



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Renata da Silva Vasconcelos

Heterogeneidade de perfis de resistência, expressão de multirresistência e de produção de biofilme em superfícies abióticas e biomateriais utilizados em procedimentos cirúrgicos (aço e pericárdio bovino) na presença de agentes antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus hominis* detectadas em fômites diversos em ambiente hospitalar

Rio de Janeiro

2021

Renata da Silva Vasconcelos

Heterogeneidade de perfis de resistência, expressão de multirresistência e de produção de biofilme em superfícies abióticas e biomateriais utilizados em procedimentos cirúrgicos (aço e pericárdio bovino) na presença de agentes antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus hominis* detectadas em fômites diversos em ambiente hospitalar

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Luíza de Mattos Guaraldi

Coorientadora: Prof.^a Dra. Bruna Ribeiro Sued Karam

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

V331 Vasconcelos, Renata da Silva.

Heterogeneidade de perfis de resistência, expressão de multirresistência e de produção de biofilme em superfícies abióticas e biomateriais utilizados em procedimentos cirúrgicos (aço e pericárdio bovino) na presença de agentes antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus hominis* detectadas em fômites diversos em ambiente hospitalar / Renata da Silva Vasconcelos. – 2021.

109 f.

Orientadoras: Ana Luíza de Mattos Guaraldi.

Coorientadora: Bruna Ribeiro Sued Karam.

Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Microbiologia.

1. *Staphylococcus capitis* – Isolamento & purificação – Teses. 2. *Staphylococcus hominis* – Isolamento & purificação – Teses. 3. Materiais biomédicos – Microbiologia – Teses. 4. *Caenorhabditis elegans* – Microbiologia – Teses. I. Guaraldi, Ana Luíza de Mattos. II. Karam, Bruna Ribeiro Sued. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 579.86:66.09:61

Bibliotecária: Kalina Silva CRB7/4377

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Renata da Silva Vasconcelos

Heterogeneidade de perfis de resistência, expressão de multirresistência e de produção de biofilme em superfícies abióticas e biomateriais utilizados em procedimentos cirúrgicos (aço e pericárdio bovino) na presença de agentes antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus hominis* detectadas em fômites diversos em ambiente hospitalar

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Aprovada em 02 de dezembro de 2021.

Coorientadora: Prof.^a Dra. Bruna Ribeiro Sued Karam

Fundação Oswaldo Cruz

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Ana Luíza de Mattos Guaraldi (Orientadora)

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Paula Marcele Afonso Pereira Ribeiro

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Louisy Sanches dos Santos Sant'Anna

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Renata Garcia Costa

Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Helvécio Cardoso Corrêa Póvoa

Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2021

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho como primícia ao meu Deus que é digno de toda glória e aos meus pais que me ensinaram a viver com dignidade, que sempre se doaram por inteiro e, em muitas vezes renunciaram a seus sonhos para a realização do meu; pelo amor, carinho e acalento, pelos sorrisos, pelas lágrimas amenizadas, por toda a atenção, dedicação e apoio.

AGRADECIMENTOS

Um desafio tão grande quanto escrever essa Tese é expressar meus agradecimentos em pouquíssimas folhas a todas as pessoas que fizeram parte da minha trajetória, cada um de vocês foram fundamentais para a realização de mais um sonho.

Agradeço primeiramente a Deus, aquele que é digno de toda honra e toda glória, dono de toda sabedoria, o Mestre dos mestres, o arquiteto dos meus neurônios. O soberano, o pai de amor, que enche a minha vida de favor e graça, pois sua bondade e misericórdia me cercam por todos os dias. Nessa árdua jornada, me sustentou e me fez sobrepor o bravio e revoltoso mar. Contudo, eu sempre vi a sua destra a me guiar.

À minha família, meu bem precioso, não há palavras necessárias para expressar minha gratidão. Meus pais Gabriel (*in memoriam*) e Alda, minha irmã Fernanda e sobrinha Karolyna, sem vocês a vida seria sem sabor, simplesmente, amo vocês!!

À orientadora e Professora Dra. Ana Luíza de Mattos Guaraldi, ilustríssima e exemplo de resiliência, minha gratidão pelo acolhimento, ensinamentos e pelo privilégio da sua presença e por todo legado acrescentado em minha história de vida.

À co-orientadora Bruna Ribeiro Sued Karam, uma joia de inestimável valor e grande profissional por excelência, obrigada pelo esmero, afeto e por compartilhar sua sabedoria e ensinamentos nessa jornada da pesquisa, visto que sozinha não chegaria a lugar algum.

As minhas “co-orientadoras” Paula Afonso, Bárbara Nogueira e Julianna Olivella, cada uma foram presentes de Deus, catalisadoras de todo aprendizado, obrigada pelo incentivo, paciência e alegria, sem vocês ao meu lado dia após dia seria inatingível essa conquista.

Aos meus amigos do departamento e laboratório 3, pelo trabalho em equipe, onde pude compartilhar os meus dias, meus sinceros agradecimentos, a vocês que direta e indiretamente contribuíram no alcance dos meus objetivos, sem os quais, seria muito difícil realizá-los.

Agradeço ao prof. Eduardo Torres pelo auxílio no que diz respeito a Microscopia eletrônica de varredura (MEV), assim como ao Instituto de Química e ao Laboratório Multiusuário de Nanofabricação e Caracterização de Nanomateriais (NANOFAB) pela grande contribuição.

Aos professores da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, representado pela Professora Dra. Alessandra Saliba, bem como seu corpo docente, funcionários e colegas, pelo auxílio e desenvolvimento que contribuíram para a concretização deste projeto.

À Pós-Graduação em Microbiologia que sempre me ajudaram e cooperaram em tudo que foi necessário.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço também as instituições: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da UERJ (PR-2/UERJ), pelo apoio financeiro oferecido para o desenvolvimento deste trabalho e a todos que de forma direta ou indireta, colaboraram para realização desse trabalho.

A gratidão é a lembrança do coração.

Ó profundidade da riqueza, da sabedoria e do conhecimento de Deus!

Romanos 11:33

RESUMO

VASCONCELOS, Renata da Silva. *Heterogeneidade de perfis de resistência, expressão de multirresistência e de produção de biofilme em superfícies abióticas e biomateriais utilizados em procedimentos cirúrgicos (aço e pericárdio bovino) na presença de agentes antimicrobianos de amostras de Staphylococcus capitis e Staphylococcus hominis detectadas em fômites diversos em ambiente hospitalar*. 2021. 109 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Staphylococcus coagulase-negativos (SCN) são encontrados na pele e mucosas de seres humanos e outros animais, são patógenos oportunistas, particularmente em pacientes imunocomprometidos. *Staphylococcus capitis* faz parte da microbiota normal da pele e pouco se sabe sobre sua patogenicidade. *Staphylococcus hominis* é a terceira espécie, entre os SCN, isolados de infecções sanguíneas, sendo capaz de causar infecção particularmente na presença de dispositivos hospitalares. O estudo teve como objetivo a identificação de *S. capitis* e *S. hominis*, em fômites, de 10 salas cirúrgicas de um hospital, a determinação dos perfis de resistência aos agentes antimicrobianos, a capacidade de produção de biofilme e a influência de doses sub-inibitórias dos agentes antimicrobianos na produção de *slime* e de biofilme em superfícies abióticas e de biomaterial, além da verificação da letalidade utilizando nematódeos *Caenorhabditis elegans*. No centro cirúrgico foram isoladas das superfícies dos fômites, 61 amostras bacterianas. Foram caracterizadas 14,7% das amostras como bactérias Gram-negativas e 85,2% como bactérias Gram-positivas, sendo, 78,6% pertencentes ao grupo SCN. Dentre as amostras caracterizadas como SCN, 10 amostras foram identificadas como *S. hominis* e 09 como *S. capitis*. Foram determinados 11 perfis de multirresistência e 05 perfis de não-multirresistência, sendo que todas as amostras foram oxacilina-resistentes e 01 amostra de *S. capitis* e 01 amostra de *S. hominis* foram intermediárias a vancomicina. A presença do gene *mecA* foi detectada em 40% e 33,3% das amostras de *S. capitis* e *S. hominis* respectivamente. Para a produção de *slime*, foram positivas, 66% das amostras *S. capitis* e 50% das amostras *S. hominis*. Todas as amostras foram capazes de aderir a superfície abiótica do vidro e foram capazes de produzir biofilme na superfície hidrofóbica de poliestireno em intensidades variadas na ausência dos antimicrobianos. Na presença dos antimicrobianos, algumas amostras perderam a capacidade de produzir *slime* e/ou aderir as superfícies abióticas. Todas as cepas estudadas foram capazes de produzir biofilme sobre a superfície de aço cirúrgico, em intensidades variáveis, ocorrendo um aumento expressivo na presença de oxacilina. Os resultados das análises por MEV das amostras estudadas, demonstrou aumento de auto agregação e de produção de biofilme, na presença de oxacilina e vancomicina. Na superfície de *patches* de pericárdio bovino, a cepa *S. hominis* MDS SHo-07 apresentou maior capacidade de produção de biofilme, do que a cepa de *S. capitis* MDR SC-03. Foi detectado para 77,7% das amostras de *S. capitis* a presença dos genes *icaA*, *atl* e *fbp* e 66% das amostras apresentaram o gene *aap*. Para *S. hominis*, foi detectado a presença do gene *fbp* em 80% das amostras, os genes *icaA* e *aap* em 70%, e em 60% o gene *atl*. Três amostras apresentaram biotipos semelhantes, revelando sua patogenicidade, sendo submetidas ao processo de infecção de nematódeos. Outros estudos poderão elucidar os diferentes mecanismos de adesão na patogênese de infecções causadas por *S. capitis* e *S. hominis*, incluindo casos associados a dispositivos hospitalares.

Palavras-chave: Aço cirúrgico. *Caenorhabditis elegans*. Pericárdio bovino. *Staphylococcus capitis*. *Staphylococcus hominis*.

ABSTRACT

VASCONCELOS, Renata da Silva. *Heterogeneity of resistance profiles, expression of multidrug resistance and biofilm production on abiotic surfaces and biomaterials used in surgical procedures (steel and bovine pericardium) in the presence of antimicrobial agents from strains of Staphylococcus capitis and Staphylococcus hominis detected in different fomites in a hospital environment.* 2021. 109 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Coagulase-negative Staphylococci (CoNS) which belong to the normal microbiota of the skin and mucous membranes of human and others animals, are opportunistic pathogens, particularly in patients who are immunocompromised. *Staphylococcus capitis* has been considered a commensal, but about its pathogenicity, there's not a great amount of knowledge about the subject. *Staphylococcus hominis* is the third species of CoNS identified in bloodstream infections, associated predominantly with infection in the setting of indwelling devices. This study aimed to investigate the presence of *S. hominis* and *S. capitis* on fomites within nosocomial environment, antimicrobial susceptibility profiles, biofilm formation and the effects of minimal inhibitory concentrations (MICs) of antimicrobial agents on *slime* production and adherence properties on abiotic surfaces and biomaterial, besides the lethality assays using nematodes *Caenorhabditis elegans*. The results demonstrated in the operation room, were isolated 61 strains from fomites's surfaces. 14.7% of the strains were characterized as Gram-negative and 85.2% as Gram-positive, where 78.6% belongs to CoNS. Among CoNS strains, ten strains were identified as *S. hominis* and nine strains as *S. capitis*. Were determined eleven multiresistance profiles and five non-multiresistance profiles. All strains were oxacillin-resistant and one strain of each species were vancomycin-intermediate. The presence of *mecA* gene was detected in 40% and 33.3% of *S. capitis* and *S. hominis* respectively. Were *slime*-positive 66% of *S. capitis* and 50% of *S. hominis*. All strains were able to adhere to the abiotic surface of the glass and showed the ability to produce biofilm in polystyrene's surface on different levels in the absence of antimicrobials. In the presence of antimicrobials, some strains lost the ability to *slime* production and/or adherence an abiotic surfaces. All strains displayed the ability of biofilm formation in the surgical steel's surface, on different levels, with a significant increase in the presence of oxacillin. The results of the SEM analyzes demonstrated, an intensification in self-aggregation and biofilm formation in the presence of both oxacillin and vancomycin. In the *patches* of bovine pericardium's surfaces, the strain *S. hominis* MDS SHo-07 showed more biofilm production capacity than the strain *S. capitis* MDR SC-03. The presence of *icaA*, *atl* and *fbp* genes were detected in 77.7% of the *S. capitis* isolated and the *aap* gene was detected in 66%. The presence of *fbp* gene was detected in 80% of the *S. hominis* isolated, the *icaA* and *aap* genes were detected in 70% and the *atl* gene was detected in 60%. Three strains had similar biotypes, revealing their pathogenicity, being submitted to the nematode infection model. Other studies may elucidate the different mechanisms of adhesion in the pathogenesis of infections cause by *S. capitis* and *S. hominis*, including cases associated with medical devices.

Keywords: Bovine pericardium patch. *Caenorhabditis elegans*. Surgical steel. *Staphylococcus capitis*. *Staphylococcus hominis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Etapas de desenvolvimento do biofilme	34
Figura 2 –	Perfis de resistência de amostras de <i>Staphylococcus hominis</i> isoladas de fômites frente aos 11 agentes antimicrobianos pelo método de difusão em disco	59
Figura 3 –	Perfis de resistência de amostras de <i>Staphylococcus capitis</i> isoladas de fômites frente aos 11 agentes antimicrobianos pelo método de difusão em disco	59
Figura 4 –	Representação ilustrativa de matriz exopolissacarídea (<i>slime</i>) em meio Vermelho do Congo de amostras de <i>S. capitis</i> e <i>S. hominis</i> isoladas de fômites: (A) <i>slime</i> -negativa (SHo-09) apresentando colônias vermelhas e (B) <i>slime</i> -positiva (SC-12) que exibiu colônias de cor enegrecida.....	60
Figura 5 –	Capacidade de produção de biofilme de cepas de <i>S. capitis</i> e <i>S. hominis</i> , sobre a superfície de aço, na ausência e presença de antimicrobiano no período de 24 horas	66
Figura 6 –	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície do aço em interação com: (A, B e C) amostra SC-03 – <i>Staphylococcus capitis</i> sem antimicrobianos, na presença de oxacilina e na presença de vancomicina, respectivamente e, (D, E e F) amostra SHo-07 – <i>Staphylococcus hominis</i> sem antimicrobianos, na presença de oxacilina e na presença de vancomicina, respectivamente	70
Figura 7 –	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície interna do pericárdio bovino em interação com: (A, B) superfície do pericárdio bovino estéril (controle negativo), (C, D) amostra SC-03 – <i>Staphylococcus capitis</i> isolado de placa eletrocautério e, (E, F) amostra SHo-07 – <i>Staphylococcus hominis</i> isolado de maca de transporte.....	71
Figura 8 –	Sobrevivência de <i>C. elegans</i> após cinco dias de infecção frente a três amostras de <i>S. capitis</i> e <i>S. hominis</i> isoladas de fômites do centro cirúrgico	74

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Classificação das cirurgias quanto ao seu potencial de contaminação e suas especificidades	27
Quadro 2 –	Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados nos ensaios de PCR	51
Quadro 3 –	Identificação das espécies Gram-negativas de fômites	54
Quadro 4 –	Identificação das espécies Gram-positivas de fômites	55
Quadro 5 –	Identificação das espécies de <i>Staphylococcus hominis</i> e <i>Staphylococcus capitis</i> isoladas de fômites	56
Quadro 6 –	Perfis de resistência e susceptibilidade aos agentes antimicrobianos de amostras de <i>Staphylococcus hominis</i> e <i>Staphylococcus capitis</i> isoladas de fômites avaliados pelos métodos de difusão em disco e/ou CIM (oxacilina e vancomicina)	58
Quadro 7 –	Produção de <i>slime</i> no meio Vermelho do Congo por amostras de <i>Staphylococcus hominis</i> e <i>Staphylococcus capitis</i> isolados de fômites.....	61
Quadro 8 –	Aderência e produção de biofilme em superfície abiótica do vidro na ausência e na presença de oxacilina e vancomicina de amostras de <i>Staphylococcus hominis</i> e <i>Staphylococcus capitis</i> isolados de fômites.....	65
Quadro 9 –	Aderência e produção de biofilme em superfície abiótica do poliestireno na ausência e na presença de oxacilina e vancomicina de amostras de <i>Staphylococcus hominis</i> e <i>Staphylococcus capitis</i> isolados de fômites	65
Quadro 10 –	Avaliação quantitativa da aderência e produção de biofilme em superfície de aço cirúrgico na ausência e presença de oxacilina de amostras de <i>Staphylococcus capitis</i> e <i>Staphylococcus hominis</i>	67
Quadro 11 –	Análise de produção de <i>slime</i> /biofilme e auto-agregação em superfície de metal (aço-cirúrgico) por ensaios de Microscopia eletrônica de varredura (MEV) na ausência e presença de oxacilina e vancomicina de amostras de <i>Staphylococcus capitis</i> e <i>Staphylococcus hominis</i>	69

Quadro 12 – .Detecção de genes relacionados a produção de biofilme, <i>icaA</i> , <i>aap</i> , <i>fbp</i> e <i>atl</i> em amostras de <i>Staphylococcus hominis</i> e <i>Staphylococcus capitis</i> isoladas de fômites	73
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AISI	Aços inoxidáveis austeníticos
ATCC	American type culture collection
atIE	Autolisina de parede celular E
CC	Centro cirúrgico
CCIH	Comissão de controle de infecção hospitalar
CDC	Disease Control and Prevention
CFO	Cefoxitina
CHL	Clorafenicol
CIM	Concentração inibitória mínima
CIP	Ciprofloxacina
CLSI	National Commite for Clinical Laboratory Standards
CME	Central de material e esterilização
CRA	Ágar vermelho do Congo
CVE	Centro de vigilância epidemiológica
DA	Clindamicina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNAse	Desoxirribonuclease
E	Eritromicina
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
EUA	Estados Unidos da América
FOX	Cefoxitina
GEN	Gentamicina
HEPA	High efficiency particulate arrestance
HCCA	Ácido α -ciano 4hidroxicianico
HCFMUSP	Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Hz	Hertz
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
ISC	Infecções de sítio cirúrgico

LNZ	Linezolida
LPSN	List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature
MALDI-TOF MS	Matrix assisted laser desorption ionization – time of flight – mass spectrometry
MDR	Perfil de multirresistência
MDS	Perfil de não-multirresistência
MRS	<i>Staphylococcus</i> resistente a meticilina
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
MRSCN	<i>Staphylococcus</i> Coagulase Negativo resistente à meticilina
MXF	Moxifloxacina
NNIS	Vigilância Nacional das Infecções Nosocomiais
OXA	Oxacilina
PBP	Proteína ligadora de penicilina
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PSA	Adesina polissacarídica capsular
PEN	Penicilina
PIA	Adesina intercelular polissacarídica
PBSS	Phosphate buffered System Saline
PRA	Perfil de resistência
R	Resistente
RIF	Rifampicina
RNA	Ácido ribonucleico
RPA	Recuperação pós-anestésica
S	Sensível
SC	<i>Staphylococcus capitis</i>
SCC _{mec}	Staphylococcal Cassette Chromosome <i>mec</i>
SCN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo
SHo	<i>Staphylococcus hominis</i>
SOBECC	Associação Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização
SXT	Sulfazotrim
TEC	Teicoplanina
TSA	Tryptone soy ágar

TSB	Trypic soy broth
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFC	Unidades formadoras de colônias
UK	United Kingdom
UTI	Unidade de terapia intensiva
UTIN	Unidade terapia intensive neonatal
VAN	Vancomicina
VISA	Vancomycin intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à vancomicina
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
1	O GÊNERO <i>STAPHYLOCOCCUS</i>	19
1.1	<i>Staphylococcus coagulase-negativa</i> (SCN)	20
1.2	<i>Staphylococcus capitis</i>	22
1.3	<i>Staphylococcus hominis</i>	24
1.4	Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)	25
1.5	Disseminação de infecções nosocomiais por fômites	28
1.6	Resistência aos antimicrobianos	30
1.7	Biofilme	32
1.8	O centro cirúrgico como ambiente propício à contaminação	36
1.9	Cirurgias ortopédicas e a inserção de implantes de biomateriais	37
1.10	Biomateriais de pericárdio bovino	39
1.11	<i>Caenorhabditis elegans</i>	40
1.12	Justificativa	41
2	OBJETIVOS	42
3	MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1	Origem e identificação das amostras bacterianas	44
3.2	Identificação bacteriana por MALDI-TOF-MS (Ionização e dessorção a laser assistida por matriz - Tempo de Vôo - Espectrometria de massa, do inglês <i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time Of Flight – Mass Spectrometry</i>)	44
3.3	Determinação do perfil de resistência aos antimicrobianos	45
3.4	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para oxacilina e vancomicina	46
3.5	Avaliação da produção de biofilme na ausência e na presença de antimicrobianos	46
3.5.1	<u>Método de crescimento em Ágar Vermelho do Congo (CRA)</u>	47
3.5.2	<u>Determinação do padrão de aderência ao vidro</u>	47
3.5.3	<u>Avaliação da formação de biofilme em superfície de poliestireno</u>	48
3.5.4	<u>Avaliações quantitativas da aderência em superfície de aço</u>	49
3.5.5	<u>Avaliações quantitativas da aderência em superfície de pericárdio bovino</u>	49

3.6	Detecção dos genes <i>mecA</i> (resistência), <i>icaA</i>, <i>fbp</i>, <i>atl</i> e <i>app</i> (biofilme)	49
3.7	Análise estrutural dos biofilmes pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV)	51
3.8	Ensaio de letalidade (“slow killing assay”) em superfície biótica de nematódeos	52
3.9	Análise estatística	52
4	RESULTADOS	53
4.1	Micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos isolados de fômites diversos de centro cirúrgico	53
4.2	Isolamento e identificação de amostras de <i>S. hominis</i> e <i>S. capitis</i>	55
4.3	Perfis de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos e detecção do gene <i>mecA</i> que codifica resistência a oxacilina	56
4.4	Expressão da produção de <i>slime</i> na ausência e presença de oxacilina e/ou vancomicina	60
4.5	Aderência e produção de biofilme no vidro na ausência e presença de oxacilina e/ou vancomicina	61
4.6	Aderência e produção de biofilme no poliestireno na ausência e presença de oxacilina e/ou vancomicina	63
4.7	Avaliação quantitativa de aderência e produção de biofilme em superfície de metal de implante ortopédico (aço-cirúrgico)	65
4.8	Análise de produção de biofilme em superfície de metal de implante ortopédico (aço-cirúrgico) por ensaios de Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	67
4.9	Análise de produção de biofilme em superfície de bioimplantes de pericárdio bovino	70
4.10	Presença de genes relacionados com a produção de biofilme	72
4.11	Potencial de virulência de <i>S. capitis</i> e <i>S. hominis</i> empregando <i>Caenorhabditis elegans</i> como modelo de infecção	74
5	DISCUSSÃO	75
	CONCLUSÕES	88
	REFERÊNCIAS	91
	ANEXO - Produção Científica	109

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas algumas espécies pertencentes ao grupo de *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCN), estão sendo mundialmente reconhecidas como agentes etiológicos de doenças infecciosas adquiridas na comunidade ou no ambiente hospitalar, inúmeras vezes, fatais. Estudos demonstraram que os patógenos SCN têm sido relacionados com quadros infecciosos principalmente em pacientes submetidos ao uso de dispositivos hospitalares invasivos e instrumentos médicos cirúrgicos (BANASZKIEWICZ *et al.*, 2019; FERNANDES, 2004; SCHOENFELDER *et al.*, 2010; SUED-KARAM, 2018). Algumas espécies de SCN fazem parte da composição da microbiota normal dos seres humanos. *Staphylococcus hominis* é a segunda espécie mais prevalente e persistente da pele e mucosa nasal e *Staphylococcus capitis* é uma espécie que coloniza nichos específicos, como cabeça e canal auditivo. Salienta-se que *Staphylococcus hominis* (SHo) e *Staphylococcus capitis* (SC) são reservatórios para elementos genéticos móveis (KLOOS; SCHLEIFER, 1975; O'SULLIVAN *et al.*, 2019).

Tem sido crescente o número reportado de casos de infecções relacionadas a assistência à saúde (IRAS), incluindo quadros de infecções hematogênicas em pacientes fazendo uso de cateteres intravenosos. Diversos estudos têm sido realizados com diferentes patógenos humanos, Gram-positivos e Gram-negativos, investigando a habilidade de formação de biofilme e dos mecanismos de interação de amostras clínicas com diferentes superfícies abióticas (NOVOSAD *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2015).

O uso indiscriminado de agentes antimicrobianos na terapia de paciente com doenças infecciosas, vem sendo crescentemente considerado um problema de saúde pública mundial, visto, que tem favorecido o aumento e disseminação da resistência antimicrobiana de diversos patógenos. Pesquisas realizadas, têm evidenciado que bactérias multirresistentes estão adquirindo um caráter de endemicidade nos ambientes hospitalares, sendo frequentemente associadas a elevada taxa de morbimortalidade em decorrência de falta de êxito da terapia antimicrobiana. A principal preocupação dos profissionais da saúde - especialistas e pesquisadores - com patógenos nosocomiais, sobretudo os classificados como multirresistentes (MDR) a diversos grupos de agentes antimicrobianos, é a possibilidade de servirem como reservatórios de genes de resistência e virulência (SILVA; AQUINO, 2018; SUED-KARAM, 2018).

A vigilância e medidas de controle da contaminação ambiental no Centro Cirúrgico (CC) têm sido consideradas como medidas coerentes pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC/USA) para a prevenção das IRAS. Contudo, medidas de controle possuem uma conotação ampla, o qual não se limita apenas à higienização das superfícies e dos fômites, mas também o controle do acesso e do trânsito de pessoas no interior das salas de cirurgia durante o período transoperatório, bem como, a movimentação das portas, incluindo o sistema de ventilação e paramentação adequada da equipe cirúrgica, de acordo com a Associação Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização (SOBECC, 2009).

Nos casos de IRAS, o processo infeccioso pode ser tanto de origem endógena, por micro-organismos encontrados na microbiota do indivíduo, quanto de origem exógena, através de mãos, secreção salivar, fluidos corpóreos, ar e materiais contaminados (exemplo: equipamentos e instrumentos utilizados em procedimentos médicos). O risco de infecção torna-se ainda mais elevado nos casos de pacientes submetidos a procedimentos invasivos, uma vez que rompem as barreiras naturais de proteção do corpo humano, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004).

Apesar do elevado número de casos de pacientes submetidos a bioimplantes, escassos são os estudos realizados sobre a capacidade de formação de biofilme em biomateriais, incluindo SCN. As infecções correlacionadas aos dispositivos invasivos, implantes ortopédicos e inserção de enxertos de retalhos de pericárdio bovino em diversos procedimentos cirúrgicos, estão também associadas com a formação de biofilme bacteriano BERNARDI; PIZZOLITTO, E. L.; PIZZOLITTO, A. C., 2005; COSTA *et al.*, 2016; POMERANTZEFF *et al.*, 1997).

1 GÊNERO *STAPHYLOCOCCUS*

A nomenclatura *Staphylococcus* tem origem grega que significa: “staphyle”, cacho de uva, e “coccus”, grão ou semente. São um grupo de bactérias cocóides importantes e foi nomeado por Alexander Ogston, um cirurgião escocês que em 1880, isolou o micro-organismo de um abscesso de ferida cirúrgica, referindo-se à morfologia e ao arranjo de tais bactérias quando observadas ao microscópio óptico (CUNHA, 2012; MENDOZA-OLAZARÁN *et al.*, 2015). Contudo, somente em 1884, o pesquisador Anton Julius F. Rosenbach, ao estudar os micro-organismos isolados de colônias puras a partir de secreção purulenta, propôs a criação do gênero *Staphylococcus*, sendo assim, fez a primeira descrição taxonômica, dividindo o gênero em duas espécies com base na presença de pigmento na colônia – *Staphylococcus pyogenes aureus* e *Staphylococcus pyogenes albus* (FELIX JUNIOR, 2007).

Staphylococcus pertence à família *Staphylococcaceae*, são caracterizados como cocos Gram-positivos, imóveis, com diâmetro variando entre 0,5 a 1,5 µm, anaeróbios facultativos, mesófilos e crescem em temperaturas entre 7°C a 48,5 °C. São capazes de se desenvolver em pH entre 4,2 a 9,3 com crescimento ótimo entre 7,0 a 7,5. Apresentam metabolismo fermentativo com produção de ácido, não formadores de esporos, catalase positivos e capazes de se multiplicarem em meio contendo 10% de cloreto de sódio (CASTELANI, 2016). O gênero é composto de 80 espécies, sendo 30 subespécies. Os representantes desse gênero podem ser encontrados, geralmente, na pele e em mucosas de humanos e de outros animais, segundo a “List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature” (LPSN) (LIST, 2021).

Nesse contexto, alguns *Staphylococcus* sp. podem produzir uma enzima denominada coagulase (confere aos *Staphylococcus* a habilidade de coagular o plasma de coelho) o qual permite classificá-los em coagulase-positivos e coagulase-negativos. O *Staphylococcus aureus* é o principal representante dos *Staphylococcus* coagulase-positivos. Dentre as espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativos, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* e *Staphylococcus saprophyticus* são isolados com maior frequência de infecções humanas (LOONEN, *et al.*, 2011; PODKOWIK *et al.*, 2013).

Acredita-se que a função da coagulase na patogênese das doenças estafilocócicas leva à formação de uma camada de fibrina formando um abscesso, localizando assim a infecção, além de proteger o micro-organismo da fagocitose e da ação de drogas antimicrobianas (JIMÉNEZ *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2009; SANTIAGO, 2019).

A patogenicidade dos *Staphylococcus* está relacionada com a capacidade destes micro-organismos em produzir uma gama de fatores de virulência associados à parede bacteriana ou que são secretados. Estas proteínas auxiliam a bactéria evadir-se do sistema imune do hospedeiro, assim como aderir, invadir ou destruir as células e se propagar dentro dos tecidos. Dentre esses fatores, incluem-se a produção de enterotoxinas, superantígenos, enzimas, citotoxinas e toxinas esfoliativas, assim como, a produção de biofilmes (TRABULSI; TEIXEIRA; BUERIS, 2005).

1.1 *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCN)

O grupo dos SCN corresponde ao maior constituinte da pele e membranas da mucosa humana e por viverem em equilíbrio com esse ecossistema, foram descritos como protótipo de micro-organismos avirulentos. Já há alguns anos, emergiram como micro-organismos capazes de causar várias infecções humanas, que frequentemente conduzem a uma infecção persistente, principalmente após cirurgia de implantes, e também, são responsáveis por doenças em pacientes imunocomprometidos, além de que podem ser detectados em hemoculturas de pacientes hospitalizados (BANASZKIEWICZ *et al.*, 2019; BERNARDI; PIZZOLITTO, E. L.; PIZZOLITTO, A. C., 2007).

Por volta da década de 70, poucos foram os relatos de infecção por esses micro-organismos, sendo reconhecidos por clínicos e microbiologistas como contaminantes em amostras clínicas e *S. aureus* como a única espécie patogênica dentro do gênero *Staphylococcus* (KLOOS; BANNERMAN, 1994).

Na literatura, os primeiros relatos associando SCN a processos patogênicos ocorreu em 1945, mediante a um caso de sepse correlacionado a *Staphylococcus albus* em paciente submetido à cirurgia percutânea para remoção de cálculo renal (HERBST; MERRICKS, 1945). Contudo, na década de 80, radicalmente esse contexto mudou quando o National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS) do CDC demonstrou um aumento significativo de infecções hospitalares causadas por diferentes espécies de SCN (EMORI, 1991).

