessa espécie;
- ❖ Foi constatada baixa prevalência de detecção de um ou mais genes do operon *icaADBC*, que foi mais comumente encontrado em *S. capitis*, com predominância dos genes *icaA* e *IcaD*, isolados ou em combinação;
- ❖ A produção de biofilme foi pouco prevalente, porém mais frequente em *S. capitis* que também produziram biofilmes mais forte aderentes do que nas demais espécies, porém sem correlação com a presença de genes do operon *icaADBC*. A produção de biofilme em *S. capitis* ainda foi consideravelmente favorecida por condições hiperosmóticas, enquanto *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus* foram significativamente mais produtores de biofilme do que *S. hominis* subsp. *hominis*;
- ❖ A grande maioria dos isolados de *S. lugdunensis* se mostraram clonais, agrupando em clusters diversos em termos de origem e ano de coleta, com destaque para um clone maior, persistente por seis anos, porém sem determinantes genéticos cabíveis de explicarem tal persistência, sugerindo a distribuição de linhagens geneticamente correlacionadas, devido ao genoma altamente conservado dessa espécie;
- ❖ Cepas de *S. hominis* se mostraram geneticamente mais diversas, com *SCCmec* frequentemente não tipados e variados, além de um novo tipo *SCCmec* recém descrito, indicando alta diversidade de *S. hominis* dentro do hospital;
- ❖ Amostras de *S. capitis* apresentaram perfil mais homogêneo, com predominância de *SCCmec* tipo III, tipo IV e tipo V, e evidência de diferentes clones dispersos no hospital, com linhagens persistentes por vários anos, com destaque para a UTI neonatal;
- ❖ *SCCmec* múltiplos foram detectados apenas em *S. capitis*, com o perfil *SCCmec* III & IV sendo o mais encontrado na espécie, em isolados do ano de 2021, possivelmente clonais;
- ❖ Isolados carreadores de *SCCmec* tipo III e tipo IV, separados ou em conjunto (*SCCmec* III & IV) foram, mais frequentemente, produtores de biofilme, principalmente forte aderente.