A pele pode constituir um reservatório para estas bactérias, inclusive àquelas resistentes aos agentes antimicrobianos (ARCHER; CLIMO, 1994). Desse modo, normalmente os micro-organismos são introduzidos na corrente sanguínea durante uma cirurgia ou durante a inserção de cateteres, causando infecções de início precoce como a sepse (CUNHA *et al.*, 2002;

SALZMAN *et al.*, 1993). Geralmente, é necessária a remoção dos dispositivos hospitalares, eliminando assim o foco da infecção e elevando a probabilidade de cura e sobrevivência do paciente, à medida que a resposta imune e os antimicrobianos se tornam capazes de atingir os patógenos (CUNHA *et al.*, 2002; MCGEE; GOULD, 2003).

Algumas das espécies de SCN que geralmente estão envolvidas em infecções em humanos são: *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus cohnii*. Entre elas, *S. epidermidis* é o agente mais associado com as infecções, especialmente com as bacteremias, inclusive no Brasil (MAYHALL, 2004; TEIXEIRA, 2009).

Ocasionalmente, os SCN causam doenças em hospedeiros hígidos, contudo são considerados micro-organismos oportunistas, pois tiram vantagem de certas situações para produzir infecções graves. As condições de risco associadas à aquisição de infecções hospitalares estão relacionadas à longa permanência de internação no hospital, prematuridade de nascimento e exposição a procedimentos de alto risco, além do uso de dispositivos hospitalares como cateteres e próteses artificiais. Os SCN agora são reconhecidos como uma das principais causas de infecções nosocomiais em unidades de terapia intensiva neonatal e são responsáveis por 48% da sepse de início tardio entre recém-nascidos de muito baixo peso (CHANG *et al.*, 2003; CHAVES *et al.*, 2005; KLOOS; BANNERMAN, 1995; PEREIRA *et al.*, 2014; RUPP *et al.*, 2005).

Entre as espécies de SCN encontradas no ser humano, *S. epidermidis* é clinicamente o mais importante nos casos de sepse com destaque para recém-nascidos de baixo peso, os quais são imunologicamente imaturos e frequentemente requerem procedimentos invasivos para administração de substâncias medicamentosas (FREEMAN *et al.*, 1990). *S. haemolyticus* faz parte da microbiota da pele e mucosa de humanos, sendo a segunda espécie mais isolada de hemoculturas humanas (constituem 6% de todos os isolados), sendo uma das espécies que apresentam uma múltipla resistência aos agentes antimicrobianos, limitando assim as opções de terapêutica disponíveis (FREDHEIM *et al.*, 2009; PEREIRA-RIBEIRO *et al.*, 2019; SUED *et al.*, 2017). Outra espécie de SCN de importância clínica é o *S. lugdunensis*, que foi associado à endocardite de válvulas naturais e protéticas, celulite, peritonite, osteomielite, infecções do trato urinário, dentre outras infecções. *S. lugdunensis* possui vários fatores de virulência, como por exemplo: adesinas, lipases, DNase e hemolisinas (PEREIRA *et al.*, 2014; SUED-KARAM, 2018).

No Brasil, dados do Sistema de Vigilância de Infecção Hospitalar do Estado de São Paulo, Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) também relataram os SCN como os agentes mais associados com infecção da corrente sanguínea em 2010, mantendo a predominância de *S. epidermidis* e outros SCN (30,1%), seguido por *S. aureus* (16,6%) (ASSIS *et al.*, 2010; HIDRON *et al.*, 2008).

Até recentemente, a identificação bacteriana dependia dos métodos fenotípicos convencionais, sistemas comerciais ou automatizados que não distinguiam a expressão variável de algumas espécies de *Staphylococcus*. A técnica de Ionização e dessorção a laser assistida por matriz - Tempo de Vôo - Espectrometria de massa (MALDI-TOF MS) emergiu como uma rápida alternativa para identificação bacteriana, baseada na ionização de material de amostra co-cristalizado (proteínas de células microbianas) por pulsos curtos de laser. Os íons são acelerados e seu tempo de vôo é medido em um tubo de vácuo, produzindo um espectro de massa bacteriana. Acontece então a comparação de espectros de massa de um micro-organismo desconhecido para os espectros conhecidos, armazenados em um banco de dados. Hoje, MALDI-TOF é considerado um método confiável para identificação de espécies para uma extensa gama de micro-organismos, incluindo SCN e quando implementada em laboratórios clínicos, tem sido relatada como eficiente, economicamente eficaz e rápida na identificação de micro-organismos. Possibilitando a identificação de várias espécies bacterianas e, sob condições laboratoriais de rotina, apresenta alta taxa de identificação precisa em nível de espécie (KORNIENKO *et al.*, 2016; PAIM *et al.*, 2013).

1.2 *Staphylococcus capitis*

Staphylococcus capitis faz parte da microbiota normal da pele foi isolado pela primeira vez em 1975 e são encontrados em grandes concentrações por favoritismo em algumas regiões: couro cabeludo, rosto, orelha, sobrancelha, canal auditivo externo, em pescoço, braços e ocasionalmente pernas (KLOOS; SCHLEIFER, 1975; O'SULLIVAN *et al.*, 2019). Essa espécie é dividida em duas subespécies: subespécie *capitis* e subespécie *urealyticus*, sendo esta, encontrada em menor número nos mesmos sítios, porém mais amplamente distribuído em outras regiões corpóreas (BANNERMAN, 2003; CUNHA, 2012).

Com o advento e aumento da implantação de cateteres intravenosos, próteses valvulares e ortopédicas, os micro-organismos encontrados, até então, como habitantes normais da pele

humana, começaram a ganhar acesso à corrente sanguínea. Desse modo, *S. capitis* é um SCN com potencial causador de doenças em humanos e disseminação nosocomial e associados aos quadros de IRAS. Sendo que, traumas na barreira cutânea, implantes médicos e inoculações de agulhas estão entre as condições que tornam os pacientes vulneráveis (BERNARDI; PIZZOLITTO, E. L.; PIZZOLITTO, A. C., 2007; CAMERON *et al.*, 2015). A espécie corresponde à 5% dos isolados patogênicos dos SCN e têm ocasionado pneumonia, infecção do trato urinário, bacteremia relacionada ao uso de cateter e celulite (PAL; AYYAGARI, 1989). Mesmo *S. capitis* sendo uma bactéria comensal e raramente patogênica em adultos, podem estar envolvidas em infecções neonatais. Um estudo realizado em 47 unidades de ressuscitação neonatal na França mostrou que *S. capitis* estava presente em todo o território (BERTHOLOM, 2016).

O avanço das tecnologias microbiológicas para a identificação bacteriana permitiu o diagnóstico de causas de peritonite aguda previamente desconhecidas. Neste sentido, foi relatado o primeiro caso de peritonite aguda, ocasionada por *S. capitis*, em um paciente com diálise peritoneal (JUKIC, 2017). Estudos recentes indicam que *S. capitis* resistente à meticilina e vancomicina pode emergir como um agente patogênico significativo na unidade de terapia intensiva neonatal (TEVELL *et al.*, 2017). Casos clínicos de infecções por *S. capitis* resistentes a linezolida surgiram na província de Zhejiang e na cidade de Pequim, a principal explicação são as mutações na região V do domínio do gene 23R rRNA (CAI *et al.*, 2012). *S. capitis* possui vínculos evolutivos mais próximos a *S. epidermidis* do que outros SCN clinicamente relevantes (CAMERON *et al.*, 2015).

S. capitis também demonstrou ser o SCN predominante no fluxo de ar laminar durante cirurgias de implantação de próteses articulares (MÅNSSON *et al.*, 2015). No entanto, também é um agente ocasionalmente associado à endocardite valvar nativa e prótese, bem como a meningite adquirida no hospital. Apesar do papel da espécie nestas infecções, pouco se sabe sobre sua patogenicidade (CONE *et al.*, 2005). Na literatura foram relatados seis casos de endocardite infecciosa causadas por *S. capitis*; destas, cinco em valvas cardíacas nativas e um em valva cardíaca protética. Em outro estudo, um paciente com lesão no couro cabeludo, que foi a porta de entrada, desenvolveu endocardite infecciosa, apesar de não ser portador de lesão valvar (BANDRES; DAROUICHE, 1992; PAULA *et al.*, 2009). Os seres humanos são as principais fontes de transmissão de *S. capitis* (CUI, 2013).

1.3 *Staphylococcus hominis*

Staphylococcus hominis são retratados como residentes comensais da pele humana, encontrados nos braços, pernas e superfícies das axilas e na virilha. As colônias de *S. hominis* são pequenas, geralmente com 1-2 mm de diâmetro de coloração branca. *S. hominis* é a terceira espécie de SCN mais frequentemente isolada de espécimes de pacientes com infecção nosocomial, sendo um agente causador de sepse. Contudo, existem poucas informações disponíveis a respeito da epidemiologia, e também, há uma falta de métodos fáceis e rápidos para tipagem molecular de *S. hominis* (MIRAGAIA *et al.*, 2008; PEREIRA-RIBEIRO *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2003).

A despeito do estado comensal, *S. hominis* é um patógeno clínico emergente capaz de causar infecção em uma diversidade de nichos, como o sangue, e particularmente na presença de dispositivos hospitalares de longa permanência e no trato urogenital. São capazes de causar uma grande variedade de doenças incluindo endocardite especialmente em pacientes imunocomprometidos, peritonite, infecções ósseas e articulares e infecções oculares (BOUCHAMI *et al.*, 2011; KLOOS; SCHLEIFER, 1975; ZHANG *et al.*, 2013). Este patógeno foi também encontrado em casos de sepse nosocomial em recém-nascidos (CHAVES *et al.*, 2005; KAUFMAN; FAIRCHILD, 2004).

Muitas infecções causadas por SCN parecem ser associadas à formação de biofilmes. Semelhante a outras espécies, *S. hominis* foi capaz de formar um biofilme estável em dispositivos hospitalares (RODHE *et al.*, 2006). O surgimento de cepas resistentes aos agentes antimicrobianos é um grave problema no tratamento das infecções causadas por *S. hominis* (RUIZ DE GOPEGUI *et al.*, 2011; SORLOZANO *et al.*, 2010).

Muitas cepas são suscetíveis à penicilina e eritromicina, entretanto, a cepa *S. hominis* subespécie *novobiosepticus* parece ter paredes celulares engrossadas e essa tendência pode ser o resultado de um fundo genético que permite a resistência à vancomicina. *S. hominis* subespécie *novobiosepticus*, foi encontrado em um hospital em Nova Jersey, sendo a causa de várias infecções invasivas. Esta subespécie difere do clássico *S. hominis*, agora *S. hominis* subespécie *hominis*, pelas características fenotípicas da resistência à novobiocina e na incapacidade de fermentar a trealose (FITZGIBBON *et al.*, 2001).

A principal preocupação com esses micro-organismos é a possibilidade de servir como reservatório dos genes de resistência e virulência. Salienta-se que *S. hominis* é um reservatório para elementos genéticos móveis, como SCC*mec*, que abriga o gene *mecA* (BECKER;

HEILMANN; PETERS, 2014). *S. hominis*, assim como *S. haemolyticus*, são capazes de causar infecções e geralmente são mais propensos a ser resistentes a múltiplos antimicrobianos do que outros SCN (BOUCHAMI *et al.*, 2011).

1.4 Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)

O termo “infecções hospitalares” foi substituído pelo termo “infecções relacionadas à assistência à saúde” (IRAS) em meados da década de 1990, sendo essa denominação uma ampliação conceitual que incorpora a prevenção e o controle das infecções, passando a ser considerados para todos os locais onde se presta o cuidado e a assistência à saúde em qualquer ambiente (PADOVEZE; FORTALEZA, 2014). As IRAS são definidas pelo CDC como uma condição localizada ou sistêmica, resultante de uma reação adversa à presença de um agente infeccioso adquirido após admissão do paciente nos serviços de saúde. Mediante à gravidade das infecções, à repercussão nos custos, à morbidade e à mortalidade dos pacientes, as IRAS são uma preocupação mundial (CDC, 2014; FERREIRA *et al.*, 2019).

O ambiente hospitalar pode ser caracterizado, como um ambiente propício à propagação das IRAS, visto que pode ocorrer à seleção dos micro-organismos infecciosos resistentes, em decorrência do uso indiscriminado de agentes antimicrobianos e por comportar pacientes com diferentes vulnerabilidades à infecção e realizações de procedimentos invasivos tais como: instalação de drenos, catéteres venoso central, catéteres vesical e uso do ventilador mecânico (NOGUEIRA, 2009).

Acredita-se que nos EUA, pelo menos um milhão de casos de IRAS por ano estão associadas aos implantes médicos, onerando custos adicionais ao sistema de saúde. Contudo, no Brasil, as cirurgias com colocação de implantes médicos tendem a elevar com o tempo, devido à melhoria na qualidade de vida de muitos brasileiros que se submetem ao procedimento, bem como, em virtude do envelhecimento da população e conseqüente aumento na indicação para colocação de próteses cardíacas, ortopédicas, vasculares, mamárias, neurológicas, dentre outras (ANVISA, 2017). Nesse contexto, as infecções relacionadas aos procedimentos cirúrgicos, relacionam-se às condições clínicas do paciente, o tempo prolongado de internação pré-operatória, mas também a duração dos tempos cirúrgicos, a antisepsia da pele, as condições de higienização das superfícies e o ambiente como um todo (SOBECC, 2013).

A Portaria de nº 2.616, de 12 de maio de 1998, do Ministério da Saúde, expõe os critérios gerais que contribuem na definição das infecções hospitalares. Os critérios relacionados pelo Ministério da Saúde são: quando, na mesma topografia em que foi diagnosticada a infecção comunitária (aquela constatada ou em incubação no ato de admissão do paciente, desde que não relacionada com internação anterior no mesmo hospital), então, foi isolado um micro-organismo diferente, seguido do agravamento das condições clínicas do paciente; e também quando se desconhecer o período de incubação do micro-organismo e não houver evidência clínica e/ou dado laboratorial de infecção no momento da internação, contudo, convencionam-se infecção hospitalar toda manifestação clínica de infecção que se apresentar a partir de 72 (setenta e duas) horas após a admissão; são também convencionadas infecções hospitalares aquelas apresentadas antes de 72 (setenta e duas) horas da internação, quando associadas a procedimentos diagnósticos e/ou terapêuticos, realizados durante este período; as infecções nos recém-nascidos são hospitalares, com exceção das transmitidas de forma transplacentária e aquelas associadas à rotura de membranas ovulares, superior a 24 (vinte e quatro) horas; e pacientes procedentes de outra unidade hospitalar que internam com infecção, estes são considerados portadores de infecção hospitalar do hospital de origem. Para o hospital onde interna, é considerada como infecção comunitária.

Nesse contexto, a mesma Portaria nº 2.616, de 12 de maio de 1998, do Ministério da Saúde, da mesma forma estabelece diretrizes e normas para prevenção e controle de infecções hospitalares, sendo assim classifica as cirurgias, segundo seu potencial de contaminação, em limpas, potencialmente contaminadas, contaminadas e infectadas, conforme o Quadro 1.

Aproximadamente dois terços das IRAS são de origem autógena, ou seja, o desenvolvimento da infecção a partir da microbiota do paciente, o qual pode ser de origem comunitária ou intra-hospitalar. Em ambas as situações, a colonização precede a infecção, sendo difícil determinar se o paciente trouxe o micro-organismo da comunidade ou adquiriu de fonte exógena durante a internação (PEREIRA, 2005).

Quadro 1 - Classificação das cirurgias quanto ao seu potencial de contaminação e suas especificidades

Classificação	Especificidades
Cirurgias limpas	Realizadas em tecidos estéreis ou passíveis de descontaminação, na ausência de processo infeccioso e inflamatório local; cirurgias eletivas não traumáticas; fechamento por primeira intenção; sem penetração nos tratos respiratório, digestório e geniturinário; sem qualquer falha na técnica asséptica e sem drenos.
Cirurgias potencialmente contaminadas	Realizadas em tecidos colonizados por microbiota residente pouco numerosa ou em tecidos de difícil descontaminação; cirurgias com drenagem aberta; cirurgias com discretas falhas técnicas no transoperatório; procedimentos em que ocorre penetração nos tratos respiratório, digestório ou geniturinário sob condições controladas, sem contaminação significativa.
Cirurgias contaminadas	Realizadas em tecidos colonizados por abundante microbiota, cuja descontaminação seja difícil; incisão na presença de inflamação aguda sem supuração local; quebra grosseira da técnica asséptica; tecidos traumatizados e abertos recentemente; cicatrização por sua segunda intenção.
Cirurgias infectadas	Realizadas em tecidos ou órgãos com presença de supuração local (pus), feridas traumáticas com mais de seis horas de exposição, tecidos desvitalizados ou necróticos.

Fonte: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENFERMEIROS DE CENTRO CIRÚRGICO, RECUPERAÇÃO ANESTÉSICA E CENTRO DE MATERIAL E ESTERILIZAÇÃO, 2013.

Os fatores de risco relacionados à infecção podem ser inerentes ao paciente, tais como: tabagismo, diabetes, desnutrição, obesidade, artrite reumatóide, uso crônico de corticosteroides e neoplasias, dentre fatores extrínsecos, como maior tempo cirúrgico e maior número de profissionais no campo cirúrgico (MEYER, 2011).

O procedimento cirúrgico rompe a barreira epitelial, além de desencadear uma sequência de reações sistêmicas que facilitam a ocorrência de um processo infeccioso, seja originado do campo operatório, ou de outro procedimento invasivo ou de um foco à distância. No campo operatório, ocorre hipóxia, alteração do pH e depósito de fibrina. A hipóxia e a acidose dificultam a migração dos neutrófilos e sua atividade microbicida. Por conseguinte, a

deposição de fibrina contribui com a patogênese da infecção, devido à sua habilidade em sequestrar bactérias e afetar os mecanismos locais de defesa. Evidentemente, se durante o ato cirúrgico a ventilação do paciente for prejudicada ou ocorrer um sangramento excessivo que acentue a deposição de fibrina, aumenta significativamente o risco de um processo infeccioso (ANVISA, 2000).

A infecção que ocorre no local da operação é denominada como infecção do sítio cirúrgico (ISC). No Brasil a ISC é a terceira causa de infecção, ocorrendo entre 14 e 16% dos pacientes hospitalizados. Estas infecções ocorrem após procedimentos invasivos nas camadas superficiais ou profundas da incisão ou no órgão ou espaço que foi manipulado ou traumatizado (ANVISA, 2009).

1.5 Disseminação de infecções nosocomiais por fômites

Ao longo de muitos anos, considerou-se que o ambiente hospitalar circundante tinha pouco ou nenhum papel na transmissão de doenças infecciosas, mas ao decorrer do tempo vários estudos alteraram esta perspectiva ao demonstrarem o papel fundamental exercido por superfícies e objetos inanimados contaminados na transmissão de infecções (MESQUITA *et al.*, 2018).

Fômites são objetos inanimados, que podem servir como possível via de transmissão para diversos patógenos, além de absorvê-los e abrigá-los (AL GHAMDI *et al.*, 2011; NWANKWO, 2012). Equipamentos e dispositivos hospitalares utilizados com vários pacientes, são reconhecidos como importante fonte de transmissão de agentes potenciais de infecção, porém, pouca atenção tem sido dada aos fômites, mesmo sabendo que eles são uma fonte importante de infecção nosocomial (BRENNAN *et al.*, 2009; SUED *et al.*, 2017).

A ocorrência da transmissão de micro-organismos pode ser diferenciada em três modos: contato direto, por intermédio de fômites ou a distância. A transmissão por dispositivos hospitalares contaminados já foi demonstrada em termômetros, esfigmomanômetros, estetoscópios, luvas descartáveis, máscaras, canetas, crachás e jalecos. Incluindo também os telefones celulares, estes apesar de serem armazenados em bolsas ou bolsos, são frequentemente mantidos perto do rosto, o que aumenta o risco de transmissão de patógenos. E a contaminação das mãos ainda é o principal fator envolvido na transmissão de infecções nosocomiais (ANJOS *et al.*, 2018; MESQUITA *et al.*, 2016; SUED *et al.*, 2017).

O primeiro estudo relacionado diretamente com fômites foi o estudo de Andrew *et al.*, (1975), onde *Staphylococcus* estava presente. Para que ocorra a disseminação de uma doença, deve haver fontes contínuas de micro-organismos, que podem ser um organismo vivo ou um objeto inanimado (fômite) que forneça ao patógeno, condições adequadas para sobreviver e se multiplicar, como também, oportunidade de transmissão (reservatório de infecção). Esses reservatórios podem ser humanos, animais e fômites (FREITAS *et al.*, 2007; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

As superfícies podem ser contaminadas diretamente pelo contato com secreções e fluidos corporais ou por outros veículos. As mãos dos profissionais de saúde são importantes fontes de contaminação das superfícies e dos fômites. Partículas virais infecciosas têm sido detectadas em amostras coletadas das mãos naturalmente contaminadas pelos respectivos profissionais (CARDUCCI *et al.*, 2002; GALLIMORE *et al.*, 2004; RAMANI *et al.*, 2008).

As infecções envolvendo as superfícies hospitalares demonstram um risco iminente à segurança do paciente no ambiente hospitalar. Falhas nos processos de limpeza e desinfecção de superfícies podem ter como consequência a disseminação e transferência de micro-organismos nos ambientes dos serviços de saúde (ANVISA, 1998). Nas unidades de saúde, a qualidade do ar ambiental pode exercer uma influência direta e com alta significância na velocidade de recuperação dos pacientes e na ocorrência de infecções hospitalares (QUADROS *et al.*, 2009). A contaminação bacteriana do ar do bloco operatório é considerada um dos maiores fatores de risco para infecção de sítio cirúrgico. Nos Centros Cirúrgicos as salas destinadas às cirurgias de próteses ortopédicas possuem filtros microbiológicos, e utilizam o sistema de fluxo laminar, as contagens bacterianas no ar devem ser menores que 10 unidades formadoras de colônias (UFCs) / m³ durante a cirurgia (FRIBERG, B.; FRIBERG, S.; BURMAN, 1999).

O processo de manutenção da qualidade do ar em ambientes hospitalares demanda cuidados específicos, considerando as salas do CC com isolamento protetor e pressão positiva (2,5 atm); a renovação de ar com mais que 12 trocas de ar externo/hora com uso de filtros HEPA; a captação do ar longe de fontes poluentes, fezes de pombos, vegetação abundante e construções. Os principais micro-organismos já identificados em ambientes climatizados foram: *Legionella pneumophila*, *Bacillus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Actinomyces sp.*, *Paracoccidioides sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.* e vírus da influenza (ETCHEBEHERE *et al.*, 2005).

Da década de 70 para cá, poucos estudos foram realizados a respeito da contaminação de fômites e a maioria desses estudos, está relacionado com contaminação por *S. aureus*. Existem poucos estudos sobre a contaminação de fômites por SCN (SUED *et al.*, 2017).

1.6 Resistência aos antimicrobianos

Ao longo das décadas, observou-se um aumento da resistência bacteriana conforme a introdução e uso clínico dos novos agentes antimicrobianos, até ser atualmente considerada como um dos problemas e obstáculos de saúde pública mais relevantes de todo o mundo. Em razão de apresentar consequências clínicas drásticas e preocupantes tanto para hospitais quanto para a sociedade (LOUREIRO *et al.*, 2016; SILVA; AQUINO, 2018).

Os antimicrobianos correspondem a uma classe de fármacos mundialmente empregados no tratamento de inúmeras patologias desencadeadas por micro-organismos, o desenvolvimento da resistência emergiu depois da introdução dos antimicrobianos na medicina veterinária e na humana em meados de 1940. Logo após o início dessa prática, cientistas da época questionaram o uso de antimicrobianos em ração, como promotores de crescimento, e o seu efeito para a saúde humana (SILVA; AQUINO, 2018; TOLLEFSON, 2004).

A resistência intrínseca ou natural é uma característica própria dos micro-organismos, pertencendo naturalmente ao seu material genético (KOHL; PONTAROLO; PEDRASSANI, 2016). Por outro lado, a resistência adquirida se dá através de mutações ou da aquisição de material genético extracromossômico procedente de outra bactéria. Os mecanismos da resistência bacteriana adquirida se dão de quatro maneiras: alteração da permeabilidade, bombas de efluxo, alteração no sítio de ação e mecanismo enzimático (BAPTISTA, 2013).

Os fatores que favorecem o aparecimento da resistência são: indicação inadequada de antimicrobianos pelos prescritores médicos (para melhora rápida do paciente), a interrupção do tratamento e venda de antimicrobianos sem prescrição médica e uso de antimicrobianos em rações de animais. Os antimicrobianos apresentam diversos mecanismos de ação: (a) inibição da síntese de parede celular bacteriana (ex: β -lactâmicos); (b) inibição da síntese proteica (ex: macrolídeos e aminoglicosídeos); (c) agentes que atuam diretamente na membrana celular, aumentando sua permeabilidade e causando o extravasamento celular (ex: polimixina); (d) agentes que interferem no metabolismo dos ácidos nucléicos (ex: quinolonas e rifampicina); (e)

agentes que inibem a síntese de metabólitos essenciais, como a síntese de purinas e de ácido fólico (ex: sulfametoxazol e trimetoprim) (BRUNTON *et al.*, 2010; TEIXEIRA, 2009).

Após o emprego terapêutico dos primeiros antimicrobianos, as infecções estafilocócicas alastraram-se pelo mundo, aparecendo como grave problema de saúde pública (MAYHALL, 2004). A utilização da penicilina na terapêutica no ano de 1944 resolveu temporariamente o problema dessas infecções. Entretanto, em 1946 surgiram as primeiras cepas resistentes, produtores de penicilinase (BARBER; ROZWADOWSKA-DOWZENKO, 1948). Mediante a inserção deste agente antimicrobiano, linhagens de *Staphylococcus* resistentes à penicilina começaram a aparecer. Esta resistência ocorre devido à produção por parte das bactérias de uma classe de enzimas chamadas beta-lactamases que hidrolizam o anel beta-lactâmico do resíduo penicilânico ou cefalosporínico resultando em um derivado de ácido inativo (JELJASZEWICZ; MLYNARCZYK; MLYNARCZYK *et al.*, 2000).

Os agentes antimicrobianos meticilina/oxacilina são da classe β -lactâmicos, o qual foram inseridos no mercado farmacêutico em 1961, sendo a meticilina o primeiro antimicrobiano semi-sintético dessa classe resistente às penicilinas. Com o passar dos anos, devido à pressão seletiva e do uso excessivo de antimicrobianos, começaram a ser identificados os *Staphylococcus* resistentes à meticilina, que eram resistentes a todos os antimicrobianos β -lactâmicos incluindo as cefalosporinas e carbapenens (LOWY, 2003).

A resistência à oxacilina é extremamente variável sendo determinada, na grande maioria das vezes, pelo gene *mecA*, que é carregado por um cassete cromossômico de estafilococo (SCC*mec*) – o qual apresenta dois complexos gênicos: o complexo *mec* e o complexo *ccr*, que codificam recombinases, além da presença de sequências de inserção relacionadas com a entrada de genes que conferem resistência a outras classes de antimicrobianos (KAISER *et al.*, 2010; SOROUGH *et al.*, 2017). O gene *mecA* é responsável pela síntese da proteína ligadora de penicilina modificada (PBP2a) a qual tem baixa afinidade para os antimicrobianos β -lactâmicos (CHAMBERS, 1997; SUED *et al.*, 2017).

A população de SCN resistentes à oxacilina vem aumentando ao longo dos anos em todo o mundo no ambiente nosocomial desde a década de 80, sendo um grave problema hospitalar, ocasionando elevados riscos para os pacientes. SCN estão entre os principais patógenos causadores de infecções da corrente sanguínea e ao adquirir resistência à oxacilina, tornam-se bactérias altamente resistentes a um elevado número de antimicrobianos passíveis de causar bacteremia (BECKER; HEILMANN; PETERS, 2014).

A vancomicina é um antimicrobiano glicopeptídeo tricíclico, extraído de cultura de *Streptomyces orientalis* e introduzido na prática médica em 1956 como alternativa para o

tratamento de infecções por estafilococos resistentes à penicilina. Com a descoberta da meticilina e da oxacilina, seu uso foi reduzido devido à toxicidade (TAVARES, 2006). A vancomicina tem como mecanismo de ação inibir a síntese da parede celular pela ligação, com elevada afinidade, ao terminal D-alanil-D-alanina das unidades precursoras da parede celular, além de alterar a permeabilidade da membrana citoplasmática, interferindo na síntese do RNA (PALMER-TOY, 2000; SUED-KARAM, 2018).

Quando os SCN são resistentes aos agentes antimicrobianos comumente usados, tem sido considerado a vancomicina (glicopeptídeo) como escolha na terapêutica para tratar as infecções (ANTUNES *et al.*, 2011; SCHITO, 2006). Entretanto, existem cepas resistentes, conhecidas como VRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina). Esse fato ocorreu devido ao aumento do uso da vancomicina que ocasionou o surgimento de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase-negativo com sensibilidade reduzida à vancomicina e a outros glicopeptídeos (PANESSO *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2007).

Ao nível da competência internacional faz-se referência a World Health Organization (WHO) que desenvolveu estratégias de combate à resistência antimicrobiana. Contudo, antes de demarcar estratégias é necessário ter noção dos fatores que levam a este problema na sociedade. Desta forma o uso inadequado e irracional dos medicamentos proporciona as condições ideais à resistência dos micro-organismos (WHO, 2009).

1.7 Biofilme

Os biofilmes são definidos como um grupo de micro-organismos associados a uma superfície e encobertos por uma matriz exopolissacarídica (Figura 1). Os biofilmes podem ser formados em diversas superfícies incluindo tecidos vivos, dispositivos de implantes médicos e sistemas de água (DONLAN; COSTERTON, 2002). Desse modo, os biofilmes são caracterizados como uma comunidade microbiana sésil envolta por uma matriz extracelular aderente a uma superfície inerte ou viva. Estes podem ser formados por uma única espécie de micro-organismo, ou por diferentes espécies e são geralmente compostos, por macromoléculas como polissacarídeos, proteínas, DNA, lipídeos, sais minerais, fibrilas amilóides e diversos produtos derivados de lise celular (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999; MONROE, 2007). A competência em formar biofilme é um dos principais fatores de virulência dos SCN, o que facilita sua permanência em materiais artificiais.

Um componente importante implicado na formação de biofilme está relacionado à presença do operon *icaADBC*, responsável pela síntese da adesina intercelular polissacarídica (PIA). Os biofilmes são difíceis de tratar com antimicrobianos, visto que as células sésseis são incorporadas em uma matriz complexa extracelular, autoproduzida e contendo a adesina intercelular polissacarídica (SCHILCHER; HORSWILL, 2020; SUED *et al.*, 2017).

Um dos componentes do biofilme mais estudados dos SCN é a proteína de superfície Aap. Para ancorar a PIA à parede celular bacteriana, foi recentemente demonstrado que a proteína de superfície-Aap foi capaz de mediar a formação de biofilme após clivagem enzimática por proteases estafilocócicas ou hospedeiras (SCHILCHER; HORSWILL, 2020).

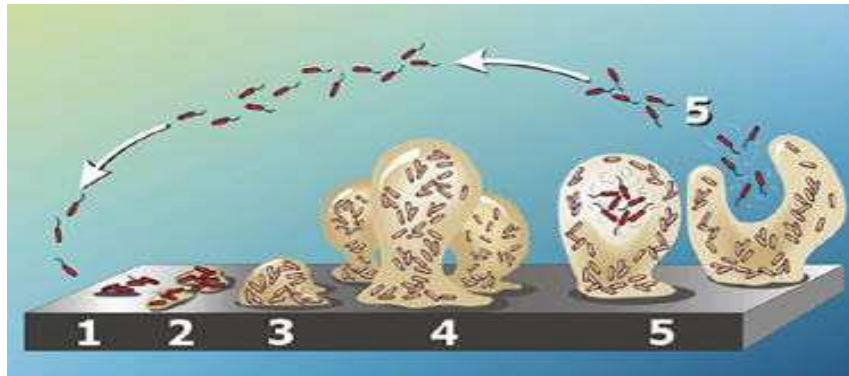
A matriz de biofilme pode reduzir ou atrasar a infiltração de produtos químicos, incluindo antimicrobianos. Desse modo, os biofilmes representam um reservatório perigoso de células persistentes, que podendo contribuir para a reinfecção no corpo humano (BERDITSCH *et al.*, 2019). Além de que são considerados como fontes para infecções persistentes de diversos micro-organismos patogênicos. Eles são responsáveis pela infecção nosocomial e associados a muitas condições cirúrgicas, incluindo dispositivos hospitalares implantáveis (BENACHINMARDI; RAVIKUMAR; INDIRADEVI, 2017; SENG *et al.*, 2017).

A adesão bacteriana é um processo que ocorre em duas fases. Na primeira fase, o processo é ainda reversível, em função do processo da adesão do micro-organismo na superfície, isso ocorre por forças de Van der Waals e atração eletrostática. Na segunda etapa, ocorre a interação física da célula com a superfície por meio de material extracelular de natureza polissacarídica ou protéica produzida pela bactéria (KASNOWSKI *et al.*, 2010). Possivelmente, a formação de biofilme é mais dependente da adesão célula a célula, do que da quantidade de células aderidas à superfície. Essa adesão intercelular pode ser quantificada pela aglutinação das hemácias, que tem papel importante na patogenicidade das infecções associadas aos dispositivos hospitalares (PEREIRA, 2012).

As espécies formadoras de biofilme produzem uma matriz exopolissacarídica (polissacarídeo extracelular) chamada de *slime*, que se acredita constituir uma fase inicial da formação do biofilme, sendo importante para a colonização. A importância do papel desempenhado pelo *slime* é reforçada pela associação frequente a uma menor susceptibilidade aos antimicrobianos e a dificuldade em erradicar infecções crônicas (SUED *et al.*, 2017). O biofilme proporciona vantagens de sobrevivência ao micro-organismo, tornando as células menos acessíveis ao sistema de defesa do hospedeiro e prejudicando a ação dos antimicrobianos (BOWDEN *et al.*, 2005). O desenvolvimento da infecção por um corpo estranho efetua-se através de duas etapas importantes: aderência bacteriana à superfície do polímero e acumulação

do biofilme. O desenvolvimento do biofilme em superfícies é um processo dinâmico, complexo e multifatorial (ARAÚJO, 2006).

Figura 1 - Etapas de desenvolvimento do biofilme



Fonte: STOODLEY *et al.*, 2002.

No estágio 1, ocorre a fase de fixação inicial à superfície, a qual pode levar apenas alguns segundos ou minutos para sua ativação, este estágio é reversível e durante esta fase as células bacterianas apresentam uma taxa de crescimento logarítmica. Posteriormente ao primeiro estágio, as bactérias devem manter o contato com a superfície. Contudo, para que desenvolvam um biofilme maduro, é necessário que a adesão se torne irreversível. Para tal, precisam se multiplicar e ancorar seus apêndices, caracterizando o estágio 2. Depois da aderência irreversível à superfície, as bactérias emitem sinais químicos que auxiliam na comunicação entre as células bacterianas. Na fase de maturação 1, conhecida como estágio 3 de desenvolvimento, resulta a produção de matriz exopolissacarídica e consequente formação de microcolônias. Prosseguindo, o estágio 4 ou maturação 2 tem seu início quando o biofilme alcança sua espessura final. Durante esta etapa, o biofilme adquire arquitetura complexa com canais e poros, formando uma estrutura tridimensional, a qual pode ser bem espessa. Finalizando, o estágio 5 caracteriza-se pela dispersão celular e fechamento do ciclo. Algumas células são capazes de escapar do biofilme podendo ser levadas a novos sítios, reiniciando o processo de colonização (ALLISON *et al.*, 1998; APARNA; YADAV, 2008; STOODLEY *et al.*, 2002).

Os genes que codificam as principais proteínas envolvidas na formação do biofilme fazem parte do *operon icaADBC* que codifica a produção de adesina polissacarídica intercelular (“polysaccharide intercellular adhesin”, PIA), que faz a mediação entre a adesão intercelular de

bactérias e a acumulação de multicamadas de biofilme e a adesina polissacarídica capsular (“Capsular polysaccharide adhesin”, PSA). A PSA é um composto de polímeros de alto peso molecular (28 kDa) que oferece proteção contra a resposta imune do hospedeiro, através da formação da cápsula bacteriana que age como uma barreira à fagócitos, além de ser responsável pelo processo de fixação da bactéria à superfície, enquanto o *slime* está ligado ao processo de acumulação e maturação do biofilme na superfície (LAVERTY *et al.*, 2014). Acredita-se que a produção do biofilme mediado pela PIA forneça vantagem seletiva na colonização dos dispositivos associados (WEISSER *et al.*, 2010). A expressão do *operon icaADBC* é controlada por uma complexa variedade de condições e fatores como: anaerobiose, alta temperatura, estresse, tensão de oxigênio, níveis de glicose e osmolaridade. Esses fatores também influenciam a produção do biofilme, se analisado fenotipicamente (HERNÁNDEZ *et al.*, 2010). Independente de PIA, na formação de biofilme estão envolvidas, a proteína associada ao acúmulo (Aap) codificada pelo gene *aap* que exerce atividade de adesina intercelular responsável pelo acúmulo de biofilme (PEREIRA, 2018).

O processo de fixação dos SCN é intensificado pela presença da autolisina Atl, que é codificada pelo gene *atl*, que se liga às proteínas do plasma, presentes em biomateriais implantados. Existem várias proteínas e autolisinas ligadas à superfície dos *Staphylococcus* que são responsáveis pela ligação com o colágeno, a vitronectina, a fibronectina e fibrinogênio e outras proteínas presentes na matriz extracelular. Entre essas proteínas e autolisinas encontramos, a lipase extracelular de ligação ao colágeno (GehD), a autolisina Aae, que possui uma atividade de ligação da vitronectina, a proteína Empb (“Extracellular matrix-binding protein”), codificada pelo gene *empb*, que está envolvida com ligação da fibronectina, e é necessária para a fixação primária e acúmulo de biofilme em superfícies recobertas com fibronectina. A interação com o fibrinogênio é facilitada por uma proteína ligadora de fibrinogênio (Fbe/SdrG), codificada pelo gene *fbp* (LAVERTY *et al.*, 2014; LAZZAROTTO, 2010; LEMBRÉ *et al.*, 2014).

A presença do biofilme é de grande importância clínica, visto que os mecanismos de defesa do hospedeiro, bem como as drogas antimicrobianas para as quais a bactéria mostra-se sensível, *in vitro*, são incapazes de eliminar os *Staphylococcus* do local. No entanto, acredita-se que a presença do biofilme pode fazer a célula bacteriana tornar-se 10 a 1.000 vezes mais resistente aos efeitos das drogas antimicrobianas (PEREIRA, 2012).

1.8 O centro cirúrgico como ambiente propício à contaminação

O Centro Cirúrgico (CC) trata-se de uma unidade hospitalar onde são executados procedimentos anestésico-cirúrgicos, diagnósticos e terapêuticos, tanto em caráter eletivo quanto emergencial. Nesse ambiente, ocorrem intervenções invasivas e de recursos materiais com alta precisão e eficácia. O CC é considerado um ambiente dinâmico e o trabalho é desenvolvido por uma equipe multidisciplinar, esta unidade complexa e de alto risco é composta pelo bloco cirúrgico propriamente dito, pela recuperação pós-anestésica (RPA) e central de material e esterilização (CME), sendo que, essa macroestrutura encontra-se dentro da instituição hospitalar (SOBECC, 2013).

Desse modo, o CC é uma unidade fechada, um setor de prestação de cuidados crítico, contendo normas, protocolos e rotinas, sendo reconhecido como um setor que envolve alta tecnologia e estrutura física, devidamente projetada para um maior controle de infecções. A complexidade da unidade exige do enfermeiro, além de conhecimento científico, responsabilidade, habilidade técnica, estabilidade emocional, aliados ao conhecimento de relações humanas, favorecendo à administração de conflitos, para tanto o enfermeiro deve utilizar instrumentos de trabalho para acompanhar os avanços tecnológicos no setor saúde (SOBRAL *et al.*, 2019; STUMM; MAÇALAI; KIRCHNER, 2006).

Numa outra definição o CC pode ser caracterizado como um conjunto de áreas e instalações que permite efetuar procedimentos anestésico-cirúrgicos nas melhores condições de segurança para o paciente e, também, o conforto para a equipe que presta assistência (POSSARI *et al.*, 2015).

O CC devido à realização de diversos procedimentos invasivos, é uma unidade que deve receber uma atenção especial, para não ocorrer risco do paciente contrair uma infecção, pois a possibilidade de se ter uma contaminação ambiental é maior, devido ao número e trânsito de pessoas na sala de operação, a abertura de portas constantemente, o que promove a turbulência do ar e aumentando a quantidade e o movimento de micro-organismos no ambiente, e devido a ferida cirúrgica estar exposta ao contingente microbiano proveniente do ambiente e da equipe cirúrgica. Sendo assim, fatores de risco de infecção hospitalar, no paciente cirúrgico, são múltiplos e interligados (NOBRE, 2001).

O cuidado com o ambiente biologicamente seguro é primordial na prevenção de contaminação cruzada, sendo as mãos dos profissionais de saúde reconhecidamente como a via mais comum de transferência de patógenos. Desse modo, a unidade de terapia intensiva e centro

cirúrgico necessitam de atenção relacionada aos micro-organismos presente nas superfícies, pois são lugares fechados, climatizados e com pacientes imunocomprometidos (FERREIRA *et al.*, 2011).

O exercício do trabalho do enfermeiro, neste setor, surgiu para atender às necessidades da equipe cirúrgica, ou seja, organizar uma unidade em que fossem realizadas as cirurgias, bem como o preparo de materiais e equipamentos indispensáveis ao procedimento cirúrgico. O enfermeiro assumiu, entre a década de 1960 e 1970, a prática no CC para supervisionar o serviço de enfermagem, no sentido de verificar o cumprimento adequado das técnicas, desde então esta função vem crescendo e tomando novos rumos (STUMM; MAÇALAI; KIRCHNER, 2006). A função executada pelo enfermeiro no CC, tem se tornado cada vez mais complexa, à medida que abrange distintas atividades, dentre estas quatro se destacam: gerencial, sistematização da assistência, ensino e pesquisa (FONSECA, 2008; GRITTEM, 2007).

Ressalta-se que os enfermeiros podem ser considerados como agentes de suma importância, por serem facilitadores na educação permanente, em virtude de poder atuar nos processos de controle e prevenção por meio de ações e no gerenciamento dos procedimentos executados por sua equipe promovendo e contribuindo na segurança do paciente.

1.9 Cirurgias ortopédicas e a inserção de implantes de biomateriais

Os biomateriais compreendem os produtos utilizados na área de saúde, são definidos como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos, com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, podendo ser constituídos de compostos de origem sintética ou natural (PIRES *et al.*, 2015).

As aplicações dos biomateriais são vastas, em tecidos de partes moles, ortopedia, odontologia, regeneração óssea, substitutos de válvulas cardíacas, entre outros. Estas aplicações só são possíveis graças ao perfil multidisciplinar da área que agrupa profissionais como químicos, físicos, engenheiros e especialistas em ciências biomédicas (ANJOS, 2015).

Apesar do termo biomaterial ter surgido há apenas 50 anos, a introdução de materiais, de origem natural ou não, no corpo humano remonta da pré-história. Em fósseis de homens ancestrais encontraram-se ossos fraturados que consolidaram bem alinhados. Isto sucedeu pelo simples processo fisiológico da consolidação, contudo é possível que tenha existido alguma

imobilização rudimentar. E, durante o período Greco-Romano, houve também tentativas de construir próteses artificiais (KARAM, LOPES, 2005).

O quantitativo de cirurgias ortopédicas, incluindo, as cirurgias de prótese de quadril e joelho vêm se tornando mais frequente, em virtude dos avanços tecnológicos, estimando-se 150 mil próteses por ano nos Estados Unidos da América e 400 mil em todo o mundo. Destas, 1% a 5% tornam-se infectadas acarretando, muitas vezes, morbidades por internação prolongada, intervenções cirúrgicas repetidas, perda definitiva do implante e encurtamento no membro afetado, deformidades graves e perenes, bem como culminando no óbito em infecções fulminantes. Os procedimentos envolvidos são muitos na tentativa de resolução da infecção, gerando custos anuais elevados, variando entre 40 a 80 milhões de dólares nos Estados Unidos da América (PINTO, 2009).

A utilização de metais na fabricação de implantes ortopédicos iniciou-se no século XX, e em 1926 o aço inoxidável denominado AISI 302 foi empregado pela primeira vez, enquanto o AISI 316 começou a ser utilizado a partir de 1940. O uso de metais em implantes vem sendo estudado há mais de 80 anos. O qual, a inserção de implantes é um procedimento para melhorar a qualidade de vida e são empregados com frequência para reparar as articulações e fraturas ósseas (DAGA; RIVERA; BOERI, 2007; SCHIERHOLZ; BEUTH, 2001).

Os aços inoxidáveis austeníticos são utilizados como implantes ortopédicos de fixação de fratura óssea (DISEGI; ESCHBACH, 2000), pois apresentam boas características de resistência mecânica, de corrosão e menor teor de osteointegração, tornando-o um material mais apropriado para implantes (NASAB; HASSAN, 2010).

As infecções bacterianas constituem uma grave complicação no período pós-operatório. Durante as últimas décadas foram efetuadas inúmeras tentativas para evitar as infecções relacionadas pelos implantes ortopédicos, introduzindo antimicrobianos em cimentos ósseos, apesar de não ser muito aceito pelo fato de estar associado com o possível aumento da resistência aos agentes antimicrobianos (DAROUICHE, 2004).

As taxas de infecção no pós-operatório são significativamente mais elevadas, entre 5% e 40%, do que as substituições primárias. De uma forma geral, cerca de 5% dos dispositivos de fixação interna, provocam infecções nos pacientes (DAROUICHE, 2004; WIDMER, 2001).

Sendo assim, os implantes ortopédicos estão sujeitos a infecções relacionadas a biofilmes bacterianos, que só podem ser erradicados por remoção traumática do implante e acompanhada por terapia antimicrobiana (EHRlich *et al.*, 2006).

1.10 Biomateriais e o pericárdio bovino

As membranas biológicas vêm sendo constantemente utilizadas na prática da cirurgia reconstrutora. Com a necessidade aparente de se fazer as lesões muito extensas cicatrizarem de forma adequada, assim como a de reparar cirurgicamente a falha de um órgão ou até mesmo parte dele, iniciou-se a utilização de membranas biológicas como implantes. Em 1969, Carpentier *et al.*, propuseram o termo bioprótese. No início da década de 70, Ionescu *et al.*, confeccionaram uma válvula aórtica com pericárdio bovino fixado em glutaraldeído. Em 1979, Ionescu *et al.*, apresentaram sua experiência clínica inicial com as biopróteses de pericárdio bovino no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) em São Paulo. O retalho de pericárdio bovino é previamente tratado e conservado com glutaraldeído. Este tratamento confere-lhe características adequadas de resistência, flexibilidade e ausência de antigenicidade (COSTA *et al.*, 2016; POMERANTZEFF *et al.*, 1997).

O pericárdio bovino, material heterólogo, é um material de origem biológica altamente resistente, de fácil manejo cirúrgico, maleável e sem problemas de reação com corpo estranho. Além disso, é um tecido de fácil acesso e habitualmente representa um material de interesse no processo industrial de bovinos. Entretanto, para a utilização não só deste tipo de membrana como de qualquer outro bioimplantes, é necessário submetê-lo a tratamento químico. Vários agentes químicos vêm sendo utilizados para tratamento e conservação de tecidos biológicos a serem implantados em homens e animais, buscando principalmente eliminar a possibilidade de transmissão de micro-organismos (COSTA, 2009; IONESCU; TANDON, 1979).

As membranas de pericárdio bovino são um dos tecidos biológicos mais amplamente utilizados na forma de remendo em diversas cirurgias. Na cirurgia cardiovascular tem sido utilizado para correção de inúmeras cardiopatias como substituto das paredes atrial, ventricular, arterial e venosa e para reconstrução do saco pericárdico (PIRES *et al.*, 1997). Os tecidos utilizados como membranas biológicas têm uma característica comum: são ricos em tecido conjuntivo e suas propriedades os tornam bioimplantes altamente eficazes para apoiar a reparação de tecidos (PISO *et al.*, 2016).

No Brasil, o mercado de biomateriais implantáveis foi de aproximadamente 690 milhões de dólares em 2010, tendo um alcance de 1,7 bilhões em 2015 (crescimento de 20%). O uso de biomateriais implantáveis de uso cardiovascular corresponde a 36% do total, sendo o segundo maior do ramo de movimento econômico (WACHESK, 2016).

Nos últimos anos, grande variedade de biomateriais vem sendo desenvolvida com diferentes propriedades físico-químicas e mecânicas, dependendo da aplicação biomédica prevista, incluindo regeneração tecidual, sistemas de liberação de medicamentos, novos enxertos vasculares, ou suportes para engenharia de tecidos *in vitro* e *in vivo* (WACHESK, 2016).

Nesse contexto, ressalta-se que o crescente número de pacientes submetidos ao uso de bioimplantes tem aumentado a ocorrência de infecções. A adesão bacteriana aos biomateriais é processo de alta complexidade que demanda importante preocupação médica dada a sua evidente influência sobre a morbimortalidade dos pacientes que fazem uso de próteses, além dos consideráveis gastos que o envolvem (MORAES *et al.*, 2013).

1.11 *Caenorhabditis elegans*

O *Caenorhabditis elegans* é um nematódeo não parasita, de vida livre, encontrado no solo, normalmente se alimenta de bactérias e podem ser encontrados como hermafroditas ou machos, seu uso apresenta diversas vantagens em ensaios experimentais. As vantagens que permite sua produção barata e rápida são: seu pequeno tamanho (1 mm de comprimento), o tempo de geração rápida e a facilidade de manutenção (mantido em laboratório em placas de Petri contendo ágar inoculadas com *Escherichia coli*, fonte de alimento), além de que seu genoma já foi totalmente sequenciado (CHAUHAN; PRITCHARD, 2019; KALETTA; HENGARTNER, 2006; PETERSON, 2008).

Seu ciclo vida pode variar dependendo da temperatura de incubação utilizada para o seu desenvolvimento. Pode ser menor que três dias quando incubados a 25°C e demorar até seis dias quando incubados a 16°C. O desenvolvimento entre o período após fertilização até rompimento da parede dos ovos é chamado embriogênese. Após esse período obtêm-se as larvas em estágio conhecido como L1, as quais possuem formato similar de um adulto, porém são bem menores – 250 µm. O período conhecido como pós-embriônico envolve os estágios de crescimento até a formação de larvas L4 (L1 – L4). Após esse período os nematóides desenvolvem-se para as fases jovens adultos e adultos e estão preparados para a autofertilização (HOPE, 1999).

C. elegans tem emergido como uma ferramenta poderosa para modelar processos biológicos complexos em genética para estudar as interações patógeno-hospedeiro. A resposta

à infecção por agentes patogênicos naturais do *C. elegans* tem sido descrita para os *Staphylococcus* spp., visto que estes podem infectar lentamente o *C. elegans* (SUED-KARAM, 2018). *C. elegans* é utilizado rotineiramente para estudos por expressar três grupos de peptídeos antimicrobianos (AMPs): fatores antibacterianos (defensinas invertebradas), 28 caenóforos (proteínas semelhantes a saposina) e caenacinas (proteínas semelhantes a neuropeptídeos). *C. elegans* é um nematódeo com vários tipos de células, como musculares e nervosas e possui uma organização semelhante às células equivalentes nos vertebrados (CHAUHAN; PRITCHARD, 2019; MUSHEGIAN *et al.*, 1998; ZEHRBACH, ROGERS, TARR, 2017).

1.12 Justificativa

As IRAS representam as maiores taxas de morbimortalidade, internações mais prolongadas de elevado custo, envolvendo maiores taxas de reinternação, assim como uso prolongado de antimicrobianos, durante e após a alta hospitalar, além de serem responsáveis pela manutenção do risco de disseminação de micro-organismos resistentes.

O estudo envolvendo SCN tem importância fundamental, visto que é apontado como o principal agente de IRAS, principalmente aquelas relacionadas aos dispositivos hospitalares. Sendo assim o tratamento destas infecções tem se tornado cada vez mais um desafio para a saúde pública mundial, devido à ocorrência do aumento nas taxas de resistência bacteriana aos múltiplos agentes antimicrobianos utilizados na prática clínica. Entretanto, a análise dos aspectos epidemiológicos relacionados à colonização, infecção e formação de biofilme ocasionados por SCN, são fatores indispensáveis para a prevenção e controle das infecções nos ambientes nosocomiais.

Desde à antiguidade evidencia-se o uso de biomateriais implantáveis (como por exemplo: aço e membrana de pericárdio bovino), com o objetivo de corrigir os mais diversos tipos de problemas relacionados à saúde humana, contudo a formação de biofilme nestes biomateriais gera grande preocupação a respeito da morbimortalidade dos pacientes.

Além disso, pouco se sabe a respeito da contaminação de fômites, pois é pouco estudado, mesmo sendo reconhecidos como fonte de transmissão por SCN. Os estudos relacionados a contaminação de fômites, são, muitas das vezes, dirigidos para *S. aureus*.

2 OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo geral, o isolamento e identificação de *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus hominis*, em fômites de 10 salas cirúrgicas de um hospital de grande porte, situado no Município do Rio de Janeiro, além da determinação dos perfis de resistência aos agentes antimicrobianos e da capacidade de produção de biofilme em superfícies bióticas e abióticas.

Neste estudo foram desenvolvidos os seguintes objetivos específicos:

- a) isolamento de micro-organismos a partir de superfícies abióticas de origens diversas de um centro cirúrgico;
- b) identificação das espécies Gram-negativas e Gram-positivas pela técnica de MALDI-TOF.

Os seguintes objetivos foram realizados com amostras de *S. capitis* e *S. hominis*:

- a) avaliação dos perfis de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos através do teste de disco-difusão, determinação de Concentração Inibitória Mínima;
- b) determinação dos perfis de multirresistência e de multi-susceptibilidade aos agentes antimicrobianos;
- c) detecção da presença de gene que *mecA*;
- d) pesquisa da presença de genes *icaA*, *fbp*, *atl* e *aap* relacionados com as propriedades adesivas e produção de biofilme de SCN;
- e) avaliação da capacidade de formação de *slime* em meio vermelho do Congo;
- f) pesquisa de produção de biofilme em superfícies abióticas (vidro, poliestireno e aço);
- g) investigação da capacidade de interação com biomateriais e de produção de biofilme em membrana de pericárdio bovino;
- h) pesquisa da influência de doses sub-inibitórias de agentes antimicrobianos - oxacilina e vancomicina - na produção de *slime* e de biofilme em superfícies abióticas e biomateriais (vidro, poliestireno, aço);
- i) análise dos experimentos de produção de biofilme utilizando ensaios de microscopia eletrônica de varredura (MEV);

- j) avaliação do potencial de virulência de amostras de diferentes perfis fenotípicos e genotípicos de *S. capitis* e *S. hominis* utilizando *C. elegans* como modelo experimental de infecção.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Origem e identificação das amostras bacterianas

A coleta das amostras de fômites (esfigmomanômetro, mesa auxiliar, placa de eletrocautério, maçaneta da porta, maca, duto de refrigeração e suporte de soro) de 10 salas cirúrgicas (sendo: sala 01 utilizada predominantemente para cirurgia vascular; sala 05 cirurgia ortopédica; sala 06 cirurgia geral; e as demais salas sem predomínio de especialidades cirúrgicas) de um hospital de grande porte especializado no atendimento de urgências e emergências, localizado no município do Rio de Janeiro, ocorreu nos meses de junho e agosto de 2017. Nesse período, foram executadas cirurgias eletivas, de urgência e emergência, totalizando 510 cirurgias, discriminadas em ortopédicas, urológicas, vascular, geral, neurocirúrgica, oftalmológicas, plástica, buco-maxilo-facial, pediátrica com prevalência de idade de 01 a 96 anos. As amostras foram coletadas com o auxílio de swabs estéreis, embebidos em solução salina estéril e semeados em Mueller Hinton Ágar, em até 40 minutos após a coleta. As amostras foram submetidas a testes preliminares de identificação como: coloração de Gram, catalase, prova da coagulase, prova da desoxirribonuclease (DNase) e semeadas em Ágar Manitol Salgado. Posteriormente, as amostras foram semeadas em Ágar Sangue de Carneiro e incubadas a 35°C por 24h para análise de pureza, morfologia colonial e verificação da produção de hemólise (KONEMAN *et al.*, 2008).

3.2 Identificação bacteriana por MALDI-TOF-MS

A confirmação da identificação das amostras isoladas foi realizada através da técnica de Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz (MALDI-TOF), segundo Kornienko *et al.*, (2016), com modificações, onde os perfis de proteínas bacterianas obtidos foram comparados com um banco de dados de espectros de massa de referência bacteriana para identificação rápida no gênero, espécie e, em alguns casos, no nível da subespécie. As amostras foram semeadas em Ágar Muller Hinton e incubadas a 35 °C por 24 h. Em seguida, as amostras foram tocadas com um auxílio de alça bacteriológica esterilizada e depositada na placa metálica (Sample target)

fornecida pelo fabricante do equipamento MALDI-TOF Microflex LT (Bruker Daltonics). A placa inoculada foi mantida em fluxo laminar até a completa secagem do material depositado. A cada poço da placa metálica foi inoculado 1 µl da matriz composta por ácido α-ciano-4-hidroxicinâmico (HCCA, Sigma; Saint Louis, MO, EUA) preparado em acetonitrila 50% e ácido trifluoroacético 2,5% (Sigma; Saint Louis, MO, EUA). Após secagem da mistura e formação dos cristais, a placa de metal foi inserida no aparelho para a leitura das amostras. Os espectros de massa das amostras foram obtidos no modo linear, observando os seguintes parâmetros: frequência do laser 20 Hz; voltagem das fontes iônicas 1 e 2,20 kV e 18,6 kV, respectivamente; e faixa de peso molecular 2.000 a 20.000 Da. Espectros foram coletados através da somatória de 240 disparos do laser, adquiridos através de 4 grupos de 42 de 60 disparos lançados em regiões distintas, aleatoriamente selecionadas, em um poço na placa metálica. Os espectros obtidos foram processados pelo software de bioinformática MALDI Biotyper versão 3.1 (Bruker Daltonics) em modo operacional padrão, o qual realiza a pesquisa em sua biblioteca de espectros de referência de maneira a encontrar aquele que mais se assemelha ao obtido com a amostra.

3.3 Determinação do perfil de resistência aos antimicrobianos

Foi realizado o método do disco difusão para a determinação do perfil de resistência aos antimicrobianos, segundo CLSI (2017), utilizando os seguintes antimicrobianos: Cefoxitina (FOX; 30µg), Ciprofloxacina (CIP; 5µg), Clindamicina (DA; 02µg), Cloranfenicol (CHL; 30µg), Eritromicina (E; 15µg), Gentamicina (GEN; 10µg), Penicilina (PEN; 10µg), Rifampicina (RIF; 05µg), Sulfazotrim (SXT; 25µg), Moxifloxacina (MXF; 5µg) e Linezolida (LNZ; 30µg) (OXOID, Hants, UK). Foram consideradas como multirresistentes (MDR) as amostras resistentes pelo menos três ou mais classes diferentes de antimicrobianos.

3.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para oxacilina e para vancomicina

As determinações de concentração mínima inibitória, tanto para a oxacilina quanto para vancomicina, foram realizadas através da microdiluição em placa conforme CLSI (2017) e Sued *et al.*, (2017). O inóculo foi preparado com a semeadura das amostras em placa de Agar Muller Hinton, incubado por 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, posteriormente semeado em Caldo Muller Hinton (1,5ml) e, novamente, incubado por 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Após a incubação, o inóculo foi padronizado na turvação referente a 0,5 da escala de McFarland e diluído (1:100) em Caldo Muller Hinton. O preparo da técnica foi realizado com a produção da solução mãe onde foi pesado 10mg de oxacilina/vancomicina, adicionado dos solventes e diluentes específicos para a oxacilina/vancomicina, e em seguida a solução foi filtrada através de uma membrana esterilizante com porosidade de 0,22 μm . Partindo da solução mãe, foi retirada uma alíquota que foi calculada pela fórmula: $\text{Ci.Vi}=\text{Cf.Vf}$, onde **Ci** é a concentração inicial da solução; **Vi** é o volume inicial que vamos retirar da solução mãe para obter a concentração desejada; **Cf** é a concentração final da solução; **Vf** é o volume final do meio. Depois foram colocados na microplaca 50 μl do inóculo e 50 μl da solução mãe. A microplaca foi incubada por 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, e posteriormente foi realizada a leitura. O primeiro poço onde não houve turvação foi à que correspondeu a CIM. O último poço foi a amostra controle, onde foi colocado apenas o inóculo, sem adição de antimicrobianos. Conforme CLSI (2017), as amostras que apresentaram CIM menor ou igual a 0,5 $\mu\text{g/mL}$ são consideradas sensíveis à oxacilina, já as amostras que apresentaram CIM maior que 0,5 $\mu\text{g/mL}$, são consideradas resistentes à oxacilina. São consideradas sensíveis para vancomicina as amostras que apresentaram CIM menor ou igual 4 $\mu\text{g/mL}$ e são consideradas resistentes as amostras que apresentaram CIM maior ou igual 32 $\mu\text{g/mL}$.

3.5 Avaliação da produção de biofilme na ausência e na presença de oxacilina e/ou vancomicina

As amostras de *S. hominis* e *S. capitis* foram semeados em Ágar Muller Hinton por 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, e foram submetidos aos ensaios a seguir.

3.5.1 Método de crescimento em Ágar Vermelho do Congo (CRA)

A expressão da produção de *slime* foi avaliada através do método de crescimento em CRA, de três formas: na ausência de antimicrobianos, na presença de oxacilina, e na presença de vancomicina. Na ausência de antimicrobianos, as amostras foram semeadas em placa, em triplicata, e foram incubados por 18-24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e, posteriormente, por 24h a temperatura ambiente (aproximadamente 30°C). Como controle positivo para o teste foi usado a amostra de *S. epidermidis* ATCC 35984. Colônias negras demonstram resultado positivo e colônias vermelhas ou rosa-avermelhadas negativo (CHAIEB *et al.*, 2005). Segundo Sued *et al.*, (2017), as amostras foram semeadas em placa, em triplicata, contendo a concentração de oxacilina ou de vancomicina equivalente a $\frac{1}{4}$ da CIM (cada amostra possuía uma CIM, logo, cada tubo continha $\frac{1}{4}$ da CIM equivalente a amostra em questão), e foram incubados por 18-24 horas à $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e, posteriormente, por 24 horas a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C).

3.5.2 Determinação do padrão de aderência ao vidro

A aderência ao vidro foi avaliada de três formas: na ausência de antimicrobianos, na presença de oxacilina, e na presença de vancomicina. Na ausência de antimicrobianos, tubos 13 x 100 mm contendo 5ml de Tryptic Soy Broth foram utilizados para verificar a capacidade de aderência ao vidro. Para tal, alíquotas das suspensões bacterianas (10^8 bactérias/mL) foram inoculadas nos tubos e incubadas por 48h a 37°C . A cada 48h o meio foi retirado e uma nova partida foi acrescentada. Este procedimento foi repetido mais duas vezes. Por fim, as amostras foram classificadas com base nos seguintes padrões: I (+++) - bactérias aderidas nas laterais do tubo de vidro e na interface entre o meio de cultura e o ar – fortemente aderente; II (++) - bactérias aderidas nas laterais do tubo de vidro – moderadamente aderente; III (+) – bactérias formando um anel na interface entre o meio de cultura e o ar – fracamente aderente; e IV (-) ausência de bactérias aderidas – não aderente. Como controle positivo para o teste foi usado a amostra de *S. epidermidis* ATCC 35984 (MATTOS-GUARALDI; FORMIGA, 1991). Na presença de oxacilina/vancomicina, foi realizada a mesma técnica, porém cada tubo continha

5ml de TSB com a concentração equivalente a $\frac{1}{4}$ da CIM (cada amostra possuía uma CIM, logo, cada tubo continha $\frac{1}{4}$ da CIM equivalente a amostra em questão) (SUED *et al.*, 2017).

3.5.3 Avaliação da formação de biofilme em superfície de poliestireno

A produção de biofilme foi avaliada de três formas: na ausência de antimicrobianos, na presença de oxacilina, e na presença de vancomicina. Na ausência de antimicrobianos, a produção de biofilme foi avaliada qualitativamente através de uma modificação do método descrito previamente por Stepanovic (2000) e Sued *et al.*, (2017). As amostras foram inicialmente crescidas em meio TSA (“Tryptone Soy Agar”) à 37°C por 48h e suspensas em TSB com turvação equivalente 0,5 McFarland, e cultivadas à 37°C por 24h. Uma alíquota de 200µl de suspensão bacteriana em TSB foi dispensada em poço de uma placa de microtitulação de poliestireno de 96 poços. As placas foram incubadas a 37°C por 24h e, em seguida, lavadas duas vezes com 200µl Salina tampão fosfato (PBS) e, posteriormente 200µl de metanol foram adicionados a cada poço e mantidos por 15 minutos. Em seguida, o metanol foi retirado e a placa deixada em temperatura ambiente para secagem, 200µl de cristal violeta a 0,2% foram colocados em cada poço por 5 minutos e a placa foi lavada exaustivamente com água destilada. Depois de secos, se adicionou aos poços 200µl de ácido acético a 33%, a fim de eluir o corante. A avaliação de formação de biofilme foi realizada através da leitura da densidade óptica (absorvância) de cada poço utilizando espectrofotômetro (570nm). Foram utilizados como controle positivo para o teste as amostras de *S. epidermidis* ATCC 12228 e como controle negativo, TSB estéril. As amostras foram classificadas em quatro categorias com base na DO: não aderente (-) = DO obtida \leq DO do controle negativo (DOc); fracamente aderente (+) = DOc > DO \leq (2xDOc); moderadamente aderente (++) = (2xDOc) > DO \leq (4xDOc) e fortemente aderente (+++) = DO > (4xDOc). Na presença de oxacilina/vancomicina, foi realizada a mesma técnica, porém as amostras foram semeadas em poços contendo 200 µl de TSB com a concentração equivalente a $\frac{1}{4}$ da CIM (cada amostra possuía uma CIM, logo, cada tubo continha $\frac{1}{4}$ da CIM equivalente a amostra em questão) (SUED *et al.*, 2017).

3.5.4 Avaliações quantitativas da aderência em superfície de aço

Os ensaios foram realizados em microplacas de 24 poços, cada poço contendo 500 µl de suspensões bacterianas em tripticaseína de soja (TSB) ($\sim 10^8$ UFC/mL) e fragmentos de 0,5 cm de implantes de aço estéreis e então, as placas foram incubadas a 37°C por 24h. Posteriormente os fragmentos foram transferidos para tubos contendo 500µL de salina e areia estéril e com auxílio do vórtex as células sésseis foram extraídas por abrasão. As suspensões obtidas foram submetidas à diluição seriada na base 10 para a contagem de viáveis em placa de Mueller Hinton (SOUZA *et al.*, 2015).

3.5.5 Avaliações quantitativas da aderência em superfície de pericárdio bovino

Os ensaios foram realizados em microplacas de 24 poços, cada poço contendo 500 µl de suspensões bacterianas em tripticaseína de soja (TSB) ($\sim 10^8$ UFC/mL), segundo Souza *et al.*, (2015), com modificações. Fragmentos de 0,5 cm de membrana de pericárdio bovino estéril e então, as placas foram incubadas a 37°C por 24h. Posteriormente os fragmentos foram transferidos para tubos contendo 500µL de salina e areia estéril e com auxílio do vórtex as células sésseis foram extraídas por abrasão. As suspensões obtidas foram submetidas à diluição seriada na base 10 para a contagem de viáveis em placa de Ágar Mueller Hinton.

3.6 **Deteção dos genes *mecA* (resistência), *icaA*, *fbp*, *atl* e *app* (biofilme)**

Ensaio de deteção da presença dos genes *mecA*, *icaA*, *fbp*, *atl* e *aap* foram realizadas pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando os oligonucleotídeos descritos no Quadro 2.

A liberação do DNA bacteriano através de lise térmica foi realizada de acordo com Schuenck *et al.*, (2008) com modificações. Três a cinco colônias de cada amostra cultivada em Ágar Sangue foram transferidas para 100 µL de tampão TE (10mM Tris [Sigma], 1mM EDTA [Sigma], pH 7,8). Esta suspensão foi mantida à temperatura de ebulição, em torno 100°C, por

10 minutos e, em seguida centrifugada por 1 minuto, a 7.000 rpm. Em seguida, foram coletados os sobrenadantes com DNA liberado e usados para a reação de PCR.

Os ensaios de PCR para o gene *mecA* foi realizado segundo Pereira-Ribeiro *et al.*, (2019). A amplificação foi realizada em termociclador (Eppendorf Mastercycler Gradient), utilizando volume total de 50µL para a reação composta de 10µL de DNA liberado, 200µM de cada desoxinucleotídeo trifosfatado (dATP, dGTP, dCTP e dTTP) (Life Technologies), 0,25µM de cada um dos oligonucleotídeos SHF e SHR, SE1 e SE2 e MRS1 e MRS2, 1,5U de *Taq* DNA polimerase (Biotools, Madrid, Espanha), 5µL do tampão da enzima 10X (10 mM Tris HCl, 25mM KCl) e 2mM de MgCl₂. Após realização de uma etapa de desnaturação inicial de 94°C por 3 minutos, foram realizados 30 ciclos de amplificação com desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 55°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 2 minutos, seguido de uma etapa final de extensão, realizada a 72°C por 5 minutos.

Os ensaios de PCR para os genes *icaA* foram realizadas segundo Potter *et al.*, (2009). A amplificação foi realizada em termociclador (Eppendorf Mastercycler Gradient), utilizando volume total de 50 µL para a reação composta de 3 µL de DNA liberado, 200 µM de cada desoxinucleotídeo trifosfatado (dATP, dGTP, dCTP e dTTP) (Life Technologies), 50 pmol de cada primer *forward* e *reverse* (1 µL), 2,5U de *Taq* DNA polimerase (Biotools, Madrid, Espanha), 2,5 µL de tampão 10X Buffer (Sigma) (10 mM Tris HCl, 25mM KCl) e 3mM de MgCl₂. A reação de amplificação realizada foi programada para desnaturação inicial de 92°C por 3 min, seguido de 30 ciclos de 92°C por 1 min, 52°C por 1 min e 72°C por 1 min, seguido de uma etapa final de extensão de 72°C por 5 min.

Os ensaios de PCR para os genes *fbp* e *atl* foram realizadas segundo Barros *et al.*, (2015). A amplificação foi realizada em termociclador (Eppendorf Mastercycler Gradient), utilizando volume total de 50 µL para a reação composta de 3 µL de DNA liberado, 250 µM de cada desoxinucleotídeo trifosfatado (dATP, dGTP, dCTP e dTTP) (Life Technologies), 25 pmol de cada primer *forward* e *reverse* (1 µL), 1,0U de *Taq* DNA polimerase (Biotools, Madrid, Espanha), 2,5 µL de tampão 10X Buffer (Sigma) (10 mM Tris HCl, 25mM KCl) e 1,5mM de MgCl₂. A reação de amplificação realizada foi programado para desnaturação inicial de 92°C por 3 min, seguido de 30 ciclos de 92°C por 1 min, 52°C por 1 min e 72°C por 1 min, seguido de uma etapa final de extensão de 72°C por 5 min.

O ensaio de PCR para os genes *aap* foi realizada segundo Araújo *et al.* (2006). A amplificação foi realizada em termociclador (Eppendorf Mastercycler Gradient), utilizando volume total de 25 µL para a reação composta de 3 µL de DNA liberado, 250 µM de cada desoxinucleotídeo trifosfatado (dATP, dGTP, dCTP e dTTP) (Life Technologies), 25 pmol de

cada primer *forward* e *reverse* (1 µL), 1,0U de *Taq* DNA polimerase (Biotools, Madrid, Espanha), 2,5 µL de tampão 10X (Sigma) (10 mM Tris HCl, 25mM KCl) e 50mM de MgCl₂. A reação de amplificação realizada foi programado para desnaturação inicial de 94°C por 5 min, seguido de 30 ciclos de 94°C por 30s, 55°C por 1 min e 72°C por 1 min, e uma etapa final de extensão de 72°C por 5 min.

Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em E-gel (agarose a 2% - Invitrogen), no equipamento de *E-gel iBase Power System* (Invitrogen), por 25 minutos. A visualização dos produtos de amplificação foi obtida em transiluminador de luz ultravioleta e, posteriormente, o gel foi fotografado (*Kodak Digital Science Electrophoresis Documentation & Analysis System 120*).

Quadro 2 - Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados nos ensaios de PCR

Gene	Sequência do Primer 5'→ 3'	Tamanho do Amplicon(pb)	Referência
<i>mecAF</i> <i>mecAR</i>	TAG AAA TGA CTG AAC GTC CG TTG CGA TCA ATG TTA CCT AG	154 pb	Pereira-Ribeiro <i>et al.</i> , 2019
<i>icaAF</i> <i>icaAR</i>	CGA TGG GCT CAA GGT GG TTC TTT TCG TAG CGA CTG TC	287pb	Potter <i>et al.</i> , 2009
<i>fbpF</i> <i>fbpR</i>	GGT GAT ACC ATT TAC CGC AC CGT GCA TCG TAG TAG CGA TC	512pb	Barros <i>et al.</i> , 2015
<i>atlF</i> <i>atlR</i>	TAA CTC AAC AAT CGA TGG CG GTA CCC CAA GGT GCT ACT TG	446pb	Barros <i>et al.</i> , 2015
<i>aapF</i> <i>aapR</i>	CAA CGA AGG CAG AAG AAG GA CAT CCC CAT CTT TCT TGC TG	719pb	Araújo <i>et al.</i> , 2006

Legenda: Pares de base (pb).

Fonte: A autora, 2021.

3.7 Análise estrutural dos biofilmes pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foram avaliadas por MEV, cepas representantes de SCN. Primeiramente foi obtida a produção de biofilme, segundo Stepanovic (2000), acrescentando pequenos segmentos de 0,5 cm de implante ósseo de aço ou pericárdio bovino estéreis. O conteúdo de cada poço foi aspirado e lavado duas vezes com 1 mL de salina estéril. O material foi então fixado em solução de glutaraldeído a 2,5%, pós-fixado com tetróxido de ósmio a 1% e desidratado em diferentes

soluções de etanol. Em seguida, o material foi submetido ao ponto crítico com dióxido de carbono, coberto com nanopartículas de ouro e examinados em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 5310 (PEREIRA-RIBEIRO *et al.*, 2019). O controle negativo foi realizado com segmentos de implantes ósseo de aço ou pericárdio bovino estéreis, os quais também foram processados diretamente após a remoção da embalagem comercial.

3.8 Ensaio de letalidade (“slow killing assay”) em superfície biótica de nematódeos

O nematóide *Caenorhabditis elegans* N2 foi utilizado nos ensaios como modelo experimental *in vivo* para análise de patogenicidade de amostras de *S. capitis* e *S. hominis*. *C. elegans* N2 foram mantidos em placas contendo meio de crescimento para nematódeo (NGM) por aproximadamente 3-5 dias a 20°C, sendo utilizado a cepa de *Escherichia coli* OP50 como fonte de alimento, para que os nematódeos cheguem ao estágio larval L4.

Para os ensaios de infecção, 20 µL de suspensão bacteriana a partir de uma cultura de 24h em TSB foram adicionados a placas de NGM. Após 24-48h, 20 vermes em estágio larval L4 foram transferidos para placas contendo as amostras testes e foram observados diariamente, por cinco dias seguidos. Os nematódeos mortos foram contados diariamente e os nematódeos vivos, foram passados para uma nova placa de NGM a cada 2 dias e incubados a 20°C. Para cada amostra, aproximadamente 60 nematódeos foram usados e os ensaios foram realizados ao menos em 3 placas (ANTUNES *et al.*, 2016).

3.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa Graphpad Prism, versão 5.0, onde foram aplicados os testes estatísticos “t” de Student não-pareado na análise das médias, e, na análise da variância, foi aplicado o teste de Tukey, ambos considerando o intervalo de confiança de 95%. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos, pelos menos, três vezes.

4 RESULTADOS

4.1 Micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos isolados de fômites diversos de centro cirúrgico

Os dados apresentados nos Quadros 3 e 4 demonstraram que no período de junho/agosto de 2017, foram coletados materiais de superfícies de esfigmomanômetro, mesa auxiliar, placa de eletrocautério, maçaneta de porta, maca, duto de refrigeração e suporte de soro das 10 salas de cirurgias. No centro cirúrgico foram isoladas da superfície desses fômites, 61 amostras bacterianas, sendo: 09 (14.7%) amostras caracterizadas como Gram-negativos e 52 (85.2%) amostras como Gram-positivos, sendo 48 dessas últimas identificadas como pertencentes ao grupo SCN (78.6%). Na sala de cirurgia n° 5, utilizada para procedimentos ortopédicos e na sala n° 6 destinada a procedimentos de cirurgia geral, foi isolado o maior número de micro-organismos em diversos fômites. Dentre os SCN, um percentual de 20.8% foi isolado de esfigmomanômetros. Para as diferentes superfícies analisadas, constatou-se o gênero *Staphylococcus* como mais prevalente. Pode-se reconhecer, ainda, que bactérias como *Staphylococcus haemolyticus* (n=9), foi a terceira espécie mais encontrada em esfigmomanômetro, placa de eletrocautério, mesa auxiliar e maçaneta. Na mesa auxiliar da sala 09, foi isolado *Staphylococcus aureus*.

Do total das amostras Gram-positivas isoladas no ambiente do centro cirúrgico, 36.5% foram isoladas dos dutos de ar das salas de cirurgia com sistema de ventilação central, apresentando funcionamento deficiente. *Staphylococcus pseudintermedius*, considerado o principal agente etiológico de infecções cutâneas em cães (piodermite canina), foi isolado no duto do ar da sala de cirurgia n° 4. As demais espécies serão estudadas por nossa equipe posteriormente.

Das amostras Gram-negativas de importância clínica, também foram isolados nos dutos de ar, *Klebsiella pneumoniae* na sala de cirurgia n° 5, e o grupo *Acinetobacter* spp. foi isolado na sala de cirurgia n° 9.

Quadro 3 - Identificação das espécies Gram-positivas isoladas de fômites (continua)

Amostras	Salas cirúrgicas	Fômites	Espécie
R14	Sala 01	Duto de refrigeração	<i>Brevibacillus brevis</i>
R13	Sala 01	Esfigmomanômetro	<i>Micrococcus luteus</i>
V10	Sala 01	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
R23	Sala 01	Suporte de soro	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
V1	Sala 02	Duto de refrigeração	<i>Staphylococcus sciuri</i>
R5	Sala 02	Duto de refrigeração	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
R6	Sala 02	Esfigmomanômetro	<i>Micrococcus luteus</i>
R7	Sala 02	Placa de eletrocautério	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
R67	Sala 03	Duto de refrigeração	<i>Bacillus licheniformis</i>
R41	Sala 03	Duto de refrigeração	<i>Brevibacillus brevis</i>
R24	Sala 03	Mesa auxiliar	<i>Bacillus licheniformis</i>
R45	Sala 03	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus sciuri</i>
V40	Sala 04	Duto de refrigeração	<i>Bacillus cereus</i>
V41	Sala 04	Duto de refrigeração	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
V32	Sala 04	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus cohnii</i>
V22	Sala 04	Placa de eletrocautério	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
V24	Sala 04	Placa de eletrocautério	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
R32	Sala 05	Duto de refrigeração	<i>Brevibacillus brevis</i>
V7	Sala 05	Duto de refrigeração	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
V18	Sala 05	Duto de refrigeração	<i>Clostridium tereti</i>
R21	Sala 05	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
V9	Sala 05	Maçaneta	<i>Staphylococcus chromogenes</i>
V3	Sala 05	Maçaneta	<i>Staphylococcus cohnii</i>
R18	Sala 06	Duto de refrigeração	<i>Micrococcus luteus</i>
R74	Sala 06	Placa de eletrocautério	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
R12	Sala 06	Placa de eletrocautério	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
R36	Sala 06	Mesa auxiliar	<i>Staphylococcus sciuri</i>
R37	Sala 06	Mesa auxiliar	<i>Enterococcus faecalis</i>
V38	Sala 06	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
R1	Sala 06	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
R81	Sala 07	Duto de refrigeração	<i>Brevibacillus choshimensis</i>
R80	Sala 07	Duto de refrigeração	<i>Bacillus macins</i>
V3	Sala 07	Placa de eletrocautério	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
V7	Sala 07	Placa de eletrocautério	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
V37	Sala 07	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
R54	Sala 08	Duto de refrigeração	<i>Micrococcus luteus</i>
R53	Sala 08	Duto de refrigeração	<i>Lactobacillus oris</i>
R77	Sala 08	Mesa auxiliar	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
R55	Sala 08	Placa de eletrocautério	<i>Micrococcus luteus</i>
V61	Sala 09	Duto de refrigeração	<i>Bacillus cereus</i>
R61	Sala 09	Mesa auxiliar	<i>Staphylococcus aureus</i>
V60	Sala 09	Maçaneta	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
R16	Sala 09	Suporte de soro	<i>Brevibacterium casei</i>
V8	Sala 10	Duto de refrigeração	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
V9	Sala 10	Duto de refrigeração	<i>Bacillus cereus</i>
R59	Sala 10	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
R70	Sala 10	Esfigmomanômetro	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
V7	Sala 10	Suporte de soro	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
R69	CC	Maca	<i>Bacillus subtilis</i>
V82	CC	Maca	<i>Bacillus megaterium</i>

Quadro 3 - Identificação das espécies Gram-positivas isoladas de fômites (conclusão)

R83	CC	Maca	<i>Lactobacillus coryniformis</i>
V42	CC	Maca	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>

Legenda: centro cirúrgico (CC).

Fonte: A autora, 2021.

Quadro 4 - Identificação das espécies Gram-negativas isoladas de fômites

Amostras	Salas cirúrgicas	Fômites	Espécie
V16	Sala 01	Suporte de soro	<i>Pseudomonas putida</i>
R19	Sala 02	Duto de refrigeração	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
R15	Sala 02	Suporte de soro	<i>Acinetobacter johnsonii</i>
V1	Sala 02	Suporte de soro	<i>Enterobacter cloacae</i>
R30	Sala 05	Duto de refrigeração	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
V17	Sala 05	Mesa auxiliar	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
R43	Sala 06	Duto de refrigeração	<i>Pasteurella multocida</i>
R22	Sala 06	Esfigmomanômetro	<i>Enterobacter asburiae</i>
V5	Sala 08	Duto de refrigeração	<i>Acinetobacter spp.</i>

Fonte: A autora, 2021.

4.2 Isolamento e identificação de amostras de *S. hominis* e *S. capitis*

Dentre as 48 amostras caracterizadas como SCN, foram identificadas 10 amostras de *S. hominis* e 09 amostras de *S. capitis* pela técnica de MALDI-TOF MS, conforme apresentado no Quadro 5. Dentre as dez amostras de *S. hominis* isoladas de fômites, cinco amostras foram isoladas de macas, quatro amostras de esfigmomanômetro e uma amostra de duto de refrigeração. Das nove amostras de *S. capitis*, foram isoladas, quatro amostras de placa de eletrocautério, três amostras de mesa auxiliar, uma amostra de maca e uma amostra de esfigmomanômetro. Não foram isoladas amostras de *S. hominis* e *S. capitis* de maçaneta de porta e de suporte de soro.

Quadro 5 - Identificação das espécies de *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus capitis* isoladas de fômites

Amostras	Salas cirúrgicas	Fômites	Espécie	MALDI-TOF (score)
SC-01	Cirurgia ortopédica (sala 05)	Placa eletrocautério	<i>S. capitis</i>	2,000
SC-02	Cirurgia ortopédica (sala 05)	Placa eletrocautério	<i>S. capitis</i>	2,103
SC-03	Cirurgia ortopédica (sala 05)	Placa eletrocautério	<i>S. capitis</i>	2,172
SC-04	Cirurgia ortopédica (sala 05)	Placa eletrocautério	<i>S. capitis</i>	2,082
SC-11	Sala 09	Mesa auxiliar	<i>S. capitis</i>	2,118
SC-13	Sala 09	Mesa auxiliar	<i>S. capitis</i>	2,163
SC-14	Sala 09	Mesa auxiliar	<i>S. capitis</i>	2,037
SC-12	CC	Maca transporte	<i>S. capitis</i>	2,228
SHo-05	CC	Maca transporte	<i>S. hominis</i>	2,308
SHo-06	CC	Maca transporte	<i>S. hominis</i>	2,189
SHo-07	CC	Maca transporte	<i>S. hominis</i>	2,172
SHo-09	CC	Maca transporte	<i>S. hominis</i>	2,396
SHo-15	CC	Maca transporte	<i>S. hominis</i>	2,358
SHo-08	Cirurgia ortopédica (sala 05)	Esfigmomanômetro	<i>S. hominis</i>	2,265
SHo-17	Cirurgia vascular (sala 01)	Esfigmomanômetro	<i>S. hominis</i>	2,319
SHo-18	Cirurgia vascular (sala 01)	Esfigmomanômetro	<i>S. hominis</i>	2,332
SHo-19	Cirurgia vascular (sala 01)	Esfigmomanômetro	<i>S. hominis</i>	2,273
SC-16	Cirurgia vascular (sala 01)	Esfigmomanômetro	<i>S. capitis</i>	2,183
SHo-10	Cirurgia geral (sala 06)	Duto refrigeração	<i>S. hominis</i>	2,134

Legenda: *Staphylococcus capitis* (SC); *Staphylococcus hominis* (SHo); centro cirúrgico (CC).

Fonte: A autora, 2021.

4.3 Perfis de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos e detecção do gene *mecA* que codifica resistência a oxacilina

Os resultados dos testes de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos e os perfis MDR e de não-multirresistência (MDS) expressos pelas amostras *S. hominis* (n=10) e *S. capitis* (n=09) foram apresentados no Quadro 6. Todas as amostras que apresentaram resultados intermediários foram consideradas resistentes aos antimicrobianos testados. Pelo ensaio de determinação de concentrações inibitórias mínimas, todas as amostras (100%) de *S. hominis* (n=10) e de *S. capitis* (n=9) foram oxacilina-resistentes. Interessantemente, as amostras *S. hominis* (SHo-07) e *S. capitis* (SC-03), apresentaram resistência intermediária à vancomicina.

Os resultados apresentados na Figura 2 demonstraram que 60% das amostras (n=6) identificadas como *S. hominis*, expressaram perfil MDR, sendo 100% sensíveis a rifampicina e a linezolida. Oito amostras (80%) foram resistentes a eritromicina e uma amostra (10%) foi

intermediária. Sete amostras (70%) foram resistentes a penicilina. Para sulfazotrim seis amostras (60%) foram resistentes e duas amostras (20%) intermediária. Cinco amostras (50%) foram resistentes a clindamicina. Para ciprofloxacina, quatro amostras (40%) foram resistentes e uma amostra (10%) intermediária. Foram resistentes a cefoxitina, quatro amostras (40%). Para gentamicina, três amostras (30%) foram resistentes e uma amostra (10%) intermediária. Para moxifloxacina e cloranfenicol, três amostras (30%) e duas amostras (20%) respectivamente, foram resistentes.

Como apresentado na Figura 3, todas (100%) as amostras de *S. capitis* foram sensíveis a cloranfenicol, rifampicina e linezolida. Das nove amostras identificadas como *S. capitis*, oito (88,9%) foram MDR. Foram resistentes a gentamicina, seis amostras (66,7%). Cinco amostras (55,6%) foram resistentes e quatro amostras (44,5%) foram intermediárias para eritromicina. Cinco amostras (55,6%) foram resistentes a penicilina e quatro amostras (44,5%) foram resistentes a cefoxina. Para ciprofloxacina e para sulfazotrim, quatro amostras (44,5%) foram resistentes e uma amostra (11,2%) intermediária. Apenas uma amostra (11,2%) foi resistente e cinco amostras (55,6%) foram intermediárias para clindamicina. Para moxifloxacina, apenas uma amostra (11,2%) foi intermediária.

Como descrito no Quadro 6, das 19 amostras, sete (36,8%) apresentaram o gene *mecA* aos ensaios de PCR. Sendo que destas sete, quatro (40%) amostras foram identificadas como *S. hominis*, sendo SHo-05 (MDR-06) e SHo-06 (MDS-04), SHo-07 (MDS-03) e SHo-10 (MDS-05); e três (33,3%) amostras foram identificadas como *S. capitis*, sendo SC-02 (MDR-03), SC-03 (MDR-09) e SC-04 (MDR-07). Contudo, 12 amostras foram oxacilina resistentes, mas não apresentaram o gene *mecA*.

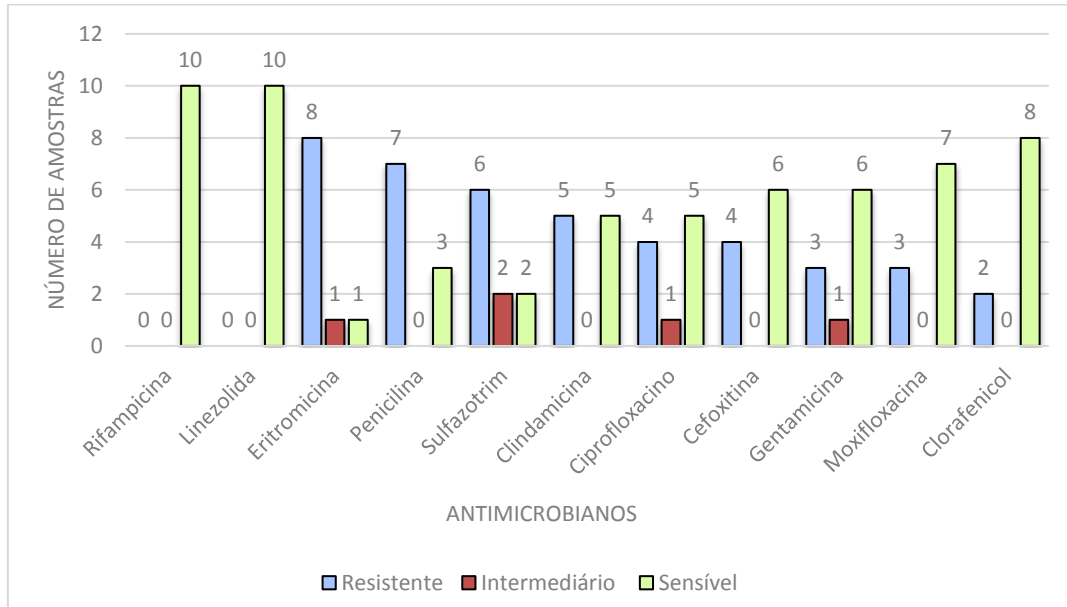
Quadro 6 - Perfis de resistência e susceptibilidade aos agentes antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus capitis* isoladas de fômites avaliados pelos métodos de difusão em disco e/ou CIM (oxacilina e vancomicina)

Amostras	Perfis de Resistência	CIM (µg/ml)		Gene <i>mecA</i>	PRA
		OXA	VA		
SHo-17	E, SXT, DA, PEN, CIP, GEN, FOX, CHL	512,0(R)	4,0 (S)	-	MDR-01
SHo-19	E, SXT, DA, PEN, CIP, GEN, FOX	512,0(R)	4,0 (S)	-	MDR-02
SC-16	E, SXT, DA, PEN, CIP, FOX	512,0(R)	2,0 (S)	-	MDR-03
SC-01	E, SXT, DA, PEN, CIP, FOX	512,0(R)	2,0 (S)	-	MDR-03
SC-02	E, SXT, DA, PEN, CIP, FOX	512,0(R)	2,0 (S)	+	MDR-03
SHo-18	E, SXT, DA, CIP, FOX, MXF	512,0(R)	1,0 (S)	-	MDR-04
SHo-08	E, SXT, DA, PEN, GEN, MXF	512,0(R)	2,0 (S)	-	MDR-05
SHo-05	E, SXT, PEN, CIP, GEN, MXF	128,0(R)	4,0 (S)	+	MDR-06
SC-04	E, PEN, CIP, GEN, FOX	512,0(R)	2,0 (S)	+	MDR-07
SC-13	E, SXT, DA, GEN	512,0(R)	1,0 (S)	-	MDR-08
SC-03	E, PEN, CIP, GEN	512,0(R)	8,0 (I)	+	MDR-09
SC-12	E, SXT, DA	512,0(R)	2,0 (S)	-	MDR-10
SC-14	E, SXT, DA	512,0(R)	4,0 (S)	-	MDR-10
SHo-15	E, DA, CIP	64,0(R)	1,0 (S)	-	MDR-11
SC-11	E, SXT	512,0(R)	4,0 (S)	-	MDS-01
SHo-09	E, PEN	512,0(R)	4,0 (S)	-	MDS-02
SHo-07	SXT, GEN	512,0(R)	8,0 (I)	+	MDS-03
SHo-06	E	512,0(R)	4,0 (S)	+	MDS-04
SHo-10	SXT	512,0(R)	1,0 (S)	+	MDS-05

Legenda: *Staphylococcus capitis* (SC); *Staphylococcus hominis* (SHo); eritromicina (E); sulfazotrim (SXT); clindamicina (DA); penicilina (PEN); ciprofloxacina (CIP); gentamicina (GEN); cefoxitina (FOX); rifampicina (RIF); cloranfenicol (CHL); moxifloxacina (MXF); oxacilina (OXA); vancomicina (VA); resistente (R); sensível (S); intermediário (I); positivo (+); negativo (-); perfil de resistência (PRA); multirresistente (MDR); não-multirresistente (MDS).

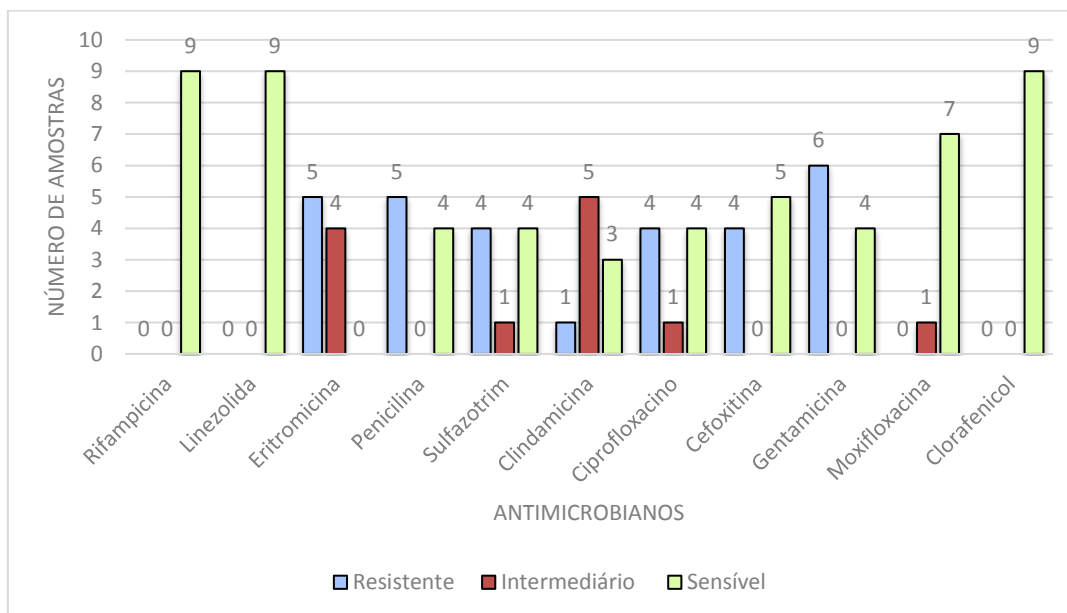
Fonte: A autora, 2021.

Figura 2 - Perfis de susceptibilidade de amostras de *Staphylococcus hominis* isoladas de fômites frente aos 11 agentes antimicrobianos pelo método de difusão em disco.



Fonte: A autora, 2021.

Figura 3 - Perfis de susceptibilidade de amostras de *Staphylococcus capitis* isoladas de fômites frente aos 11 agentes antimicrobianos pelo método de difusão em disco.



Fonte: A autora, 2021.

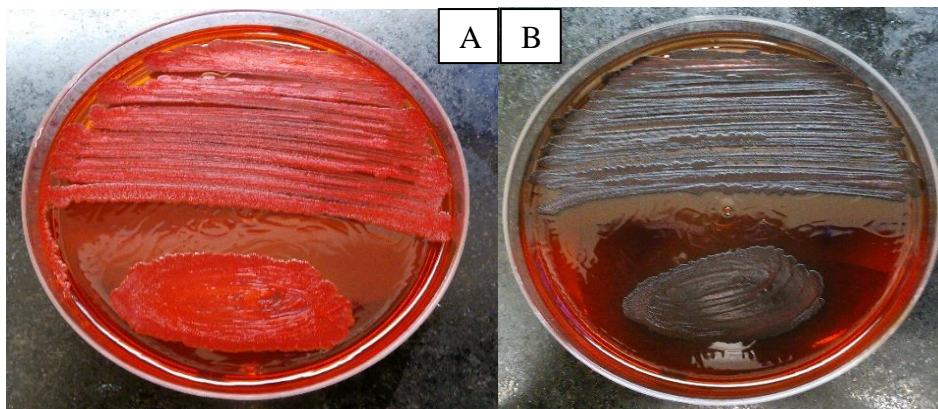
4.4 Expressão da produção de *slime* na ausência e presença de oxacilina e/ou vancomicina

Os resultados da expressão de produção de *slime* pelo método do CRA das 19 amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites, foram demonstrados no Quadro 7 além de ilustradas na Figura 4.

Das nove amostras identificadas como *S. capitis*, uma amostra MDS (SC-11/MDS-01; 11%) e seis amostras MDR (66%) foram *slime*-positivas, tanto na ausência de antimicrobianos quanto na presença de oxacilina e vancomicina. Foram isoladas quatro amostras de placa de electrocautério, uma amostra de maca, uma amostra de esfigmomanômetro e uma amostra de mesa auxiliar. Duas amostras (SC-13/MDR-08 e SC-14/MDR-10; 23%) isoladas de mesa auxiliar, *slime*-negativas, passaram a expressar *slime* na presença de vancomicina.

Das dez amostras identificadas como *S. hominis*, três amostras (30%) que apresentaram perfis MDS e quatro amostras que apresentaram perfis MDR (40%) foram *slime*-positivas tanto na ausência de antimicrobianos quanto na presença de oxacilina e vancomicina. Foram isoladas quatro amostras de esfigmomanômetro, duas de maca e uma amostra de duto de refrigeração. Duas amostras (SHo-05/MDR-06; SHo-15/MDR-11; 20%), isolada de maca, *slime*-negativa, passou a expressar *slime* na presença de vancomicina. Uma amostra (SHo-09/MDS-02; 10%) não produziu *slime* em nenhuma das circunstâncias.

Figura 4 - Representação ilustrativa de matriz exopolissacarídea (*slime*) em meio Vermelho do Congo de amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites: (A) *slime*-negativa (SHo-09) apresentando colônias vermelhas e (B) *slime*-positiva (SC-12) que exibiu colônias de cor enegrecida.



Fonte: A autora, 2021.

Quadro 7 - Produção de *slime* no meio Vermelho do Congo por amostras de *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus capitis* isolados de fômites

Amostras	PRA	Localização	Produção de <i>slime</i> no meio Vermelho do Congo			Gene <i>mecA</i>
			Sem antimicrobianos	+ ¼ CIM OXA	+ ¼ CIM VA	
SHo-06	MDS-04	Maca de transporte	+	+	+	+
SHo-07	MDS-03	Maca de transporte	+	+	+	+
SHo-10	MDS-05	Cirurgia geral (Sala 06)	+	+	+	+
SHo-09	MDS-02	Maca de transporte	-	-	-	-
SHo-05	MDR-11	Maca de transporte	-	-	+	+
SHo-15	MDR-06	Maca de transporte	-	-	+	-
SHo-08	MDR-05	Cirurgia ortopédica (sala 05)	+	+	+	-
SHo-17	MDR-01	Cirurgia vascular (sala 01)	+	+	+	-
SHo-18	MDR-04	Cirurgia vascular (sala 01)	+	+	+	-
SHo-19	MDR-02	Cirurgia vascular (sala 01)	+	+	+	-
SC-11	MDS-01	Sala 09	+	+	+	-
SC-01	MDR-03	Cirurgia ortopédica (sala 05)	+	+	+	-
SC-02	MDR-03	Cirurgia ortopédica (sala 05)	+	+	+	-
SC-12	MDR-10	Maca de transporte	+	+	+	-
SC-16	MDR-03	Cirurgia vascular (sala 01)	+	+	+	-
SC-03	MDR-09	Cirurgia ortopédica (sala 05)	+	+	+	+
SC-04	MDR-07	Cirurgia ortopédica (sala 05)	+	+	+	+
SC-13	MDR-08	Sala 09	-	-	+	-
SC-14	MDR-10	Sala 09	-	-	+	-

Legenda: *Staphylococcus capitis* (SC); *Staphylococcus hominis* (SHo); perfil de resistência (PRA); multirresistente (MDR); não-multirresistente (MDS); concentração inibitória mínima (CIM); oxacilina (OXA); vancomicina (VA); positivo (+); negativo (-).

Fonte: A autora, 2021.

4.5 Aderência e produção de biofilme no vidro na ausência e presença de oxacilina e/ou vancomicina

Os resultados da análise semi-quantitativa da aderência e produção de biofilme na superfície hidrofílica do vidro das amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites (n=19), foram demonstrados no Quadro 8.

Das nove amostras identificadas como *S. capitis*, na ausência de agentes antimicrobianos, todas (100%) foram classificadas como fortemente produtoras de biofilme (I; +++), independente da presença do gene *mecA* e produção de matriz extracelular. Interessantemente, a maioria das amostras expressando susceptibilidade a vancomicina manteve a capacidade de aderir e formar biofilme à superfície abiótica do vidro na presença de oxacilina ou vancomicina, independente da produção de matriz extracelular e do gene *mecA*, porém em intensidades variadas. Quatro amostras mantiveram a habilidade de aderir e formar

biofilme à superfície abiótica do vidro na presença de oxacilina ou vancomicina. A amostra SC-16 (MDR-03; *slime*-positiva; oxacilina-resistente) tornou-se fracamente aderente (III; +) na presença de oxacilina. Duas amostras *slime*-positivas, passaram a ser classificadas como não aderentes (IV; -) na presença de vancomicina, inclusive a amostra SC-03 identificada como vancomicina-intermediário.

Os ensaios de interação de superfícies abióticas na ausência de antimicrobianos realizados com *S. hominis*, demonstraram elevada capacidade de produção de biofilme (I; +++) no vidro para as dez amostras isoladas de fômites diversos, independente da presença do gene *mecA* e produção de matriz extracelular, a semelhança do observado para *S. capitis* (Quadro 8). Três amostras (30%), sendo duas *slime*-positivas e uma *slime*-negativa, não apresentaram mudança de perfil na presença de oxacilina ou vancomicina (I; +++)). Duas amostras *slime*-negativas, passaram a ser classificadas como fracamente aderentes (III; +) enquanto, duas *slime*-positivas foram classificadas como não aderentes (IV; -) na presença de vancomicina, inclusive a amostra SHo-07 identificada como vancomicina-intermediário. Uma amostra (SHo-10/MDS-05; *slime*-positiva), passou a ser classificada como fracamente aderente (III; +) na presença de oxacilina e vancomicina, apesar de ser identificada como oxacilina-resistente e vancomicina-sensível. Uma amostra oxacilina-resistente (SHo-17/MDR-01; *slime*-positiva) passou a ser classificada como fracamente aderente (III; +) na presença de oxacilina e como moderadamente aderente (II; ++) na presença de vancomicina e uma amostra (SHo-06/MDS-04; *slime*-positiva) passou a ser classificada como moderadamente aderente (II; ++) na presença de oxacilina e como fracamente aderente (III; +) na presença de vancomicina.

Quadro 8 - Aderência e produção de biofilme em superfície abiótica do vidro na ausência e na presença de oxacilina e vancomicina de amostras de *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus capitis* isolados de fômites

Amostras	PRA	Fômites	Slime Meio vermelho do Congo	Aderência ao vidro			Gene <i>mecA</i>
				Sem Antibiótico	+ ¼ CIM OXA	+ ¼ CIM VA	
SC-01	MDR-03	Placa eletrocautério	+	I (+++)	I (+++)	I (+++)	-
SC-02	MDR-03	Placa eletrocautério	+	I (+++)	I (+++)	I (+++)	+
SC-13	MDR-08	Mesa auxiliar	-	I (+++)	I (+++)	I (+++)	-
SC-14	MDR-10	Mesa auxiliar	-	I (+++)	I (+++)	I (+++)	-
SHo-08	MDR-05	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	I (+++)	I (+++)	-
SHo-18	MDR-04	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	I (+++)	I (+++)	-
SHo-15	MDR-06	Maca transporte	-	I (+++)	I (+++)	I (+++)	-
SHo-05	MDR-11	Maca transporte	-	I (+++)	I (+++)	III (+)	+
SHo-09	MDS-02	Maca transporte	-	I (+++)	I (+++)	III (+)	-
SC-04	MDR-07	Placa eletrocautério	+	I (+++)	I (+++)	III (+)	+
SC-11	MDS-01	Mesa auxiliar	+	I (+++)	I (+++)	III (+)	-
SHo-07	MDS-03	Maca transporte	+	I (+++)	I (+++)	IV (-)	+
SHo-19	MDR-02	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	I (+++)	IV (-)	-
SC-03	MDR-09	Placa eletrocautério	+	I (+++)	I (+++)	IV (-)	+
SC-12	MDR-10	Maca transporte	+	I (+++)	I (+++)	IV (-)	-
SHo-06	MDS-04	Maca transporte	+	I (+++)	II (++)	III (+)	+
SHo-10	MDS-05	Duto refrigeração	+	I (+++)	III (+)	III (+)	+
SHo-17	MDR-01	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	III (+)	II (++)	-
SC-16	MDR-03	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	III (+)	I (+++)	-

Legenda: *Staphylococcus capitis* (SC); *Staphylococcus hominis* (SHo); perfil de resistência (PRA); multirresistente (MDR); não-multirresistente (MDS); concentração inibitória mínima (CIM); oxacilina (OXA); vancomicina (VA); positivo (+); negativo (-); aderência ao vidro: I (+++) fortemente aderente, bactérias aderidas nas laterais do tubo de vidro e na interface entre o meio de cultura e o ar; II (++) moderadamente aderente, bactérias aderidas nas laterais do tubo de vidro; III (+) fracamente aderente, bactérias formando um anel na interface entre o meio de cultura e o ar; e IV (-) não aderente, ausência de bactérias aderidas.

Fonte: A autora, 2021.

4.6 Aderência e produção de biofilme no poliestireno na ausência e presença de oxacilina e/ou vancomicina

Os resultados da capacidade de aderência produção de biofilme na superfície do poliestireno das 19 amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites, estão demonstradas no Quadro 9.

As nove amostras identificadas como *S. capitis* foram capazes de produzir biofilme tanto na ausência, quanto na presença de oxacilina e vancomicina, porém em intensidades variadas. Na ausência de antimicrobianos, três amostras (34%) foram classificadas como fortemente aderentes (+++), quatro amostras (45%) como moderadamente aderentes (++) e duas amostras

(21%) como fracamente aderentes (+). As três amostras de *S. capitis* identificadas como fortemente aderentes ao poliestireno também foram produtoras de *slime* e independentes da presença do gene *mecA* (SC-01/MDR-03; SC-03/MDR-09; SC-04/MDR-07).

Os resultados também demonstraram que na presença de oxacilina, a única amostra (SC-01/MDR-03; *slime*-positiva) foi classificada como fortemente produtora de biofilme no poliestireno, porém *mecA*-negativa. Das demais amostras de *S. capitis* (n=8) que produziram biofilme na presença de oxacilina: quatro amostras (45%) foram moderadamente aderentes e quatro amostras (45%) foram fracamente aderentes, sendo a maioria *mecA*-negativa (n=6) e *slime* positiva.

Interessantemente, uma amostra de *S. capitis* foi caracterizada como fortemente produtora de biofilme no poliestireno na presença de vancomicina (SC-02/MDR-03; *slime*-positiva e *mecA*-positiva). Adicionalmente, foi observado um aumento da produção de biofilme de duas amostras na presença de vancomicina, SC-02 e a amostra que não expressou perfil de multirresistência, SC-11 (MDS-01; *mecA*-negativa; *slime*-positiva). Três (33.4%) amostras se apresentaram fracamente aderentes na presença de vancomicina. Vale ressaltar que a amostra *S. capitis*, SC-03, isolada de fômite, expressou perfil MDR, sendo vancomicina-intermediário e foi capaz de produzir biofilme na presença dos antimicrobianos (oxacilina e vancomicina) na mesma intensidade.

Os resultados apresentados no Quadro 9 demonstraram que as dez amostras isoladas de fômites e identificadas como *S. hominis* foram capazes de produzir biofilme na superfície hidrofóbica de poliestireno em intensidades variadas, independente da presença do gene *mecA*, produção de *slime* e expressão de perfis de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos. Todas as amostras de *S. hominis* testadas também foram capazes de produzir biofilme na superfície de poliestireno na presença de oxacilina e vancomicina, porém em intensidades variadas.

A semelhança do observado para *S. capitis* foi identificada uma amostra de *S. hominis* com perfil de susceptibilidade vancomicina-intermediário e com habilidade de produzir biofilme em poliestireno na mesma intensidade na presença de oxacilina e vancomicina (SHo-07/MDS-03, *slime*-positiva; *mecA*-positiva). Adicionalmente, foi observada produção de biofilme na presença de ambos os antimicrobianos por três amostras com perfis MDS (SHo-07, SHo-09 e SHo-10). No total de amostras produtoras de biofilme, foram identificadas, seis como *mecA*-negativas e/ou três *slime* negativas. Duas amostras vancomicina-sensíveis foram capazes de produzir maior quantidade de biofilme no poliestireno na presença deste antimicrobiano (SHo-18/MDR-04; SHo-19/MDR-02).

Quadro 9 - Aderência e produção de biofilme em superfície abiótica do poliestireno na ausência e na presença de oxacilina e vancomicina de amostras de *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus capitis* isolados de fômites

Amostras	PRA	Fômites	Slime Meio vermelho do Congo	Aderência ao vidro	Biofilme no poliestireno			Gene <i>mecA</i>
					Sem Antibiótico	+ ¼ CIM OXA	+ ¼ CIM VA	
SC-01	MDR-03	Placa eletrocautério	+	I (+++)	+++	+++	++	-
SC-03	MDR-09	Placa eletrocautério	+	I (+++)	+++	++	++	+
SC-04	MDR-07	Placa eletrocautério	+	I (+++)	+++	++	++	+
SC-02	MDR-03	Placa eletrocautério	+	I (+++)	++	++	+++	+
SC-16	MDR-03	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	++	++	+	-
SC-12	MDR-10	Maca transporte	+	I (+++)	++	+	+	-
SC-14	MDR-10	Mesa auxiliar	-	I (+++)	++	+	++	-
SC-11	MDS-01	Mesa auxiliar	+	I (+++)	+	+	++	-
SC-13	MDR-08	Mesa auxiliar	-	I (+++)	+	+	+	-
SHo-05	MDR-11	Maca transporte	-	I (+++)	++	++	++	+
SHo-06	MDR-04	Maca transporte	+	I (+++)	++	++	++	+
SHo-07	MDS-03	Maca transporte	+	I (+++)	++	++	++	+
SHo-08	MDR-05	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	++	++	++	-
SHo-15	MDR-06	Maca transporte	-	I (+++)	++	++	++	-
SHo-19	MDR-02	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	++	++	+++	-
SHo-18	MDR-04	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	++	+	+++	-
SHo-09	MDS-02	Maca transporte	-	I (+++)	++	+	+	-
SHo-17	MDR-01	Esfigmomanômetro	+	I (+++)	+	++	++	-
SHo-10	MDS-05	Duto refrigeração	+	I (+++)	+	+	++	+

Legenda: *Staphylococcus capitis*(SC); *Staphylococcus hominis* (SHo); perfil de resistência (PRA); multirresistente (MDR); não-multirresistente (MDS); oxacilina(OXA); vancomicina (VA); positivo (+); negativo (-); aderência ao vidro: I (+++) fortemente aderente, bactérias aderidas nas laterais do tubo de vidro e na interface entre o meio de cultura e o ar; poliestireno: (+++), fortemente aderente; (++) , moderadamente aderente; (+), fracamente aderente; (-), não aderente.

Fonte: A autora, 2021.

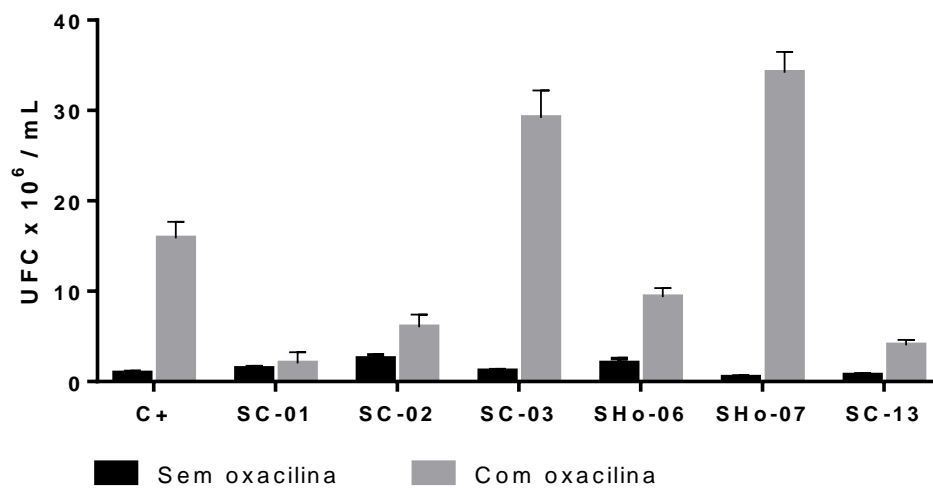
4.7 Avaliação quantitativa de aderência e produção de biofilme em superfície de metal de implante ortopédico (aço-cirúrgico)

De acordo com a Figura 5 e Quadro 10, os resultados revelaram que, todas as cepas estudadas foram capazes de produzir biofilme sobre a superfície de aço cirúrgico, em intensidades variáveis, ocorrendo um aumento expressivo na presença de oxacilina.

Interessantemente, a cepa *S. capitis* SC-03/MDR-09 isolada da sala de cirurgia ortopédica 05 e a cepa *S. hominis* SHo-07/MDS-03 isolada de maca, que circula por toda a unidade hospitalar, demonstraram maior capacidade de produção de biofilme em superfície de metal utilizado em implantes ortopédicos após 24 h na presença de oxacilina, a semelhança da cepa *S. epidemidis* ATCC 35984 utilizada como controle positivo. As demais cepas de *S. capitis*

e *S. hominis* (SC-02/MDR-03, SHo-06/MDR-04 e SC-13/MDR-08) apresentaram menor habilidade de produção de biofilme. Finalmente, em contraste ao observado para as cepas *S. capitis* SC-02 (MDR-03; *mecA*-positiva) e SC-03 (MDR-09; *mecA*-positiva), a cepa de SC-01 (MDR-03; *mecA*-negativa), embora tenha sido isolada da sala 05 de cirurgia ortopédica exibiu a menor capacidade de produção de biofilme do grupo na superfície de aço.

Figura 5 - Capacidade de produção de biofilme de cepas de *S. capitis* e *S. hominis*, sobre a superfície de aço, na ausência e presença de antimicrobiano no período de 24 horas.



Fonte: A autora, 2021.

Quadro 10 - Avaliação quantitativa da aderência e produção de biofilme em superfície de aço cirúrgico na ausência e presença de oxacilina de amostras de *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus hominis*

	Gene <i>mecA</i> / Oxacilina resistente	Controle		Oxacilina	
		Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (controle)	+ / R	0,917	±0,204	15,833	±1,835
SC-01 (MDR-03)	- / R	1,417	±0,223	2,000	±1,265
SC-02 (MDR-03)	+ / R	2,517	±0,426	6,000	±1,414
SC-03 (MDR-09/ Vanco-I)	+ / R	1,133	±0,197	29,167	±3,061
SHo-06 (MDR-04)	+ / R	2,017	±0,546	9,333	±1,033
SHo-07 (MDS-03/ Vanco-I)	+ / R	0,450	±0,164	34,167	±2,317
SC-13 (MDR-08)	- / R	0,683	±0,160	4,000	±0,632

Legenda: *Staphylococcus capitis* (SC); *Staphylococcus hominis* (SHo); multirresistente (MDR); não-multirresistente (MDS); positivo (+); negativo (-); resistente (R).

Fonte: A autora, 2021.

4.8 Análise de produção de biofilme em superfície de metal de implante ortopédico (aço-cirúrgico) por ensaios de Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os resultados das análises por MEV da produção de biofilme na ausência e presença dos antimicrobianos oxacilina e vancomicina realizados com as duas espécies *S. capitis* e *S. hominis* (SC-03 e SHo-07), foram demonstrados na Figura 6 e no Quadro 11.

Ambas as amostras vancomicina-intermediário, *S. capitis* SC-03/MDR-09 e a amostra *S. hominis* SHo-07/MDS-03, apresentaram aumento de auto agregação e de produção de biofilme, na presença de oxacilina. Interessantemente, estas mesmas característica foram observadas na presença de vancomicina para as duas amostras. Entretanto, a amostra SHo-07/MDS-03 apresentou maior capacidade de produção de biofilme na presença de vancomicina.

Nas fotomicrografias foi observada a presença de *slime* em biofilmes formados tanto pela amostra vancomicina-intermediário *S. capitis* SC-03/MDR-09, quanto a amostra *S. hominis* SHo-07/MDS-03. Foi detectado uma maior quantidade de *slime* (fenotipicamente) em biofilmes produzidos pelas amostras SC-03/MDR-09 e SHo-07/MDS-03 na presença de ambos os agentes antimicrobianos (oxacilina e vancomicina). Vale apenas ressaltar que a amostra SHo-

07/MDS-03 além de apresentar maior capacidade de produção de biofilme na presença de vancomicina também produziu grande quantidade de *slime*.

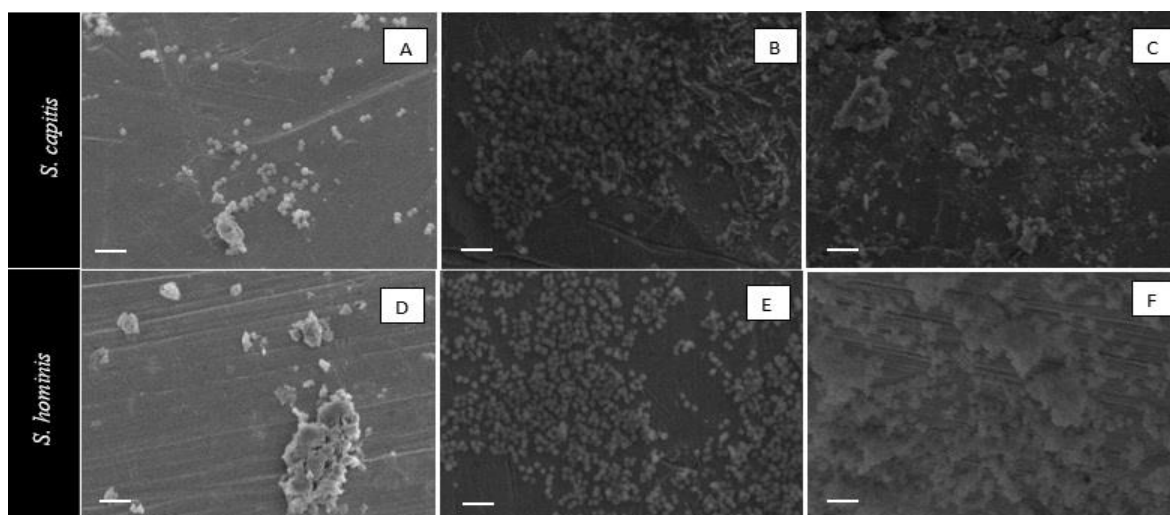
Quadro 11 - Análise de produção de *slime*/biofilme e auto-agregação em superfície de metal (aço-cirúrgico) por ensaios de Microscopia eletrônica de varredura (MEV) na ausência e presença de oxacilina e vancomicina de amostras de *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus hominis*

Amostras	Localização	Gene <i>mecA</i> / Oxa	Controle	Oxa	<i>Slime</i>	Produção de biofilme em aço (MEV)		
			Média	Média		Sem antimicrobianos	OXA	VA
SC-03 (MDR-09/Vanco-I)	Sala ortopédica 05	+ / R	1,133	29,167 (~25x)	+	Biofilme + AA+ <i>slime</i> +	Biofilme ++ AA ++ <i>slime</i> +	Biofilme +++ AA +++ <i>slime</i> +++
SHo-07 (MDS-03/Vanco-I)	Maca	+ / R	0,450	34,167 (~76x)	+	Biofilme + AA++ <i>slime</i> ++	Biofilme ++ AA +++ <i>slime</i> +	Biofilme +++ AA +++ <i>slime</i> +++

Legenda: *Staphylococcus capitis* (SC); *Staphylococcus hominis*(SHo); resistente(R); intermediário (I); multirresistente; não-multirresistente (MDS); positivo (+); autoagregativa (AA).

Fonte: A autora, 2021.

Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície do aço em interação com: (A, B e C) amostra SC-03/MDR-09 – *Staphylococcus capitis* sem antimicrobianos, na presença de oxacilina e na presença de vancomicina, respectivamente e, (D, E e F) amostra SHo-07/MDS-03 – *Staphylococcus hominis* sem antimicrobianos, na presença de oxacilina e na presença de vancomicina, respectivamente.



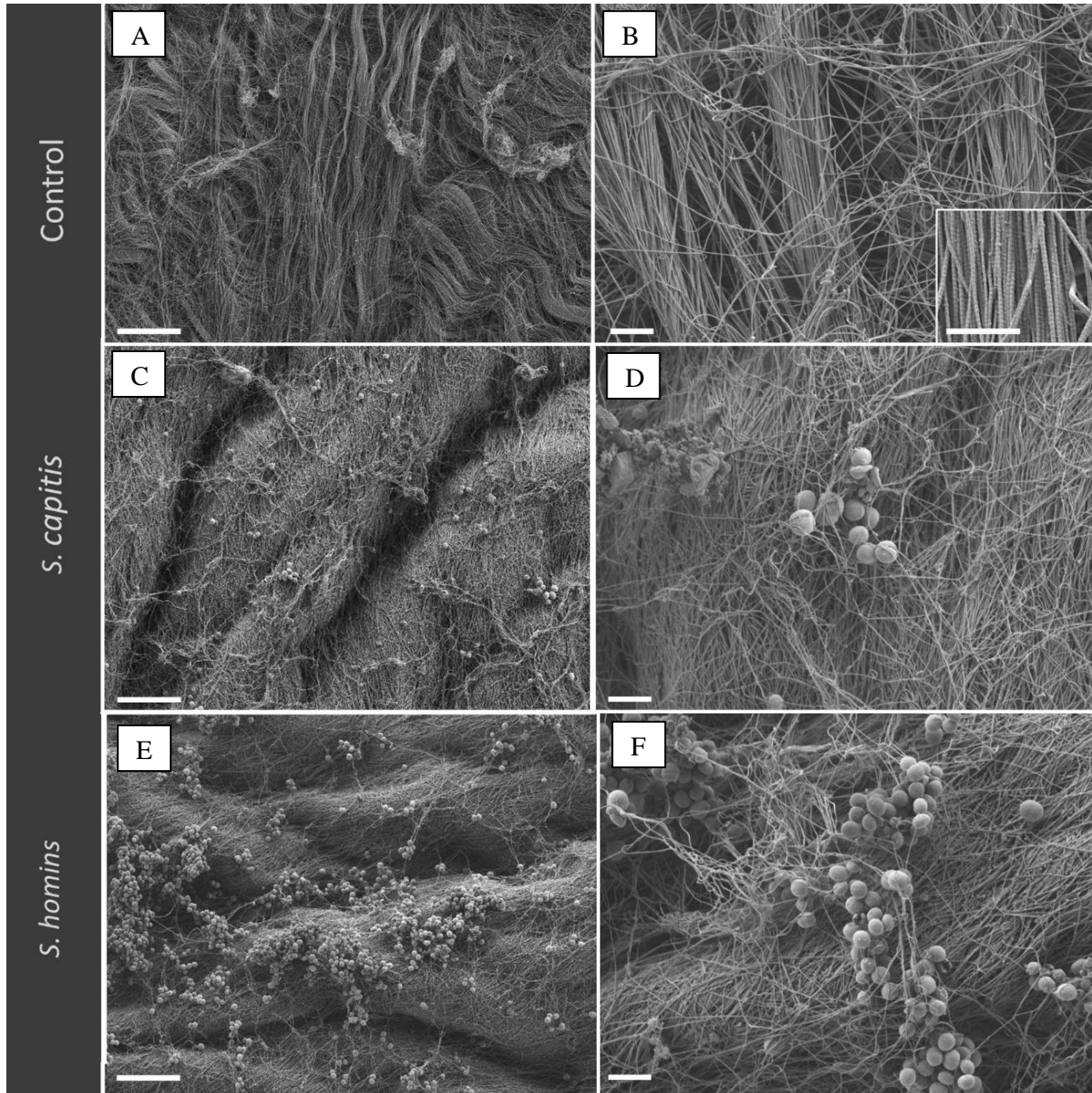
Fonte: A autora, 2021.

4.9 Análise de produção de biofilme em superfície de bioimplantes de pericárdio bovino

Os resultados das análises demonstradas por MEV da produção de biofilme na superfície de bioimplantes (*patches*) de pericárdio bovino realizados com as duas espécies *S. capitis* e *S. hominis* (SC-03/MDR-09 e SHo-07/MDS-03) foram apresentados na Figura 7. As duas cepas analisadas apresentaram células bacterianas sésseis capazes de aderir às fibras de colágenos localizados na superfície e mais internamente do biomaterial.

A produção biofilme maduro (24h) em bioimplantes (*patches*) de pericárdio bovino foi observado tanto para a amostra *S. capitis* SC-03/MDR-09, quanto para a amostra *S. hominis* SHo-07/MDS-03 em diferentes intensidades. A cepa *S. hominis*, SHo-07 (UFC $9,3 \times 10^8$ /ml) apresentou maior capacidade de produção de biofilme do que a cepa de *S. capitis*, SC-03 (UFC $1,3 \times 10^8$ /ml).

Figura 7 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície interna do pericárdio bovino em interação com: (A, B) superfície do pericárdio bovino estéril (controle negativo), (C, D) amostra SC-03/MDR-09 – *Staphylococcus capitis* isolado de placa eletrocautério e, (E, F) amostra SHo-07/MDS-03 – *Staphylococcus hominis* isolado de maca de transporte.



Fonte: A autora, 2021.

4.10 Presença de genes relacionados com a produção de biofilme

Os dados obtidos pelos ensaios de PCR para detecção da presença de genes relacionados com a produção de biofilme, foram apresentados no Quadro 12: gene *icaA*, que codifica a produção de adesina polissacarídica intercelular; gene *fbp*, relacionado a proteína ligadora de fibrinogênio; gene *atl*, relacionado a produção de autolisina de parede celular; e gene *aap*, que exerce atividade de adesina intercelular.

Das dez amostras identificadas como *S. hominis*, quatro (40%) amostras apresentaram todos os genes estudados. Interessantemente, três amostras foram classificadas com perfil MDS, incluindo a amostra SHo-07/MDS-03 que apresentou perfil de susceptibilidade intermediária à vancomicina. Adicionalmente, foi observado que as quatro amostras foram *slime* positivas e apresentaram habilidade de produção de biofilme em intensidades variadas e em superfícies diversas, inclusive em biomaterial.

Apesar das dez amostras de *S. hominis* expressarem a habilidade de produção de biofilme em intensidades variadas em superfícies abióticas diversas e em bioimplante de pericárdio bovino, apenas sete amostras foram produtoras *slime* e positivas para o gene *icaA*. Entretanto, foi observado a produção de biofilme e de *slime* para algumas amostras de *S. hominis* independentes do gene *icaA* (SHo-18/MDR-04 e SHo-19/MDR-02). Uma amostra *S. hominis* *slime*-positiva (SHo-08/MDR-04) apresentou os genes *icaA* e *aap*, enquanto duas amostras *slime*-positivas (SHo-18/MDR-04 e SHo-19/MDR-02) apresentaram apenas o gene *fbp*, e a amostra SHo-09/MDS-02 *slime*-negativa apresentou apenas o gene *atl*.

A análise das nove amostras de *S. capitis* demonstrou a presença de todos os genes estudados para cinco (55.5%) amostras produtoras de biofilme em intensidades variadas e em superfícies diversas e *slime*-positivas: quatro amostras (SC-01/MDR-03, SC-02/MDR-03, SC-12/MDR-10 e SC-16/MDR-03) classificadas com perfil MDR e uma com perfil MDS (SC-11/MDS-01). Destaca-se apenas uma amostra de *S. capitis* (SC-03/MDR-09/Vanco-I; *slime*-positiva), foi negativa para todos os genes estudados.

Em contraste, para a maioria das amostras (n=07; 77.7%) de *S. capitis* foi observada a presença do gene *icaA*, independente da produção de *slime* ou de produção de biofilme.

Interessantemente, duas amostras (SC-13/MDR-08 e SC-14/MDR-10) não produtoras de *slime* foram *icaA* positivas e variaram inversamente quanto a presença dos genes *fbp* e *atl*. Duas amostras de *S. capitis* não apresentaram o gene *aap*, sendo elas: SC-04/MDR-07; *slime*-positiva e SC-14/MDR-10; *slime*-negativa.

A análise comparativa entre as duas espécies de *S. capitis* (SC-03/MDR-09) e *S. hominis* (SHo-07/MDS-03), demonstraram que ambas são produtoras de biofilme em intensidade variadas e *slime*-positivas com perfil de susceptibilidade intermediário à vancomicina. Ressalta-se que a amostra de *S. capitis* não apresentou nenhum dos genes estudados. Entretanto, a amostra de *S. hominis* (SHo-07/MDS-03) apresentou maior capacidade autoagregativa nas fibras de colágeno na superfície biótica do bioimplante de pericárdio bovino, o que pode estar associado com a interação com o fibrinogênio que é facilitada pela proteína ligadora do fibrinogênio, codificada pelo gene *fbp*.

Quadro 12 - Detecção de genes relacionados a produção de biofilme, *icaA*, *aap*, *fbp* e *atl* em amostras de *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus capitis* isoladas de fômites

Amostras	PRA	Fômites	Slime Meio vermelho do Congo	<i>icaA</i>	<i>aap</i>	<i>fbp</i>	<i>atl</i>
SHo-10	MDS-05	Duto refrigeração	+	+	+	+	+
SHo-06	MDS-04	Maca	+	+	+	+	+
SHo-07	MDS-03	Maca	+	+	+	+	+
SHo-17	MDR-01	Esfigmomanômetro	+	+	+	+	+
SHo-08	MDR-05	Esfigmomanômetro	+	+	+	-	-
SHo-18	MDR-04	Esfigmomanômetro	+	-	-	+	-
SHo-19	MDR-02	Esfigmomanômetro	+	-	-	+	-
SHo-05	MDR-11	Maca	-	+	+	+	-
SHo-15	MDR-06	Maca	-	+	+	+	+
SHo-09	MDS-02	Maca	-	-	-	-	+
SC-16	MDR-03	Esfigmomanômetro	+	+	+	+	+
SC-12	MDR-10	Maca	+	+	+	+	+
SC-01	MDR-03	Placa eletrocautério	+	+	+	+	+
SC-02	MDR-03	Placa eletrocautério	+	+	+	+	+
SC-03	MDR-09	Placa eletrocautério	+	-	-	-	-
SC-04	MDR-07	Placa eletrocautério	+	-	-	+	+
SC-11	MDS-01	Mesa auxiliar	+	+	+	+	+
SC-13	MDR-08	Mesa auxiliar	-	+	+	-	-
SC-14	MDR-10	Mesa auxiliar	-	+	-	+	+

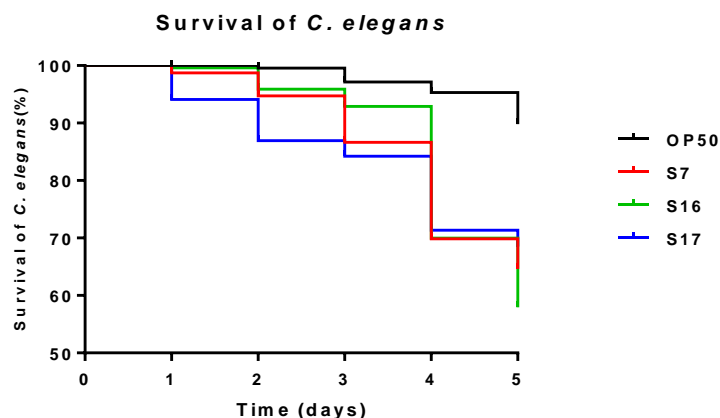
Legenda: *Staphylococcus capitis* (SC); *Staphylococcus hominis* (SHo); perfil de resistência(PRA); multirresistente (MDR); não-multirresistente (MDS); positivo (+); negativo (-).

Fonte: A autora, 2021.

4.11 Potencial de virulência de *S. capitis* e *S. hominis* empregando *Caenorhabditis elegans* como modelo de infecção

Os resultados dos ensaios de infecção em *C. elegans* com amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites do centro cirúrgico estão apresentados na Figura 8. Três amostras apresentaram biotipos semelhantes, estas foram submetidas ao processo de infecção de nematódeos: SHo-7/MDS-03, SHo-17/MDR-01 e SC-16/MDR-03. Todas as amostras diferiram da cepa controle OP50 com valores de $p < 0,0001$, revelando sua patogenicidade para o modelo nematódeo. As curvas de sobrevivência obtidas para as cepas SHo-7/MDS-03 e SC-16/MDR-03 não diferiram entre si ($p = 0,281$). A cepa SHo-17/MDR-01 foi a de efeito letal mais precoce e apresentou os menores valores de sobrevivência até o terceiro dia de observação ($p = 0,046$ e $p = 0,0036$, respectivamente frente a SHo-7/MDS-03 e SC-16/MDR-03). Contudo, ao final dos cinco dias de observação não houve diferença significativa entre o número total de óbitos induzidos pelas cepas estudadas. Em longo prazo a cepa SC-16/MDR-03 promoveu a mortalidade dos nematódeos com maior intensidade que as demais.

Figura 8 - Sobrevivência de *C. elegans* após cinco dias de infecção frente a três amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites do centro cirúrgico.



Fonte: A autora, 2021.

5 DISCUSSÃO

Nas últimas décadas, diversas espécies de SCN têm sido reportadas como agentes etiológicos de infecções nosocomiais, demonstrando um aumento no número de casos de IRAS associados a esse grupo de patógenos, sendo considerados um dos principais agentes de quadros de sepse em pacientes imunocomprometidos e portadores de dispositivos hospitalares implantáveis de longa permanência, incluindo cateteres venosos centrais e periféricos, próteses ortopédicas, válvulas cardíacas artificiais, além de outros processos infecciosos relacionados com a formação de biofilme em biomateriais (SUED *et al.*, 2017; TEVELL *et al.*, 2020). Entretanto, estudos adicionais permanecem necessários para investigar quadros de infecções nosocomiais em pacientes de diferentes faixas etárias causadas pelas espécies *S. capitis* e *S. hominis* capazes de expressar perfis MDR em países industrializados e principalmente em países em desenvolvimento, incluindo a América do Sul, onde poucos estudos são realizados. Adicionalmente, devem ser investigados mecanismos de virulência, resistência aos agentes antimicrobianos e transmissão e disseminação desses patógenos no ambiente hospitalar. Deste modo, no presente estudo foi demonstrada a presença de amostras de *S. capitis* e *S. hominis* em diferentes superfícies de salas cirúrgicas de um hospital de grande porte de atendimento de urgências e emergências, situado na região metropolitana do Rio de Janeiro. Interessantemente, foram isoladas amostras de *S. capitis* e *S. hominis* de diferentes tipos de fômites no ambiente hospitalar. A maioria das amostras de ambas as espécies apresentou perfil MDR, além de expressar a habilidade de formação de biofilme em superfícies abióticas e de biomateriais. Adicionalmente, outros patógenos de relevância clínica foram detectados em superfícies diversas dos fômites das salas cirúrgicas, incluindo o gênero *Staphylococcus* spp. como mais prevalente; *Staphylococcus haemolyticus* foi a terceira espécie mais encontrada em esfigmomanômetro, placa de eletrocautério, mesa auxiliar e maçaneta. Na mesa auxiliar da sala 09, foi isolado *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus pseudintermedius*, considerado o principal agente etiológico de infecções cutâneas em cães (piodermite canina), foi isolado no duto de refrigeração.

Em 1971, Lowbury *et al.*, relataram o primeiro caso de contaminação de dispositivos hospitalares, enquanto em 1975, Andrew *et al.*, descreveram o primeiro caso relacionado diretamente à fômites hospitalares. Na literatura, foram investigadas contaminações de fômites de diversas origens, principalmente por *S. aureus*. Recentemente foi documentado o envolvimento de *S. haemolyticus* em contaminação de fômites de origem hospitalar (SUED *et*

al.,2017). Mesquita *et al.*, (2018) ressaltaram que apesar da elevada prevalência de contaminação em fômites com bactérias do gênero *Staphylococcus* spp., as mãos podem atuar como fonte de contaminação e transmissão cruzada desses patógenos. *S. capitis* é encontrado principalmente na cabeça e braços (20%), orelhas, testa e ocasionalmente pernas (TEVELL *et al.*, 2017). *S. hominis*, a terceira espécie mais frequentemente isolada de pacientes com infecções nosocomiais, pode ser encontrada em braços, axilas e virilha (BOUCHAMI *et al.*, 2011).

Patógenos nosocomiais podem permanecer viáveis ou persistirem em superfícies abióticas e bióticas por vários meses e, portanto, foram descritos como fontes contínuas de transmissão cruzada a partir de pacientes ou trabalhadores da área de saúde. Eliminação das fontes e transmissão dos patógenos nosocomiais continuam sendo um desafio em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e salas cirúrgicas, principalmente em países em desenvolvimento. Portanto, procedimentos de biossegurança e de limpeza incompletos, ou inadequados do ambiente e dos equipamentos facilitam a transmissão de bactérias de um paciente para outro nas unidades hospitalar (KIM *et al.*, 2012; ZARGARAN *et al.*, 2015).

Em estudo previamente realizado no continente africano (Nigéria), 28,3% dos fômites isolados de sala cirúrgica foram identificados como SCN, incluindo instrumental cirúrgico, superfície de pia e de carro de anestesia (NWANKWO, 2012). Na região nordeste do Brasil, recentemente foi realizado um estudo de avaliação microbiológica das superfícies dos equipamentos do bloco cirúrgico de um hospital universitário. Surpreendentemente, 69,6% das superfícies diversas dos fômites avaliados foram caracterizados como SCN: braçadeiras, mesas cirúrgicas, oxímetros, monitor multiparâmetros, foco de luz, carrinho de anestesia (SANTOS *et al.*, 2020). Foram reportados contaminação por *S. aureus* e SCN de torniquetes ortopédicos, e por *S. epidermidis* de instrumentos utilizados para laparoscopia (BRENNAN *et al.*, 2009; SAITO *et al.*, 2014). Um elevado nível de contaminação por *S. aureus* e *S. haemolyticus* foi documentado em cassetes de raio-X (51,4%) (KIM *et al.*, 2012). Amostras de *S. haemolyticus* também foram isoladas de fômites (esfigmomanômetros e termômetros) em unidade hospitalar (HUPE/UERJ) da cidade do Rio de Janeiro (SUED *et al.*, 2017).

Na literatura disponível, foram encontrados apenas dois estudos que relataram a presença de *S. capitis* e *S. hominis* em fômites de ambientes hospitalares. Na Suécia, amostras de *S. capitis* expressando perfis MDR foram isoladas do ar de salas de cirurgia (MÅNSSON *et al.*, 2015). Por outro lado, no Brasil foram identificadas apenas amostras de *S. hominis* (7,69%) também com perfis MDR presentes em superfícies de camas de UTI de um hospital localizado em Pernambuco (ALMEIDA *et al.*, 2017). Deste modo, os dados do nosso estudo,

demonstraram a presença de *S. capitis* e *S. hominis* expressando perfis MDR, presente em fômites de ambiente hospitalar na região metropolitana do Rio de Janeiro, ressaltando a necessidade de vigilância epidemiológica no Brasil e no mundo. Adicionalmente, os resultados ressaltaram a viabilidade dos patógenos em fômites diversos em condições de estresse ambiental, incluindo a capacidade de sobrevivência a ação dos agentes antimicrobianos utilizados nas terapias, ou em processos de assepsia e higienização e além de outros. Em ambientes hospitalares, superfícies abióticas, como os colchões cirúrgicos, podem se apresentar como um significativo reservatório de patógenos e por conseguinte, aumentar o risco do surgimento das ISC (LOURENZO *et al.*, 2020).

Em nosso estudo, foram isoladas das superfícies de fômites e de dutos de ar do centro cirúrgico, um maior percentual de amostras de bactérias Gram-positivas, incluindo as amostras pertencentes ao grupo SCN.

Embora, amostras de patógenos Gram-negativos tenham sido isoladas em menor quantidade, espécies que podem causar infecções nosocomiais também foram isolados dos dutos de ar. *K. pneumoniae* foi isolada de duto de refrigeração de sala de cirurgias ortopédicas. *K. pneumoniae* pode sobreviver por muito tempo na pele e em ambientes secos, como superfícies hospitalares. Este fato pode contribuir para o número crescente de surtos hospitalares causados por *K. pneumoniae* expressando perfis MDR (SIVA *et al.*, 2019). Estudos anteriores foi observado que 40%, 53%, 80% e 60% das amostras provenientes de ar-condicionado, bancada de mármore, mesa cirúrgica e mesa de medicamentos, respectivamente, apresentaram o grupo *Staphylococcus* spp., corroborando com os dados nosso estudo (BARDAQUIM, 2012; DRESCH *et al.*, 2018). Deste modo, esses patógenos, incluindo *S. capitis* e *S. hominis* podem disseminar pelo ambiente hospitalar, contaminando os dispositivos hospitalares e ocasionando infecções em sítios cirúrgicos. A contaminação de superfícies no ambiente hospitalar pode contribuir para a incidência de infecções hospitalares através da contaminação cruzada por parte dos profissionais da saúde dos diferentes setores das unidades hospitalares.

Até pouco tempo atrás, muitos laboratórios clínicos não realizavam a identificação dos SCN até o nível de espécie, porém, devido ao crescente envolvimento com sepse, especialmente em neonatos, indivíduos imunocomprometidos e pacientes com a utilização de cateteres e próteses, essa conduta foi alterada (PEREIRA, 2018; SANTOS *et al.*, 2020). A correta identificação dos SCN a nível de espécie juntamente com a determinação de seu perfil de sensibilidade tem se tornado importante nos laboratórios de bacteriologia atualmente, uma vez que, algumas espécies possuem potencial patogênico reconhecido especialmente em isolados

nosocomiais (LAYER, 2006). Atualmente, esses micro-organismos não podem ser mais negligenciados e descartados quando isolados de quadros de coinfeção ou de fômites, principalmente quando expressando perfis MDR, conforme ainda ocorre em muitas unidades de serviços de saúde, principalmente em países em desenvolvimento.

Atualmente, ensaios de MALDI-TOF têm sido utilizados como metodologia confiável para identificação de diversos micro-organismos, incluindo espécies de SCN. Em nosso estudo, um dos métodos de identificação utilizado também foi a técnica de MALDI-TOF, dentre as 48 amostras caracterizadas como SCN, foram identificadas 10 amostras de *S. hominis* e 09 amostras de *S. capitis* (score $\geq 2,000$). A semelhança do observado por outros pesquisadores os trabalhos demonstraram que o MALDI-TOF forneceu resultados rápidos e fidedignos para a identificação de SCN (EHLERSSON *et al.*, 2017; HARRIS *et al.*, 2010; SCHUSTER *et al.*, 2018; TREVISOLI *et al.*, 2018).

A emergência e disseminação da resistência aos agentes antimicrobianos é considerado um problema de saúde pública mundial. O presente estudo demonstrou que a maioria das amostras de *S. capitis* (89%; n=8) e *S. hominis* (60%; n=6) isoladas de fômites expressou perfis MDR, podendo atuar como via de transmissão de infecções nosocomiais, além de favorecer a transferência de genes de resistência no ambiente hospitalar. Todas as amostras de *S. hominis* e de *S. capitis* isoladas de fômites foram oxacilina-resistentes. Interessantemente, as amostras *S. hominis* (SHo-07) e *S. capitis* (SC-03) apresentaram nível intermediário à vancomicina. Em estudo reportado recentemente, amostras de *S. capitis* isoladas de implantes médicos apresentaram resistência a diversos agentes antimicrobianos, incluindo suscetibilidade intermediária a vancomicina (TEVELL *et al.*, 2020). Outros estudos, descrevem que 94% e 100% das amostras identificadas como *S. hominis* e *S. capitis* isoladas de hemocultura foram multirresistentes (BOUCHAMI *et al.*, 2011; RASIGADE *et al.*, 2012; SOROUGH *et al.*, 2017). Pereira *et al.*, (2014) afirmaram que a grande parte das infecções por SCN adquirida dentro dos hospitais é causada por cepas com resistência a múltiplos antimicrobianos, como a gentamicina, trimetropim, eritromicina, cloranfenicol e metilina, o que reflete provavelmente, a pressão seletiva do uso indiscriminado de antimicrobianos no ambiente hospitalar. A resistência múltipla aos antimicrobianos tem aumentado dentre os SCN, os resistentes a metilina são encontrados em todo o mundo, e estão associados ao aumento da morbidade e mortalidade (BERGLUND; SÖDERQUIST, 2008; MARTÍNEZ-MELÉNDEZ *et al.*, 2016). Contudo, Ehlersson e *et al.*, (2017) descrevem que apenas 44% de suas amostras *S. capitis* foram multirresistentes.

O fenômeno da resistência a antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos é conhecido a mais de 50 anos. Cerca de um ano após a introdução de compostos semi-sintéticos da penicilina, foi relatada, no Reino Unido, a primeira cepa de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA). Essa resistência é devida principalmente a proteína PBP2a, codificada pelo gene *mecA*, que é altamente conservado em cepas de *Staphylococcus*, e, portanto, é útil como marcador de resistência a oxacilina (MONECKE *et al.*, 2012).

Mediante aos nossos resultados, podemos inferir que possivelmente a resistência fenotípica apresentada por isolados de *S. hominis* e *S. capitis* positivos para o gene *mecA* está associada a produção de PBPs modificadas, implicando a inibição de transpeptidases devido a presença do antimicrobiano, alterando assim a produção da parede celular bacteriana. No estudo desenvolvido por Goldstein *et al.*, (2007), a oxacilina não interferiu na expressão do gene *mecA* nos três isolados *S. aureus* resistentes que foram analisados, demonstrando a expressão deste gene e do seu produto, a PBP2a.

No estudo de Soroush *et al.*, (2017) das 256 cepas de SCN, 19 (7,4%) eram *S. hominis*; 16 (84,2%) dos quais eram resistentes à oxacilina e continham *mecA*. Esses 16 isolados resistente à oxacilina foram obtidos de hemoculturas nas seguintes enfermarias: emergência (5), oncologia (2), oftalmologia (2), unidade de terapia intensiva neonatal - UTIN (2), nefrologia (1), infecção (1) e desconhecido (1). Todos os isolados foram suscetíveis à linezolida e rifampicina e apresentaram suscetibilidade intermediária à vancomicina. Em nosso estudo, das 10 cepas de *S. hominis* e 9 de *S. capitis*, isoladas de fômites do centro cirúrgico, 100% foram resistentes à oxacilina, sendo que 30% das cepas de *S. hominis* e 33% de *S. capitis* continham *mecA*. Até o presente momento não foi encontrado na literatura disponível trabalhos publicados que relatassem a presença do gene *mecA* de *S. capitis* e *S. hominis*, independente da origem das amostras, exceto em tese de doutorado que descreveu apenas uma amostra clínica de *S. capitis* oxacilina sensível apresentando o gene *mecA* (TEIXEIRA, 2009). Portanto, estudos adicionais relacionados a resistência aos β -lactâmicos referentes aos SCN serão realizados futuramente pelo nosso grupo de pesquisa.

Alguns pesquisadores da área biomédica ressaltam a importância do Laboratório Clínico de identificar cepas de SCN oxacilina-sensíveis e oxacilina-resistentes para evitar o uso desnecessário da vancomicina nos hospitais, já que o tratamento de escolha para as infecções causadas pelos SCN oxacilina-resistente, com frequência é a vancomicina. O uso elevado de glicopeptídeos e finalmente a emergência de cepas de *S. aureus* com resistência intermediária (*Staphylococcus aureus* intermediário à vancomicina - VISA) ou resistentes (VRSA) à vancomicina fez com que ocorresse um aumento da incidência de infecções bacterianas

causadas por *Staphylococcus* multirresistentes (MRS), assim reduziram o número de opções terapêuticas e novos agentes antiestafilocócicos, tais como linezolida e tigeciclina, foram introduzidos para o tratamento dessas infecções. A recomendação é reduzir o uso indiscriminado destes antimicrobianos, pois a alta porcentagem do VRSA contribui na terapia antimicrobiana inadequada (DABUL; CAMARGO 2014; HIRAMATSU, 1998; OLUFUNMISO *et al.*, 2017; OTTO, 2013; SIEVERT *et al.*, 2002).

S. capitis, geralmente considerada uma espécie pouco virulenta tem sido relatada como causa de sepse hospitalar de início tardio nas unidades de terapia intensiva neonatal. Os dados publicados destacam a endemicidade mundial de um único clone de *S. capitis*, denominado NRCS-A, que expressa perfil de resistência a múltiplas drogas, também capaz de se adaptar sob pressão seletiva de vancomicina. O ambiente da UTI neonatal, e especialmente as incubadoras, constituem reservatório de *S. capitis* NRCS-A que podem disseminar no ambiente hospitalar (LAURENT; BUTIN, 2019). Deste modo, caso um paciente recém-nascido e internado em UTI neonatal tenha necessidade de intervenção cirúrgica poderá correr o risco de contaminação por intermédio de fômites, incluindo a incubadora.

Estudos prévios, demonstraram que todas as amostras de *S. haemolyticus* isolados de fômites analisadas, foram oxacilina-resistentes e vancomicina-sensíveis (SUED *et al.*, 2017). Amostras de *S. hominis* isoladas de hemoculturas foram oxacilina-resistentes, porém, 6, 25 % vancomicina-resistentes (SOROUSH *et al.*, 2017). Amostras de *S. hominis* (n=15) e *S. capitis* (n=1) isoladas de cateteres mostraram-se, 81,5% oxacilina-resistentes e 100% sensíveis à vancomicina (ÖCAL *et al.*, 2017). Interessantemente, as amostras de *S. hominis* e de *S. capitis* isoladas de fômites na presente investigação apresentaram resultados complementares aos observados pelos demais autores, uma vez que todas as amostras testadas foram oxacilina-resistentes e variaram quanto a susceptibilidade a vancomicina.

Um infortúnio em pacientes sob uso prolongado de dispositivos médicos implantáveis são as ocorrências de infecções causadas por patógenos formadores de biofilme, sobretudo quando expressam resistência aos agentes antimicrobianos. Nesse contexto, biofilmes são comunidades de micro-organismos capazes de aderir em superfícies bióticas e abióticas, embebidos ou não em matriz de água e exopolissacarídeos conhecidos como *slime*, tais como dispositivos hospitalares ou biomateriais (DONLAN; COSTERTON, 2002; LASA *et al.*, 2005; VUONG; OTTO, 2002).

Os ensaios de produção de *slime* em meio Ágar vermelho do Congo (CRA) são respaldados na subcultura das cepas bacterianas em BHI Ágar, adicionando sacarose e o corante vermelho do Congo. Este método é capaz de detectar a produção de *slime* de natureza

polissacarídica, através da análise visual da cor das colônias, que variam de vermelho para cepas não produtoras de *slime* e preto para cepas produtoras de *slime* (KAISER *et al.*, 2013). Diversos estudos demonstraram que SCN foram capazes de produzir substâncias extracelulares de natureza polissacarídica em superfícies abióticas, incluindo biomateriais, promovendo aderência e a formação do biofilme (VEENSTRA *et al.*, 1996; VUONG; OTTO, 2002). A produção de *slime* pode reduzir a eficácia da antibioticoterapia por ser capaz de reduzir taxa de crescimento dos SCN presentes no biofilme formado, os quais entram na fase estacionária de crescimento, provavelmente por causa da penetração incompleta de substratos metabólicos, tais como a glicose e o oxigênio (DONLAN; COSTERTON, 2002).

Infecções associadas ao biofilme são notoriamente difíceis de erradicar devido à natureza dos micro-organismos, que são capazes de resistir à ação dos antimicrobianos e do sistema imunológico do hospedeiro. Além disso, há evidência limitada, porém crescente, sugerindo que os biofilmes podem facilitar o aparecimento de resistência aos antimicrobianos. Os *Staphylococcus* podem causar uma variedade de infecções que envolvam biofilme, incluindo osteomielite, endocardite e as infecções associadas a dispositivos médicos (RYDER *et al.*, 2012).

Em nosso estudo, das nove amostras identificadas como *S. capitis*, uma amostra MDS e seis amostras MDR foram produtoras de *slime*, tanto na ausência de antimicrobianos quanto na presença de oxacilina e vancomicina. Das dez amostras identificadas como *S. hominis*, três amostras (30%) que apresentaram perfis MDS e quatro amostras que apresentaram perfis MDR (50%) foram *slime*-positivas tanto na ausência de antimicrobianos quanto na presença de oxacilina e vancomicina. Bernardi, Pizzolitto E. L., Pizzolitto, A. C. (2007) observaram que dois isolados de *S. hominis* (7,4%) foram positivos para produção de *slime*. Deste modo, nossos dados demonstraram que a maioria das amostras de ambas as espécies isoladas de fômites foi capaz de produzir *slime*. Entretanto, tanto as amostras de *S. capitis*, quanto as de *S. hominis* apresentaram diferenças quanto a capacidade de produção de *slime* de natureza polissacarídica observada em meio CRA, independente da expressão dos perfis MDR e da presença dos antimicrobianos oxacilina e vancomicina. Os resultados do presente estudo são relevantes, uma vez que não foram observados na literatura dados relativos da avaliação da produção de *slime* de amostras isoladas de fômites, nem com amostras clínicas na presença de oxacilina e/ou vancomicina, com amostras de *S. capitis* e *S. hominis*. Interessantemente, foi observado em nosso estudo que duas amostras MDR de *S. capitis* isoladas de mesa auxiliar e duas amostras MDR de *S. hominis* isoladas de maca, *slime*-negativas, passaram a expressar *slime* na presença de vancomicina. Nenhuma teve a produção de *slime* inibida na presença dos antimicrobianos

testados. Os dados sugerem que a presença de oxacilina e/ou vancomicina no meio, pode agir como um fator de estresse, de duas formas distintas: induzindo o micro-organismo a produzir o *slime* para proteção (gerando uma resistência ao antimicrobiano) ou agindo como um estimulador produção de *slime*, e conseqüente de formação de biofilme. Nos ensaios de Sued *et al.*, (2017), foi observado que na presença de doses sub-letais dos antimicrobianos, 72% (n=18) as amostras de *S. haemolyticus* continuaram a produzir *slime* na presença de oxacilina, vancomicina, linezolida, moxifloxacina e teicoplanina.

Posteriormente, nesse estudo, foi verificado que todas as amostras estudadas de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites de ambiente hospitalar foram capazes de aderir ao vidro em intensidade variada, independente da produção de *slime*. Interessantemente, e alarmantemente, a maioria das amostras de *S. capitis* e *S. hominis* vancomicina sensíveis manteve a capacidade de aderir e formar biofilme na superfície abiótica do vidro na presença de oxacilina e vancomicina, independente da produção de matriz extracelular e do gene *mecA*, porém em intensidades variadas.

Adicionalmente, todas as amostras de *S. capitis* e *S. hominis* foram capazes de formar biofilme na superfície hidrofóbica do poliestireno, tanto na ausência de antimicrobianos, quanto na presença de oxacilina e vancomicina, porém em intensidades distintas, independente da produção de *slime*. As três amostras de *S. capitis* identificadas como fortemente aderentes ao poliestireno também foram produtoras de *slime*, e independentes da presença do gene *mecA*. Deste modo, foi observado um aumento da produção de biofilme de duas amostras na presença de vancomicina, incluindo a amostra que não expressou perfil de multirresistência (*mecA*-negativa e *slime*-positiva). Na presença dos antimicrobianos (oxacilina, vancomicina), ressaltamos que a amostra *S. capitis* isolada de fômites, expressou perfil MDR, sendo vancomicina-intermediário foi capaz de produzir biofilme na mesma intensidade, contudo houve semelhança no observado a amostra de *S. hominis* (MDS, *slime* positiva e *mecA*-positiva). Adicionalmente, duas amostras de *S. hominis* (*slime*-positivas) isoladas de fômites, sendo vancomicina sensíveis foram capazes de produzir maior quantidade de biofilme no poliestireno na presença deste antimicrobiano.

Estudos comparativos de amostras de *S. haemolyticus* isoladas de sangue de neonatos e de adultos, com amostras isoladas de fômites demonstraram diferentes níveis de aderência e de formação de biofilmes em superfícies abióticas hidrofóbica (poliestireno) e hidrofílica (vidro), além de superfícies de catéter de poliuretano e silicone (PEREIRA, 2018). Segundo Sued *et al.*, (2017), todas as amostras de *S. haemolyticus* oxacilina-resistentes, isoladas de fômites foram altamente sensíveis à vancomicina. Foi observada a formação de biofilme

induzida por uma dose sub-inibitória de vancomicina por uma amostra de *S. haemolyticus* oxacilina-resistente apenas em poliestireno, enquanto, com oxacilina, facilitou a formação de biofilme em duas amostras de *S. haemolyticus* oxacilina-resistentes, nas superfícies de vidro e poliestireno. Essas descobertas com amostras de *S. haemolyticus* oxacilina-resistentes suscetíveis à vancomicina foi semelhante ao observado anteriormente em estudos que examinam os efeitos das doses sub-inibitória de vancomicina e oxacilina em formação de biofilme por VRSA (ZULFIQAR *et al.*, 2011).

Segundo Mendoza-Olazarán *et al.*, (2013), isolados clínicos de *S. hominis* 47,6% (n=10/21) foram categorizados como produtores fortes de biofilme e 23,8% (n=5/21) como produtores fracos, dados estes que contrastaram com nosso estudo, onde identificamos que 100% das amostras *S. capitis*, (n=9) aderiram ao vidro e 22,2% (n=2) aderiram fortemente ao poliestireno. Para as amostras identificadas como *S. hominis*, 100% (n=10) aderiram ao vidro e 80% (n=8) aderiram moderadamente ao poliestireno.

Nas últimas décadas, tem sido crescente o número de procedimentos utilizando biomateriais implantáveis de aço e biomembranas, uma vez que apresentam biocompatibilidade e funcionalidade no reparo tecidual. Embora essas novas tecnologias facilitem os procedimentos relacionados aos implantes, o número de infecções associadas aos dispositivos duplicou nessa nova etapa (MORAES *et al.*, 2013; SOUSA *et al.*, 2017; YAMANAKA, 2020). Fragmentos confeccionados de membrana de pericárdio bovino, denominados *patches*, vem sendo freqüentemente utilizados em procedimentos de reconstrução arterial, embora existam poucos dados reportados sobre sua capacidade de resistência as infecções (MCMILLAN *et al.*, 2012). De acordo com os resultados obtidos no presente estudo a respeito da formação de biofilme em aço e membrana de pericárdio bovino, ressalta-se que os números de células microbianas aderidas das espécies bacterianas testadas encontravam-se na faixa de biofilme maduro. Consoante a Costa K *et al.* (2016), um biofilme maduro pode levar de algumas horas até várias semanas para desenvolver-se, dependendo das condições de seu meio ambiente. Entretanto, no presente estudo foi observado que tanto os patógenos *S. capitis* e *S. hominis* foram capazes de formar biofilme no aço, utilizado em implantes ósseo, inclusive na presença de vancomicina, mesmo sendo sensíveis a este antimicrobiano. Adicionalmente, amostras de *S. capitis* e *S. hominis*, foram capazes de produzir biofilme em bioimplantes de pericárdio bovino, utilizado em diversos procedimentos cirúrgicos, tais como cirurgia cardiovascular, podendo ocasionar endocardites. Fatos esses que ressaltam a relevância dos resultados do nosso estudo, sobretudo o risco desses patógenos incluindo amostras expressando perfis MDR, serem encontrados em fômites nosocomiais disseminados em salas cirúrgicas, tais como: duto de

refrigeração e macas que circulam em todo o ambiente hospitalar, além das superfícies de mesas auxiliares, esfigmomanômetro, placa de eletrocautério, maçanetas de portas, suporte de soro, além de outros.

Os ensaios de MEV demonstraram que *S. capitis* e *S. hominis* também apresentaram aumento na formação de biofilme na superfície de aço cirúrgico, inclusive na presença de oxacilina e vancomicina. Tanto a amostra *S. capitis* SC-03 com perfil MDR, quanto a amostra *S. hominis* SHo-07 com perfil MDS, mesmo sendo vancomicina-intermediário, apresentaram maior habilidade de autoagregação e de produção de biofilme, na presença de oxacilina. Interessantemente, estas mesmas características foram observadas na presença de vancomicina para as duas amostras. Entretanto, a amostra MDS SHo-07 apresentou maior capacidade de produção de biofilme na presença de vancomicina.

A presença do antimicrobiano induz uma resposta pela liberação de sinais químicos fazendo com que ocorra o aumento da produção de biofilme determinado pelo *quorum sensing*. O *quorum sensing*, caracteriza-se pela liberação de sinais químicos secretados a partir de células, capazes de induzir diversas alterações como a regulação da expressão de genes dependentes da densidade celular (KELLER; SURETTE, 2006). A detecção de *quorum* desempenha papéis essenciais no desenvolvimento de biofilme. Bactérias patogênicas em biofilmes utilizam mecanismos de *quorum sensing* para ativar a virulência e desenvolver resistência a antimicrobianos (SAXENA *et al.*, 2019). Estudos futuros relacionados a estes fatos permanecem necessários para as espécies *S. capitis* e *S. hominis*.

Não foi encontrado na literatura disponível, estudos que investigassem a aderência de *S. capitis* e *S. hominis* aos biomateriais de pericárdio bovino. Estudos *in vitro* demonstraram que *S. epidermidis* adere preferencialmente a superfícies de materiais plásticos, enquanto *S. aureus* a superfícies metálicas (GRISTINA, 1987). Estudos iniciais de casos de cirurgias para implantes de pericárdio bovino (endarterectomia carotídea), sugeriram a ocorrência de infecções como complicações podendo comprometer a eficácia dos biomateriais e consequentemente do procedimento cirúrgico (LI *et al.*, 2011). Contudo, no estudo de Basso (2009), foi observado aumento gradual de células aderentes ao aço de *S. epidermidis* em vários intervalos de tempo (1h, 6h, 24h, 48h e 72h) sendo o pico máximo em 72 horas. Enquanto, *S. aureus* aderiu em 1 hora, aumentou em 24 horas e o pico máximo de aderência foi em 48 horas de incubação. Estes dados demonstraram que o número de células aderentes de *S. epidermidis* foi maior do que as células aderentes de *S. aureus*. Uma das razões pode ter sido devido as diferentes propriedades de virulência destes patógenos. Sendo assim, destaca-se a preocupação devido à grande capacidade de aderência das espécies em condições favoráveis para seu

crescimento, exercendo influência sobre a morbimortalidade dos pacientes contribuindo para onerar os serviços de saúde.

Estudo realizado em superfícies abióticas e nos dutos de ar de indústria de laticíneos verificou que entre as amostras de *S. capitis* e *S. hominis* não houve diferença significativa no grau de aderência nas superfícies abióticas, uma vez que todas as amostras aderiram as superfícies avaliadas, corroborando com nosso estudo (BRABES, 2005).

A virulência em isolados de *Staphylococcus* spp. é atribuída principalmente à sua capacidade de colonizar superfícies e materiais sintéticos que integram a medicina moderna e favorece a formação de biofilmes, mediado, na maioria das vezes, pelos genes encontrados no operon *icaADBC* (CAL SOLARI *et al.*, 2011; OKEE *et al.*, 2011; SILVA-FILHO, 2014; SZCZUKA; GRABSKA; KAZNOWSKI, 2015).

Estudos demonstraram que a expressão do gene *ica* leva à produção da adesina intercelular polissacarídica (PIA), e a presença do mesmo, pode explicar o papel dos vários mecanismos de adesão na patogênese da infecção. Nesse sentido, a expressão do gene *ica* e subsequente formação de biofilme em *Staphylococcus* spp. parece ser ativada por antimicrobianos β -lactâmicos, como a oxacilina (HONG *et al.*, 2016; PEREIRA-RIBEIRO *et al.*, 2019). A expressão do operon *ica* está sujeita à regulação ambiental, sendo parcialmente controlada por fatores de transcrição em resposta ao estresse causado por sub-CIMs dos antimicrobianos (BEENKEN *et al.*, 2004). Observamos em nosso estudo que a produção de biofilme e de *slime* para algumas amostras de *S. hominis* expressando perfis MDR foram independentes do gene *icaA*. Em contraste, para a maioria das amostras *S. capitis* foi observada a presença do gene *icaA*, independente da produção de *slime* ou de produção de biofilme. Pereira-Ribeiro e *et al.*, (2019), observaram que 32,2% das amostras de *S. haemolyticus* isolados de neonatos e 62,8% das amostras *S. haemolyticus* isolados de adultos não associaram a presença do gene *ica* com a formação de biofilme *in vitro*.

Por conseguinte, além do *ica*, outros genes vêm sendo estudados como importantes na produção de biofilme. Os genes *aap* e *atl*, parecem estar envolvidos no acúmulo de biofilme sob as superfícies de polímeros e na capacidade de ligação específica a estas superfícies, respectivamente. Além desses elementos, o gene *fbp*, responsável pela síntese da proteína ligadora de fibrinogênio confere ser um importante fator de virulência em infecções causadas por *Staphylococcus*, pois esta não se liga apenas ao fibrinogênio, mas também pode interferir com a agregação plaquetária e a cascata do complemento no hospedeiro. Alguns estudos afirmaram que diversos genes estão envolvidos direta e indiretamente nos mecanismos

moleculares de formação de biofilme em SCN (BARROS *et al.*, 2015; FRANÇA; CERCA, 2012; PEDROSO *et al.*, 2016; SUED-KARAM, 2018).

Em nosso estudo, observamos que quatro amostras de *S. hominis*, incluindo a amostra SHo-15/MDR-06/*slime*-negativa, e cinco amostras de *S. capitis*, apresentaram todos os genes relacionados ao biofilme estudados (*icaA*, *fbp*, *atl* e *aap*). Nenhuma amostra de *S. hominis*, foi negativa para quatro genes simultaneamente. Interessantemente, a amostra *S. capitis*, SC-03/MDR-09 (*slime*-positiva, *vanco*-I, *mecA*-positiva), não apresentou nenhum dos quatro genes relacionados ao biofilme estudados, apesar de ser fortemente produtora de biofilme tanto em superfície hidrofóbica (poliestireno), quanto em superfície hidrofílica (vidro), além de ser produtora de biofilme na superfície de aço e pericárdio bovino, demonstrando que outros mecanismos estão envolvidos na formação de biofilme, além dos genes apresentados nesse estudo e que posteriormente será estudado.

No estudo de De Silva *et al.*, (2002), das 122 cepas de *S. epidermidis* analisadas, 40% foram positivas para o operon *ica*, com produtos de PCR sendo obtidos para os genes *icaA*, *icaB*, *icaC* e *icaD*. No entanto, das 29 cepas de *S. capitis*, todas produziram um resultado positivo na PCR para os genes *icaC* e *icaD* e todas foram negativas para os genes *icaA* e *icaB*, sugerindo que um homólogo do operon existe em alguns membros de *S. epidermidis*. Sendo assim, a quantidade de biofilme produzida pode estar associada à capacidade de causar infecção por SCN, sugerindo que a regulação da expressão do biofilme pode desempenhar um papel central no processo da doença.

O uso de hospedeiros eucarióticos tem sido usado para modelar a patogênese bacteriana em mamíferos. *C. elegans* é um nematódeo de vida livre, considerado um organismo modelo por possuir um curto ciclo de vida e ter todo o genoma sequenciado, além de possuir um sistema imune inato simples. No presente estudo, o comportamento da quimiotaxia e a mortalidade foram investigadas em nematóides infectados revelando o potencial de virulência de *S. capitis* e *S. hominis* para o modelo nematódeo. Observamos que todas as amostras foram capazes de causar a morte *C. elegans*, porém em intensidades variadas em relação ao tempo de infecção. Jebamercy e Balamurugan (2012) indicaram que, em comparação com OP50, a porcentagem de sobrevivência de *C. elegans* durante infecções sequenciais por *S. aureus* e *Proteus mirabilis* foi significativamente menor ($p \leq 0,05$) do que a dos controles OP50 pré-infectados por *P. mirabilis* e *S. aureus*. Entretanto, Antunes *et al.*, (2016) e Sued-Karam (2018), observaram nos seus ensaios que das suas amostras de três espécies de *Corynebacterium* e amostras *S. haemolyticus*, respectivamente, foram capazes de matar os nematódeos em intensidades variadas.

Não há, na literatura, estudos que relatam correlações entre o tipo de fômites, perfis de resistência e capacidade de produção de biofilme das amostras de *S. capitis* e *S. hominis*. Também não há na literatura, estudos que correlacionem fômites com setores hospitalares. No presente estudo, isolamos *S. capitis* e *S. hominis* de quatro salas cirúrgicas diferentes e no centro cirúrgico, o que indica que estes micro-organismos estão disseminados, sendo os fômites, importantes vias de transmissão, já que observamos que podem adsorver e abrigar micro-organismos.

A resistência cruzada entre patógenos no ambiente hospitalar é um grave problema, uma vez que representa uma transferência de micro-organismos presentes nestes ambientes, entre pacientes, através de instrumentos hospitalares. Devemos então, dar mais importância e atenção aos fômites, tanto de origem hospitalar, quanto de outras origens (como celulares, canetas, jalecos, entre outros), pois já são reconhecidos como importantes fontes de transmissão e reservatório de micro-organismos. Os fômites hospitalares utilizados no presente estudo, são amplamente utilizados em hospitais e deveriam ter uma melhor desinfecção para que houvesse a tentativa de diminuir o problema da disseminação destes micro-organismos.

Tanto os mecanismos específicos de resistência aos antimicrobianos, como os mecanismos envolvidos na formação dos biofilmes, precisam ser considerados para o desenvolvimento de novas terapias antibacterianas. O reconhecimento de *S. hominis* e *S. capitis* como agentes patogênicos nosocomiais devem estimular pesquisas envolvendo o desenvolvimento de métodos mais precisos para sua identificação e caracterização molecular, bem como o estudo de seus fatores de virulência.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitiriam as seguintes conclusões:

- a) as macas que circulam por todo o hospital corroboram para a disseminação dos micro-organismos em todos os setores, contribuindo assim para o aumento nos índices de IRAS e infecções do sítio cirúrgico, sendo importantes causas de morbidade e mortalidade. Foram encontrados micro-organismos Gram-positivos e/ou Gram-negativos em todos os fômites, de todas as salas estudadas, incluindo o Centro Cirúrgico;
- b) a correta identificação de *S. capitis* e *S. hominis* são essenciais para a efetiva terapia antimicrobiana e também são fundamentais na vigilância, controle e prevenção de surtos de *Staphylococcus* resistentes aos agentes antimicrobianos. A técnica molecular de MALDI-TOF exibe maior eficácia na identificação, além da vantagem de fornecer uma identificação fidedigna e resultados rápidos, obtidos em apenas alguns minutos e utilizando uma pequena quantidade de inóculo;
- c) foram descritos diversos perfis de resistência (MDR) dentre as amostras de *S. capitis* e *S. hominis*. Todas as amostras foram oxacilina-resistentes e apenas uma amostra de cada espécie, apresentou resistência intermediária a vancomicina. Diversas amostras de ambas as espécies, não apresentaram o gene *mecA*, demonstrando que a resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos pode estar ligada a outros fatores;
- d) a relação entre a produção de *slime* com a positividade do teste do CRA foi observada em amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites. Entretanto, a produção de *slime* foi negativa em algumas oportunidades;
- e) a presença de genes relacionados com a produção de biofilme - *icaA*, *aap*, *fbp* e *atl* - foi observada em diversas amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites pertencentes a diferentes perfis MDR e MDS;
- f) amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites, apresentam diversidade quanto a capacidade de formação de *slime* e diferentes níveis de aderência e produção de biofilme em superfícies abióticas hidrofílica (vidro) e hidrofóbica (poliestireno). Amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de

fômites, podem ser *ica*-independentes além de formarem biofilme independente dos perfis de resistência aos antimicrobianos;

- g) observou-se que as amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites estudadas, possuem capacidade de aderência em superfícies abiótica de metal (aço-cirúrgico) e superfície biótica de pericárdio bovino, com perspectiva de causar infecções hospitalares. Destaca-se a importância de estudos futuros a fim minimizar o risco de adesão microbiana e desta forma evitar possível contaminação durante os procedimentos cirúrgicos;
- h) oxacilina e vancomicina não inibiram a formação de biofilme por amostras oxacilina-resistentes e vancomicina-sensíveis/vancomicina-intermediárias em superfícies abióticas de vidro, poliestireno e metal (aço-cirúrgico), ressaltando que algumas amostras tiveram o nível de produção de biofilme aumentado na presença destes antimicrobianos. O processo de formação do biofilme tem suas complexidades e os mecanismos não foram totalmente elucidados para *S. hominis* e *S. capitis*. São necessários mais estudos para definir os papéis de diferentes componentes dos biofilmes e como eles são regulados, particularmente na presença de agentes antimicrobianos;
- i) através da MEV, foi possível observar o aumento de auto agregação na presença de oxacilina e vancomicina, em superfície de metal de implante ortopédico (aço-cirúrgico), para as amostras estudadas;
- j) a capacidade de produzir biofilme e a notória multirresistência aos agentes antimicrobianos, incluindo os β -lactâmicos e glicopeptídeos, favorece *S. capitis* e *S. hominis* como potencial causador de infecções de sítio cirúrgico;
- k) amostras de *S. capitis* e *S. hominis* isoladas de fômites foram capazes de causar a morte de *C. elegans*, em intensidades variadas e crescentes, em relação ao tempo de infecção. Não foi possível correlacionar a patogenicidade das amostras testadas com o perfil de resistência aos agentes antimicrobianos, a presença dos genes *mecA* e *icaA*, a produção de *slime* e a produção de biofilme em superfícies abióticas;
- l) os fômites podem estar determinando um efeito seletivo na forma de favorecimento de amostras mais aderentes aos diversos materiais. Ressalta-se que os fômites são importantes vias de transmissão, visto que observamos que estes podem adsorver e abrigar micro-organismos;

m) neste estudo não foi possível correlacionar o tipo de fômite, a resistência e a aderência em diversas superfícies, os setores hospitalares com as amostras testadas de *S. hominis* e *S. capitis*.

A elevada incidência de patógenos oportunistas nosocomiais multirresistentes têm sido relatado como um problema mundial, onde os SCN, têm se mostrado cada vez mais importantes neste cenário, devido ao fato de estarem envolvidos em infecções associadas a dispositivos hospitalares e aos fômites. Dentre a maioria das IRAS que tem como fonte de contaminação a pele e as mucosas e, como porta de entrada esses dispositivos hospitalares, a identificação desses SCN é de extrema importância para o conhecimento das características fisiopatológicas, clínicas e em estudos epidemiológicos.

Podemos sugerir como medidas profiláticas, a conscientização da equipe multidisciplinar em relação à adequada higienização das mãos; uso de equipamentos de proteção individual, uniformes adequados, higienização e esterilização dos equipamentos médico hospitalares. É muito importante realizar a prática de higienização de superfície e manuseio do lixo hospitalar de forma apropriada. Além de evitar ao máximo, o trânsito excessivo de pessoas na sala de cirurgia, mantendo as portas fechadas. Para a minimização de IRAS, é necessário a climatização adequada das salas do centro cirúrgico, constante atenção à manutenção dos filtros de ar-condicionado, cooperando para a prevenção da disseminação de micro-organismos potencialmente patogênicos.

Observamos a importância de pesquisas em diferentes locais no controle da infecção nos serviços de saúde, principalmente no centro cirúrgico, pois a presença de micro-organismos neste setor pode sugerir falhas de desinfecção, além disso, aponta que precisa ser implantada a intervenção da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH).

Almejamos dar continuidade no estudo desta pesquisa nos aspectos multifatoriais da virulência de *S. capitis* e *S. hominis*, bem como seus fatores de resistência, além da produção de biofilme em outras superfícies, pois a disseminação e resistência dessas amostras são informações relevantes.

REFERÊNCIAS

ANJOS, K. F. L. **Avaliação da biocompatibilidade e da propriedade bactericida de nanotubos de dióxido de titânio impregnados com lectina e nanopartículas de prata para aplicações biomédicas**. 2015. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Critérios Diagnósticos de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Brasília, DF: ANVISA, 2017. Disponível em: http://www.saude.gov.br/upload/controleinfeccoes/pasta5/novo/novos_criterios_diagnosticos_nacionais_iras_2017.pdf. Acesso em: 05 set. 2019

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Curso Básico de Controle de Infecção Hospitalar: Principais Síndromes Infeciosas Hospitalares**. Brasília, DF: ANVISA, 2000.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. Salvador: ANVISA, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/microbiologia/introducao.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2018

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 2.616, de 12 de maio de 1998. Estabelece as diretrizes e normas para a prevenção e controle das infecções hospitalares. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 maio 1998. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616_12_05_1998.html. Acesso em: 18 jun. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Sítio Cirúrgico Critérios Nacionais de Infecções relacionadas à assistência à saúde**. Brasília, DF: ANVISA, 2009. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/criterios_nacionais_isc.pdf. Acesso em: 26 jun. 2018

ALLISON, D. G., *et al.* Extracellular products as mediators of the formation and detachment of *Pseudomonas fluorescens* biofilms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 167, n. 2, p. 179–184, 1988.

AL GHAMDI, A. K., *et al.* Bacterial contamination of Saudi "one" Riyal paper notes. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 42, n. 2, p. 711-716, 2011.

ALMEIDA, K. R., *et al.* *Staphylococcus* spp. resistentes em hemoculturas e superfícies hospitalares e a segurança do paciente. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 7, n. 4, p. 260-266, 2017.

ANDREW, D. E., BUMSTEAD, E., KEMPTON, A. G. The role of fomites in the transmission of vaginitis. **Canadian Medical Association Journal**, v. 112, p. 1181-1183, 1975.

ANJOS, P. P., *et al.* Análise microbiológica de fômites de funcionários de um hospital. **Revista Expressão Católica Saúde**, v. 3, n. 1, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.25191/recs.v3i1.2217>

ANTUNES, A. L. S., *et al.* High vancomycin resistance among biofilms produced by *Staphylococcus* species isolated from central venous catheters. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 1, p.51-55, 2011.

ANTUNES, C. A., *et al.* *Caenorhabditis elegans* star formation and negative chemotaxis induced by infection with *corynebacteria*. **Microbiology**, v. 162, n. 1, p. 84-93, 2016.

APARNA, M. S. D., YADAV, S. Biofilms: Microbes and Disease. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 6, p. 526-530, 2008.

ARAÚJO, L. G. **Produção de biofilme, detecção dos genes *icaAD*, *atlE* e *aap* e resistência aos antimicrobianos em cepas de *Staphylococcus epidermidis* resistentes a metilina (MRSE)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.

ARCHER, G. L., CLIMO, M. W. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 38, n. 10, p. 2231-2237, 1994.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENFERMEIROS DE CENTRO CIRÚRGICO, RECUPERAÇÃO ANESTÉSICA E CENTRO DE MATERIAL E ESTERILIZAÇÃO. **Manual de Práticas Recomendadas da SOBECC**. 6. ed. São Paulo: SOBECC, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENFERMEIROS DE CENTRO CIRÚRGICO, RECUPERAÇÃO ANESTÉSICA E CENTRO DE MATERIAL E ESTERILIZAÇÃO. **Práticas Recomendadas: centro cirúrgico, recuperação pós-anestésica, centro de material e esterilização**. 5. ed. São Paulo: SOBECC; 2009.

ASSIS, D. B., *et al.* **Análise dos dados do Sistema de Vigilância de Infecção Hospitalar do Estado de São Paulo – Ano 2010**. Disponível em:
<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/ih/pdf/ih11-dados10.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2018.

BANDRES, J. C., DAROUICHE, R. O. *Staphylococcus capitis* endocarditis: a new case of an old disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 14, p. 366-367, 1992.

BANASZKIEWICZ, S., *et al.* Genetic diversity of composite enterotoxigenic *Staphylococcus epidermidis* pathogenicity islands. **Genome Biology and Evolution**, v. 26, p. 1-31, 2019.

BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray, P. R., *et al.*, ed. **Manual of Clinical Microbiology**. Washington: American Society Microbiology. 2003.

BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia. Lisboa, 2013.

BARBER, M., ROZWADOWSKA-DOWZENKO, M. Infection by penicillin-resistant staphylococci. **The Lancet Journals**, v. 2, n. 6530, p. 641-644, 1948.

BARDAQUIM, V. A. **Incidência microbiana e medidas preventivas de contaminação em superfícies de um centro cirúrgico**. 2012. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

BARROS, E. M., *et al.* Phenotypic and genotypic characterization of biofilm formation in *Staphylococcus haemolyticus*. **Current Microbiology**, v. 70, n. 6, p. 829-34, 2015.

BASSO, A. C. **Aderência bacteriana: estudo in vitro de superfície de aço inoxidável e liga de titânio-alumínio-vanádio de uso ortopédico**. 2009. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

BECKER, K., HEILMANN, C., PETERS, G. Coagulase-negative Staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, p. 870–926, 2014.

BEENKEN, K. E., *et al.* Global gene expression in *Staphylococcus aureus* biofilms. **Journal of Bacteriology**, v. 186, p. 4665–4684, 2004.

BENACHINMARDI, K. K., RAVIKUMAR, R., INDIRADEVI, B. Role of biofilm in cerebrospinal fluid shunt infections: a study at tertiary neurocare center from south India. **Journal of Neurosciences in Rural Practice**, v. 8, n. 3, p. 335-341, 2017.

BERDITSCH, M., *et al.* Supreme activity of gramicidin S against resistant, persistent and biofilm cells of *staphylococci* and *enterococci*. **Scientific Reports**, v. 29, n. 9, p. 17938, 2019.

BERNARDI, A. C. A., PIZZOLITTO, E. L., PIZZOLITTO, A. C. Identificação de cocos aeróbios Gram-positivos, catalase positiva com implicação em processos infecciosos. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 22, p. 223-238, 2005.

BERNARDI, A. C. A., PIZZOLITTO, E. L., PIZZOLITTO, A. C. Detecção da produção de slime por estafilococos coagulase-negativa isolados de cateter venoso central. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 57-66, 2007.

BERGLUND, C., SÖDERQUIST, B. The origin of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated at a neonatal ward in Sweden-possible horizontal transfer of a staphylococcal cassette chromosome *mec* between methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, n. 11, p. 1048-1056, 2008.

BERTHOLOM, C. Infections néonatales à *Staphylococcus capitis*: endémie mondiale du clone NRCS-A. **OptionBio**, v. 543, p. 543-544, 2016.

BOUCHAMI, S., *et al.* Molecular epidemiology resistant to methicillin *Staphylococcus hominis* (MRSHo): Low clonality and reservoirs of SCC*mec* structural elements. **PLoS ONE**, v. 6, n. 7, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021940>

BOWDEN, M. G., *et al.* Identificação e caracterização preliminar de proteínas ancoradas na parede celular de *Staphylococcus epidermidis*. **Microbiology**, v. 151, p. 1453-1464, 2005.

BRABES, K. C. S. **Identificação e capacidade de adesão de *Staphylococcus spp.* isolados de manipuladores, superfícies e ar de ambientes de uma indústria de laticínios.** 2005. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2005.

BRENNAN, S. A., *et al.* Tourniquets and exsanguinators: a potential source of infection in the orthopedic operating theater? **Acta Orthopaedica**, v. 80, p. 251-255, 2009.

BRUNTON, L. **Manual de Farmacologia e Terapêutica.** 11 ed. Porto Alegre: Mc Graw Hill, 2010.

CAI, J. C., *et al.* Linezolid-resistant clinical isolates of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci and *Enterococcus faecium* from China. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, p. 1568-73, 2012.

CALSOLARI, R. A. O., *et al.* Determination of toxigenic capacity by reverse transcription polymerase chain reaction in coagulase-negative *staphylococci* and *Staphylococcus aureus* isolated from newborns in Brazil. **Microbiology and Immunology**, v. 55, n. 6, p. 394-407, 2011.

CAMERON, D. R., *et al.* Insights on virulence from the complete genome of *Staphylococcus capitis*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1-12, 2015.

CARDUCCI, A., *et al.* Detection and potential indicators of the presence of hepatitis C virus on surfaces in hospital settings. **Letters in Applied Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 189-93, 2002.

CARPENTIER, A., *et al.* Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 58, n. 4, p. 467-83, 1969.

CASTELANI, L. **Uso de bacteriocina e nanofragmentos de lípidos catiônicos contra *Staphylococcus spp.* Resistentes isolados de mastite bovina.** Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (US). **CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific Types of Infections.** Atlanta, US: CDC, 2014.

CHAIEB, K., MAHDOUNAI, K., BAKHROUF, A. Detection of *icaA* and *icaD* loci by polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit. **Journal of Hospital Infection**, v. 61, p. 225-230, 2005.

CHAMBERS, H. F. Methicillin resistance in Staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. **Clinical Microbiology**, v. 10, p. 781-791, 1997.

CHANG, M. R., *et al.* Surveillance of pediatric infections in a teaching hospital in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 7, n. 2, p. 149-160, 2003.

CHAVES, F., *et al.* Nosocomial spread of a *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus* strain causing sepsis in a neonatal intensive care unit. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 4877–4879, 2005.

CHAUHAN, V. M., PRITCHARD, D. I. Haematophagic *Caenorhabditis elegans*. **Parasitology**, v. 146, n. 3, p. 314–320, 2019.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Zone diameter and MIC interpretive standards for *Staphylococcus* spp. **Documentos: M02-A10, M02-A11 e M07-A9**, v. 32, n. 3, 2017. Disponível em: <http://Users/revas/Downloads/01-CLSI-M02-A11-2012.pdf> Acesso em 18/10/2021.

CONE, L. A., *et al.* *Staphylococcus capitis* endocarditis due to a transvenous endocardial pacemaker infection: Case report and review of *Staphylococcus capitis* endocarditis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 9, p. 335-339, 2005.

COSTA, C. B. **Anatomohistopatologia de implantes de pericárdio bovino conservados em diferentes concentrações de glutaraldeído em parede abdominal de camundongos**. 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

COSTA, C. B., SILVA, M. F. A., ANDRADE, G. B. Aspectos patológicos do implante de pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído e pela glicerina em parede abdominal de camundongos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1383, 2016.

COSTA, K. A. D., *et al.* Formação de biofilmes bacterianos em diferentes superfícies de indústrias de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 2, p. 75-82, 2016.

COSTERTON, J. W., STEWART, P. S., GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v. 284, n. 5418, p. 1318-1322, 1999.

CUI, B., *et al.* Differences between Two clinical *Staphylococcus capitis* subspecies as revealed by biofilm, antibiotic resistance, and pulsed-field gel electrophoresis profiling. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 9-14, 2013.

CUNHA, M. L. R. S., *et al.* Clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from neonates. **Journal of Pediatric**, v. 78, n. 8, p. 279-288, 2002.

CUNHA, M. L. R. S. ***Staphylococcus aureus* e estafilococos coagulase-negativa: virulência, resistência aos antimicrobianos e epidemiologia molecular**. 2012. Dissertação (Mestrado em Livre-docência em Microbiologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2012.

DAGA, B., RIVERA, G., BOERI, R. Review of the regulations for the use of stainless steel for orthopedic implants in implants in Argentina. **Journal of Physics**, v. 90, p. 1-6, 2007.

DABUL, A. N. G., CAMARGO, I. L. B. C. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to tigecycline and daptomycin isolated in a hospital in Brazil. **Epidemiology and Infection**, v. 142, n. 3, p. 479-483, 2014.

DAROUICHE, R. O. Treatment of infections associated with surgical implants. **New England Journal of Medicine**, v. 350, p. 1422-1429, 2004.

DE SILVA, G. D., *et al.* The *ica* operon and biofilm production in coagulase-negative Staphylococci associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit. **Journal Clinical Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 382-8, 2002.

DISEGI, J. A., ESCHBA, C. H. L. Stainless steel in bone surgery. **Injury**, v. 31, n. 4, p. 2-6, 2000.

DONLAN, R. M., COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Journal Clinical Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002.

DRESCH, F., *et al.* Contaminação de superfícies localizadas em unidades de terapia intensiva e salas de cirurgia: uma revisão sistemática da literatura. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 1, p. 85-91, 2018.

EHLERSSON, G., *et al.* Phenotypic characterization of coagulase negative staphylococci isolated from blood cultures in newborn infants, with a special focus on *Staphylococcus capitis*. **Acta Paediatrica**, v. 106, p. 1576-1582, 2017.

EHRlich, G. H., *et al.* Engineering approaches for the detection and control of orthopaedic biofilm infections. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 437, p. 59-66, 2006.

EMORI, T. G. National nosocomial infections surveillance system: Description of surveillance methods. **American Journal of Infection Control**, v. 19, n. 1, p. 19-35, 1991.

ETCHEBEHERE, A. *et al.* Metrologia participa do Controle de Infecções hospitalares Cuidando da Qualidade do ar. In: SIMPÓSIO DE METROLOGIA NA ÁREA DA SAÚDE, 2005, São Paulo. **Anais [...]**. São Paulo: Rede Metrológica do Estado de São Paulo, 2005. p. 1-6

BRAYNER, A. R. A.; MEDEIROS, C. B. Incorporação do tempo em SGBD orientado a objetos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BANCO DE DADOS, 9., 1994, São Paulo. **Anais [...]**. São Paulo: USP, 1994. p. 16-29.

FELIX JUNIOR, L. F. Infecção por *Staphylococcus aureus* resistência a oxacilina: revisão da literatura. **Especialização em Pediatria**. Brasília, DF: Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, 2007.

FERNANDES, A. T. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004.

FERREIRA, A. M., *et al.* Condition of cleanliness of surfaces close to patients in an intensive care unit. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v. 19, n. 3, p. 557-64, 2011.

FERREIRA, L. L., *et al.* Cuidado de enfermagem nas Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde: Scoping review. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 72, n. 2, p. 498-505, 2019.

FITZGIBBON, J. E., *et al.* A sequence variant of *Staphylococcus hominis* with a high prevalence of oxacillin and fluoroquinolone resistance. **Research in Microbiology**, v. 152, n. 9, p. 805–810, 2001.

FONSECA, R. M. P. **Revisão integrativa da pesquisa em enfermagem em Centro Cirúrgico no Brasil: trinta anos após o SAEP**. 2008. Dissertação (Mestrado em Enfermagem na Saúde do Adulto) – Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

FRANÇA, A., CERCA, N. Biofilmes de *Staphylococcus* em dispositivos médicos. **Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia**, v. 6, p. 2-4, 2012.

FREDHEIM, E. G. A., *et al.* Biofilm formation by *Staphylococcus haemolyticus*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 1172-1180, 2009.

FREEMAN, J., *et al.* Birth weight and length of stay as determinants of nosocomial coagulase-negative staphylococcal bacteremia in neonatal intensive care unit populations: potential for confounding. **American Journal of Epidemiology**, v. 132, n. 6, p. 1130-40, 1990.

FREITAS, A. P. C. B., *et al.* Brinquedos em uma brinquedoteca: um perigo real. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, p. 291-294, 2007.

FRIBERG, B., FRIBERG, S., BURMAN, L. G. Inconsistent Correlation between aerobic bacterial surface and air counts in operating rooms with ultra clean laminar air flows: proposal of a new bacteriological standard for surface contamination. **Journal of Hospital Infection**, v. 42, n. 4, p. 287-293, 1999.

GALLIMORE, C. I., *et al.* Asymptomatic and symptomatic excretion of noroviruses during a hospital outbreak of gastroenteritis. **Journal of Clinical Microbiology**, p. 42, n. 5, p. 2271-2274, 2004.

GOLDSTEIN, F., *et al.* Identification and phenotypic characterization of a beta-lactam-dependent, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 51, n. 7, p. 2514–2522, 2007.

GRISTINA, A. G. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue intergation. **Science**, v. 237, p. 1588-1595, 1987.

GRITTEM L. **Sistematização da assistência perioperatória**: uma tecnologia de enfermagem. 2007. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2007.

HARRIS, L. G., *et al.* Rapid identification of staphylococci from prosthetic joint infections using MALDI-TOF mass-spectrometry. **The International Journal of Artificial Organs**, v. 33, n. 9, p. 568-574, 2010.

HERBST, R. H., MERRICKS, J. W. *Staphylococcus albus* septicemia following nephrolithotomy: recovery with penicillin. **Journal of the American Medical Association**, v. 127, n. 9, p. 518-519, 1945.

HERNÁNDEZ, B. D., *et al.* Production of *ica*A_{DB}C-encodded polysaccharide intercellular adhesion and therapeutic failure in pediatric patients with staphylococcal device-related infections. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, n. 68, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-68>.

HIDRON, A. I., *et al.* Annual Update: Antimicrobial-resistant pathogens associated with health care associated infections: annual summary of data reported to the national healthcare safety network at the centers for disease control and prevention, 2006-2007. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 29, n. 11, p. 996-1011, 2008.

HIRAMATSU, K., *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 40, n. 1, p. 135-136, 1998.

HOPE, I. A. Background on *Caenorhabditis elegans*. In: HOPE, I. A., ed. **C. elegans.: A Practical Approach**. New York: Oxford University Press, 1999. p. 97-100

HONG, J., *et al.* Complete genome sequence of biofilm-forming strain *Staphylococcus haemolyticus* S167. **Genome Announcements**, v. 4, 2016. DOI: <https://10.1128/genomeA.00567-16>

IONESCU, I. M., TANDON, A. P. The Ionescu-Shiley pericardial xenograft heart valve. **Cardiovascular Diseases**, v. 6, n. 3, p. 201, 1979.

JEBAMERCY, G., BALAMURUGAN, K. Effects of sequential infections of *Caenorhabditis elegans* with *Staphylococcus aureus* and *Proteus mirabilis*. **Microbiology and Immunology**, v. 56, n. 12, p. 825-835, 2012.

JELJASZEWICZ, J., MLYNARCZYK, G., MLYNARCZYK, A. Antibiotic resistance in gram-positive cocci. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 16, p. 473-478, 2000.

JIMÉNEZ, J. N., *et al.* Characterisation of virulence genes in methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a paediatric population in a university hospital of Medellín, Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 8, p. 980-985, 2011.

JUKIC, N. B. Acute peritonitis caused by *Staphylococcus capitis* in a peritoneal dialysis patient. **Peritoneal Dialysis International**, v. 37, n. 1, p. 115-116, 2017.

KALETTA, T., HENGARTNER, M. O. Finding function in novel target: *C. elegans* as a model organism. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, p. 387-98, 2006.

KARAM, F. C., LOPES, M. H. I. Ortopedia: origem histórica, o ensino no Brasil e estudos metodológicos pelo mundo. **Scientia Medica**, v. 15, n. 3, p. 172-178, 2005.

- KAISER, T. D., *et al.* Evaluation of methods commonly used in laboratories to determine the susceptibility to oxacillin among *Staphylococcus* sp samples isolated from a hospital in Vitória, State of Espírito Santo. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 3, p. 298-303, 2010.
- KAISER, T. D. L., *et al.* Modification of the Congo red agar method to detect biofilm production by *Staphylococcus epidermidis*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 75, p. 235-239, 2013.
- KAUFMAN, D., FAIRCHILD, D. Clinical microbiology of bacterial and fungal sepsis in very-low-birth-weight infants. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, p. 638–680, 2004.
- KASNOWSKI, M. C., *et al.* Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, v. 15, p. 1-23, 2010.
- KELLER, L., SURETTE, M. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. **Nature Reviews in Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 248-258, 2006.
- KIM, J. S., *et al.* Contamination of X-ray cassettes with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in a radiology department. **Annals of Laboratory Medicine**, v. 32, p. 206-209, 2012.
- KLOOS, W. E., SCHLEIFER, K. H. Isolation and characterization of staphylococci from human skin. II: Description of four new species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis* and *Staphylococcus simulans*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 25, p. 62-79, 1975.
- KLOOS, W. E., SCHLEIFER, K. H. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 7, n. 1, p. 117-140, 1994.
- KLOOS, W. E., BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: MURRAY, P. R., *et al.*, ed. **Manual of Clinical Microbiology**. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1995.
- KOHL, T., PONTAROLO, G. H., PEDRASSANI, D. Resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de amostras de animais atendidos em hospital veterinário. **Saúde Meio Ambiente**, v. 5, n. 2, p. 115-127, 2016.
- KONEMAN, E. W., *et al.* **Diagnóstico Microbiológico: Texto e atlas colorido**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2008.
- KORNIENKO, M., *et al.* Analysis of nosocomial *Staphylococcus haemolyticus* by MLST and MALDI-TOF mass spectrometry. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 39, p. 99-105, 2016.
- LASA, I., *et al.* Bacterial biofilms and Infection. **Anales del Sistema Sanitario de Navarra**, v. 28, n. 2, p. 163- 175, 2005.

LAURENT, F., BUTIN, M. *Staphylococcus capitis* and NRCS-A clone: the story of an unrecognized pathogen in neonatal intensive care units. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, p. 1081-1085, 2019.

LAVERTY, G., GORMAN, S. P., GILMORE, B. F. Biomolecular mechanisms of staphylococcal biofilm formation. **Future Microbiology**, v. 8, n. 4, p. 509-524, 2014.

LAYER, F., *et al.* Comparative study using various methods for identification of *Staphylococcus* species in clinical specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 8, p. 2824-2830, 2006.

LAZZAROTTO, C. **Formação de biofilme de *Staphylococcus epidermidis* isolado de cateter venoso central através de métodos fenotípicos e genotípicos**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2010.

LEMBRÉ, P., VENDRELY, C., DI MARTINO, P. Identification of an amyloidogenic peptide from the bap protein of *Staphylococcus epidermidis*. **Protein & Peptide Letters**, v. 21, p. 75-79, 2014.

LI, X., *et al.* Current usage and future directions for the bovine pericardial patch. **Annals of Vascular Surgery**, v. 25, n. 4, p. 561-8, 2011.

LIST of prokaryotic names with standing in nomenclature. Disponível em: <http://www.bacterio.net/staphylococcus.html>. Acesso em: 23 out. 2021.

LOONEN, A. J. M., *et al.* Acceleration of the direct identification of *Staphylococcus aureus* versus coagulase-negative staphylococci from blood culture material: a comparison of six bacterial DNA extraction methods. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 30, p. 337-342, 2011.

LOUREIRO, R. J., *et al.* O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.

LOURENZO, M. A. R., *et al.* Contaminação em superfícies de uti após limpeza/desinfecção no brasil: uma revisão integrativa. **Revista de Patologia do Tocantins**, v; 10, n. 4, p. 27-32, 2020.

LOWBURY, E. J., BABB, J. R., FORD, P. M. Protective isolation in a burns unit: the use of plastic isolators and air curtains. **The Journal of Hygiene**, v. 69, n. 4, p. 529-546, 1971.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Investigation**, v. 111, p. 1265-1273, 2003.

MAYHALL, C. G. **Hospital Epidemiology and Infection Control**. 2th edition. Washington DC: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.

- MÅNSSON, E., *et al.* Sequence types of *Staphylococcus epidermidis* associated with prosthetic joint infections are not present in the laminar airflow during prosthetic joint surgery. **Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, v. 123, n. 7, p. 589–595, 2015.
- MARTÍNEZ-MELÉNDEZ, A., *et al.* Molecular epidemiology of coagulase-negative bloodstream isolates: detection of *Staphylococcus epidermidis* ST2, ST7 and linezolid-resistant ST23. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 20, n. 5, p. 419–428, 2016.
- MATTOS-GUARALDI, A. L., FORMIGA, L. C. Relationship of biotype and source to the hemagglutination and adhesive properties of *Corynebacterium diphtheriae*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 24, p. 399-406, 1991.
- McGEE, D. C., GOULD, M. K. Preventing complications of central venous catheterization. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 12, p. 1123-1133, 2003.
- McMILLAN, W. D., LEVILLE, C. D., HILE, C. N. Bovine pericardial patch repair in infected fields. **Journal of Vascular Surgery**, v. 55, n. 6, p. 712-5, 2012.
- MENDOZA-OLAZARÁN, S., *et al.* Microbiological and molecular characterization of *Staphylococcus hominis* isolates from blood. **PloS One**, v. 8, n. 4, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061161>
- MENDOZA-OLAZARÁN, S., *et al.* Antibiotic Susceptibility of Biofilm Cells and Molecular Characterisation of *Staphylococcus hominis* Isolates from Blood. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. 1-13, 2015.
- MESQUITA, A. L., *et al.* Impacto da contaminação bacteriana em fômites e mãos de estudantes de medicina. **Revista Educação em Saúde**, v. 4, n. 1, p. 47, 2016.
- MESQUITA, G. L., *et al.* Prevalência bacteriana em fômites e mãos de profissionais e acadêmicos de saúde em enfermarias de um hospital de Anápolis – Goiás. **Revista Educação em Saúde**, v. 6, n. 2, p. 65-75, 2018.
- MEYER, G. P. C., *et al.* Estudo retrospectivo das infecções pós-operatórias em cirurgia de coluna: correlação com o número de limpezas cirúrgicas realizadas Coluna/Columna. **Scientific Electronic Library Online**, v. 10, n. 2, p. 127-131, 2011.
- MIRAGAIA, M., *et al.* Comparison of molecular typing methods for characterization of *staphylococcus epidermidis*: proposal for clone definition. **Journal Clinical Microbiology**, v. 46, p. 118–129, 2008.
- MONNECKE, S., *et al.* Rapid microarray-based identification of different *mecA* alleles in *Staphylococci*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 11, p. 5547–5554, 2012.
- MONROE, D. Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. **PLoS Biology**, v. 5, n. 11, p. 307, 2007.
- MORAES, M. N., *et al.* Mecanismos de adesão bacteriana aos biomateriais. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 23, n. 1, p. 99-104, 2013.

MUSHEGIAN, A. R., *et al.* Large-scale taxonomic profiling of eukaryotic model organisms: A comparison of orthologous proteins encoded by the human, fly, nematode, and yeast genomes. **Genome Research**, v. 8, n. 6, p. 590-598, 1998.

NASAB, M. B., HASSAN, M. R. Metallic biomaterials of knee and hips: a review. **Trends Biomater Artif Organs**, v. 24, n. 1, p. 69-82, 2010.

NOBRE, L. F., *et al.* Avaliação de indicadores do controle da contaminação ambiental da sala de operação: um estudo piloto. **Medicina**, v. 34, p. 183-193, 2001.

NOGUEIRA, P. S. F., *et al.* Perfil da infecção hospitalar em um hospital universitário. **Revista de Enfermagem UERJ**, v. 17, n. 1, p. 96-101, 2009.

NOVOSAD, S. A., *et al.* Multicenter outbreak of gram-negative bloodstream infections in hemodialysis patients. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 74, n. 5, p. 610-619, 2019.

NWANKWO, E. Isolation of pathogenic bacteria from fomites in the operating rooms of a specialist hospital in Kano, North-western Nigeria. **The Pan African Medical Journal**, v. 12, n. 90, 2012.

ÖCAL, D. N., *et al.* *In vitro* effect of vancomycin and daptomycin on biofilm formation of coagulase-negative Staphylococci strains. **Mikrobiyoloji Bülteni**, v. 51, n. 3, p. 220-235, 2017.

OKEE, M. S., *et al.* Prevalence of virulence determinants in *Staphylococcus epidermidis* from ICU patients in Kampala, Uganda. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 6, n. 3, p. 242-250, 2011.

OLUFUNMISO, O., TOLULOPEM, I., ROGER, C. Multidrug and vancomycin resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from different teaching hospitals in Nigeria. **African Health Sciences**, v. 17, n. 3, p. 797-807, 2017.

O'SULLIVAN, J. N., *et al.* Nisin J, a novel natural nisin variant, is produced by *Staphylococcus capitis* sourced from the human skin microbiota. **Journal of Bacteriology**, v. 18, p. 1-39, 2019.

OTTO, M. P., *et al.* Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on virulence factor expression by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 7, p. 1524-32, 2013.

PADOVEZE, M. C., FORTALEZA, C. M. C. B. Infecções relacionadas à assistência à saúde: desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 48, n. 6, p. 995-1001, 2014.

PAIM, T. G. S., *et al.* MALDI-TOF MS performance to identify gram-positive cocci clinical isolates in Porto Alegre/RS, Brazil. **Journal of Infection Control**, v. 2, n. 2, p. 112-116, 2013.

- PAL, N., AYYAGARI, A. Species identification and methicillin resistance of coagulase negative staphylococci from clinical specimens. **Indian Journal of Medical Research**, v. 89, p. 300-305, 1989.
- PALMER-TOY, D. E. Therapeutic monitoring of vancomycin. **Archives of Pathology & Laboratoru Medicine**, v. 124, p. 322-323, 2000.
- PANESSO, D., *et al.* Methicillin-susceptible, vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1844-8, 2015.
- PAULA, T. A., SILVA, P. S. L., BERRIEL, L. G. S. Infective endocarditis by *Staphylococcus capitis* in native valve. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 7, p. 438-439, 2009.
- PEDROSO, S. H. S. P., *et al.* Biofilm and toxin profile: a phenotypic and genotypic characterization of coagulase-negative Staphylococci isolated from human bloodstream infections. **Microbial Pathogenesis**, v. 100, p. 312–318, 2016.
- PEREIRA, M. S. A infecção hospitalar e suas implicações para o cuidar da enfermagem. **Revista Texto & Contexto Enfermagem**, v. 14, n. 2, p. 250-257, 2005.
- PEREIRA, P. M. A. **Aspectos fenotípicos e genotípicos da formação de biofilme e interação com superfícies abióticas e bióticas no potencial de virulência de *Staphylococcus haemolyticus* relacionados com quadros de bacteremias**. 2018. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.
- PEREIRA, P. M. A. **Ocorrência e caracterização de Estafilococos coagulase negativos isolados de recém-nascidos com bacteremias em unidade de terapia intensiva neonatal no HUPE-UERJ**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- PEREIRA, P. M. A., *et al.* *Staphylococcus haemolyticus* disseminated among neonates with bacteremia in a neonatal intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 78, p. 85-92, 2014.
- PEREIRA-RIBEIRO, P. M. A., *et al.* Influence of antibiotics on biofilm formation by different clones of nosocomial *Staphylococcus haemolyticus*. **Future Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 789–799, 2019.
- PETERSON, R. T. Use of non-mammalian alternative models for neurotoxicological study. **NeuroToxicology**, v. 29, p. 546–55, 2008.
- PINTO, F. M. G. **Análise da carga microbiana nos instrumentos utilizados em cirurgias ortopédicas**. 2009. Dissertação (Mestrado em Enfermagem na Saúde do Adulto) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

PIRES, A. C., *et al.* Pericárdio bovino utilizado como remendo no sistema cardiovascular. **Revista Brasileira Cirurgia Cardiovascular**, v. 12, n. 2, 1997. DOI: 10.1590/S0102-76381997000200012

PIRES, A. L. R., BIERHALZ, A. C. K., MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.

PISO, D. Y. T, RESTÁN, W. A. Z., BARRETO, M. Y. P. Implantes de membranas biológicas en cirugía reconstructiva veterinaria: aspectos básicos y métodos de conservación. **Revista de Medicina Veterinaria**, v. 31, p. 105-120, 2016.

PODKOWIK, M., *et al.* Enterotoxigenic potential of coagulase-negative Staphylococci. **International Journal of Food Microbiology**, v. 163, p. 34-40, 2013.

POMERANTZEFF, P. M. A., *et al.* Biopróteses de pericárdio bovino Fisics-Incor: 15 anos. **Revista Brasileira Cirurgia Cardiovascular**, v. 12, n. 4, p. 359-366, 1997.

POSSARI, J. F., *et al.* Use of the nursing intervention classification for identifying the workload of a nursing team in a surgical center. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 23, n. 5, p. 781-8, 2015.

POTTER, A., *et al.* The gene *bap*, involved in biofilm production, is present in *Staphylococcus* spp. strains from nosocomial infections. **The Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 319-326, 2009.

QUADROS, M. E., *et al.* Qualidade do ar interno em ambientes hospitalares. **Revista de Tecnologia**, v. 30, n. 1, p. 38-52, 2009.

RAMANI, S. R., *et al.* Investigation of the environment and of mothers in transmission of rotavirus infections in the neonatal nursery. **Journal of Medical Virology**, v. 80, n. 6, p. 1099-1105, 2008.

RASIGADE, J. P., *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus capitis* with reduced vancomycin susceptibility causes late-onset sepsis in intensive care neonates. **PLoS ONE**, v. 7, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0031548

RODHE, H., *et al.* Pathogenesis of staphylococcal device-related infections: from basic science to new diagnostic, therapeutic and prophylactic approaches. **Reviews in Medical Microbiology**, v. 17, p. 45-54, 2006.

RUIZ DE GOPEGUI, E., *et al.* Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus hominis* in two hospitals in Majorca. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 29, p. 339-344, 2011.

RUPP, M. E., *et al.* Effect of a second-generation venous catheter impregnated with chlorhexidine and silver sulfadiazine on central catheter-related infections: A randomized, controlled trial. **Annals of Internal Medicine**, v. 43, n. 8, p. 570-580, 2005.

RYDER, V. J., CHOPRA, I., O'NEILL, A. Increased mutability of Staphylococci in biofilms as a consequence of oxidative stress. **PLOS One**, v. 7, n. 10, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0047695

SAITO, Y., *et al.* Microbial contamination of surgical instruments used for laparotomy. **American Journal of Infection Control**, v. 42, p. 43-47, 2014.

SALZMAN, M. B., *et al.* A prospective study of the catheter hub as portal of entry for microorganisms causing catheter-related sepsis in neonates. **Journal of Infectious Diseases**, v. 167, n. 2, p. 487-490, 1993.

SANTIAGO, M. C. L. **Pesquisa de *Staphylococcus coagulase positiva* produtor da toxina 1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1) em amostras de queijo minas artesanal.** 2019. Monografia (Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2019.

SANTOS, A. L., *et al.* *Staphylococcus aureus*: visando uma cepa de importância hospitalar. **Revista Brasileira de Patologia Médica**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SANTOS, O. C. S., *et al.* Reliable identification of clinically prevalent species and subspecies of staphylococci by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis analysis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 64, p. 1-5, 2009.

SANTOS, A. B., *et al.* Perfil bacteriano das superfícies e equipamentos do Bloco Cirúrgico de um Hospital Universitário. **Vittale – Revista de Ciências da Saúde**, v. 32, n. 1, p. 101-107, 2020.

SAXENA, P., *et al.* Biofilms: Architecture, Resistance, Quorum Sensing and Control Mechanisms. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 3-12, 2019.

SCHIERHOLZ, J., BEUTH, M. J. Implant infections: a haven for opportunistic bacteria. **Journal of Hospital Infection**, v. 49, n. 2, p. 87-93, 2001.

SCHILCHER, K., HORSWILL, A. R. Staphylococcal biofilm development: structure, regulation, and treatment strategies. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 12, n. 84, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00026-19>

SCHITO, G. C. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 12, n. 1, p. 3-8, 2006.

SCHOENFELDER, S. M., *et al.* Success through diversity -How *Staphylococcus epidermidis* establishes as a nosocomial pathogen. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, n. 6, p. 380-386, 2010.

SCHUENCK, R. P., *et al.* Multiplex PCR assay to identify methicillin resistance of *Staphylococcus haemolyticus*. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 52, p. 431-435, 2008.

- SCHUSTER, D., *et al.* Detection of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci harboring the class A *mec* complex by MALDI-TOF mass spectrometry. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 308, p. 522-526, 2018.
- SENG, R., *et al.* Formation of methicillin-resistant coagulase negative staphylococci (MR-CoNS) biofilms isolated from community and hospital environments. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, p. 184-172, 2017.
- SIEVERT, D. M., *et al.* *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin - United States. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, p. 565-567, 2002.
- SIVA, E. L., *et al.* *Klebsiella pneumoniae* carbapenamase (kpc): bactéria multirresistente a antibióticos. **Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde**, v. 1, n. 1, p. 62-66, 2019.
- SILVA FILHO, R. G. **Produção de biofilme em amostras clínicas de *S. epidermidis*: influência de concentrações subinibitórias de antissépticos (etanol e clorexidina) e associação com potenciais marcadores de virulência**. 2014. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.
- SILVA, M. O., AQUINO, S. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. **Revista Brasileira de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 4, p. 472-482, 2018.
- SOBRAL, G. A. S., *et al.* Atribuições do enfermeiro no centro cirúrgico. **Enfermagem Brasil**, v. 18, n. 4, 2019. DOI: <https://doi.org/10.33233/eb.v18i4.3117>
- SOROUSH, S., *et al.* Characterization of biofilm formation, antimicrobial resistance, and staphylococcal cassette chromosome *mec* analysis of methicillin resistant *Staphylococcus hominis* from blood cultures of children. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, On-line version, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0384-2016>
- SOLOZANO, A., *et al.* Detection of new mutations conferring resistance to linezolid in glycopeptide-intermediate susceptibility *Staphylococcus hominis* subspecies *hominis* circulating in an intensive care unit. **European Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, p.73-80, 2010
- SOUZA, M. C., *et al.* Biofilm formation and fibrinogen and fibronectin binding activities by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* invasive strains. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 107, n. 6, p. 1387-99, 2015.
- SOUSA, A. F. L., *et al.* Prevenção da formação de biofilmes em marcapassos artificiais: é viável? **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 30, n. 6, p. 644-650, 2017.
- STEPANOVIC, S., *et al.* Modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **Journal of Microbiological Methods**, v. 40, p. 175-179, 2000.
- STOODLEY, P., *et al.* Biofilms as complex differentiated communities. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, p. 187-209, 2002.

SUED-KARAM, B. R. **Produção de biofilme na presença de agentes antimicrobianos e potencial de virulência para *Caenorhabditis elegans* de diferentes biótipos de *Staphylococcus haemolyticus* isolados de sangue.** 2018. Tese (Doutorado em Ciências Médicas). Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

SUED, B. P. R., *et al.* Sphgmomanometers and thermometers as potential fomites of *Staphylococcus haemolyticus*: biofilm formation in the presence of antibiotics. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 3, p.188-195, 2017.

STUMM, E. M., MAÇALAI, R. T., KIRCHNER, R. M. Dificuldades enfrentadas por enfermeiros em um centro cirúrgico. **Texto Contexto Enferm**, v. 15, n. 3, p. 464-71, 2006.

SZCZUKA, E., GRABSKA, K., KAZNOWSKI, A. *In vitro* activity of rifampicin combined with daptomycin or tigecycline on *Staphylococcus haemolyticus* biofilms. **Current Microbiology**, v. 71, n. 2, p. 184-189, 2015.

TAVARES, W. **Antibióticos e Quimioterápicos para o Clínico.** São Paulo: Atheneu, 2006, p. 242.

TEIXEIRA, C. F. **Estafilococos coagulase-negativa – um risco real para a saúde pública.** 2009. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.

TEVELL, S., *et al.* *Staphylococcus capitis* isolated from prosthetic joint infections. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 36, n. 1, p. 115-122, 2017.

TEVELL, S., *et al.* Presence of the neonatal *Staphylococcus capitis* outbreak clone (NRCS-A) in prosthetic joint infections. **Scientific Reports**, v. 28, n. 10, p. 22389, 2020.

TREVISOLI, L. E., *et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight: a promising alternative method of identifying the major coagulase-negative *Staphylococci* species. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 1, p.85-87, 2018.

TOLLEFSON, L. Developing new regulatory approaches to antimicrobial safety. **Journal Veterinary Medicine**, v. 51, p. 415-418, 2004.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. O. **Microbiologia.** 8. ed. São Paulo: Artmed; 2005.

TRABULSI, L. R., TEIXEIRA, L. M., BUERIS, V. *Staphylococcus aureus*. In: TRABULSI, L. R. **Microbiologia**, 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p.175-182

VEENSTRA, G. J. C., *et al.* Ultrastructural organization and regulation of a biomaterial adhesin of *Staphylococcus epidermidis*. **Journal Bacteriology**, v. 178, n. 2, p. 537-541, 1996.

VUONG, C., OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis* infections. **Microbes Infection**, v. 4, n. 4, p. 481-489, 2002.

WACHESK, C. C. **Avaliação da biocompatibilidade in vitro e in vivo de superfícies recobertas por filmes de carbono tipo-diamante contendo nanopartículas de TiO₂ para aplicações biomédicas.** 2016. Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) – Universidade do Vale do Paraíba, São Paulo, 2016.

WANG, X. M. L., *et al.* Evaluation of a multilocus sequence typing system for *Staphylococcus epidermidis*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 52, p. 989–998, 2003.

WEISSER, M., *et al.* Hypervariability of biofilm formation and oxacilina resistance in a *Staphylococcus epidermidis* strain causing persistent severe infection in a immunocompromised patient. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 7, p. 2407-2412, 2010.

WIDMER, A. F. New developments in diagnosis and treatment of infection in orthopedic implants. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 94-106, 2001.

WORLD HEALTH ORGANISATION. **WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care.** Geneva: WHO; 2009, p. 270.

YAMANAKA, J. S. **Aplicação de membrana de colágeno proveniente de pericárdio bovino na regeneração óssea guiada de tíbias de ratos.** Tese (Doutorado em Ciências)-Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, São Paulo, 2020.

ZARGARAN, D., *et al.* Sphygmomanometer cuffs: a potential source of infection. **Angiology**, v. 66, n. 2, p. 118-121, 2015.

ZEHRBACH, A. M. D., ROGERS, A. R., TARR, E. K. An Investigation of the Potential Antifungal Properties of CNC-2 in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Nematology**, v. 49, n. 4, p. 472–476, 2017.

ZHANG, L., *et al.* Multilocus sequence typing and further genetic characterization of the enigmatic pathogen, *Staphylococcus hominis*. **PLoS ONE**, v. 11, n. 8, p. 664-96, 2013.

ZULFIQAR, A., MIRANI, Z. A., JAMIL, N. Effect of sub-lethal doses of vancomycin and oxacillin on biofilm formation by vancomycin intermediate resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Basic Microbiology**, v. 51, n. 2, p. 191-195, 2011.

ANEXO - Produção Científica

1. Sued-Karam BR, Vasconcelos RS, Olivella JGB, Ribeiro FC, Nogueira BA, Pereira-Ribeiro PMA, Mattos-Guaraldi AL. Aspectos gerais de *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus capitis*: uma breve revisão (Aceito para publicação – **Livro: Ciências Biomédicas**), 2021.
2. Nogueira BA, Olivella JGB, Vasconcelos RS, Sued-Karam BR, Pereira-Ribeiro PMA, Fracalanza SEL, Ignácio ACPR, Mattos-Guaraldi AL. Virulence profiles of tigecycline-resistant Gram-negative bacilli isolated from river waters using the *Caenorhabditis elegans* infection model (Aceito para publicação – **Brazilian Journal of Development**), 2021.
3. Vasconcelos RS, Sued-Karam BR, Cabral-Oliveira GG, Olivella JGB, Fracalanza SEL, Nogueira BA, dos Santos LS, Lopes-Torres EJ, Pereira-Ribeiro PMA, Mattos-Guaraldi AL. Biofilm formation in bovine pericardium biomaterial by multi-drug resistant *Staphylococcus haemolyticus* nosocomial blood isolates (Submetido para publicação - **Journal of Applied Microbiology**), 2021.
4. Vasconcelos RS, Sued-Karam BR, Olivella JGB, Nogueira BA, Silva-Santana G, Fracalanza SEL, dos Santos LS, Pereira-Ribeiro PMA, Mattos-Guaraldi AL. Risk for fomite-mediated transmission of *Staphylococcus capitis* and *Staphylococcus hominis* expressing multidrug resistance profiles and ability of biofilm formation in operating rooms and other nosocomial environments (em redação).