

Detecção do gene *mecA* em estafilococos coagulase negativa resistentes à oxacilina isolados da saliva de profissionais da enfermagem

Detection of *mecA* gene in oxacillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from the saliva of nursing professionals

Juliana de Oliveira Rosa¹, Josely Pinto de Moura², Marinésia Aparecida Prado Palos³, Elucir Gir⁴, Cleômenes Reis¹, André Kipnis¹, Sílvia Rita Marin da Silva Canini⁴, Fernando Belissimo-Rodrigues⁵ e Fabiana Cristina Pimenta¹

RESUMO

Estafilococos coagulase negativa estão frequentemente associados às infecções nosocomiais e os profissionais da saúde podem ser reservatório e disseminá-los no hospital e comunidade. O objetivo desse estudo foi identificar espécies de estafilococos coagulase negativa isolados da saliva de profissionais da enfermagem, determinar o perfil de resistência e detectar o gene *mecA*. Foram selecionados 100 estafilococos coagulase negativa, sendo 41 identificados como *Staphylococcus epidermidis*, 25 *Staphylococcus saprophyticus*, 18 *Staphylococcus haemolyticus*, 8 *Staphylococcus cohnii*, 4 *Staphylococcus lugdunenses*, 3 *Staphylococcus capitis*, e 1 *Staphylococcus Simulans*. Desses, 32% apresentaram resistência à oxacilina, 84,4% à mupirocina, 32% à cefoxitina, e todos sensíveis a vancomicina. Dos estafilococos coagulase negativa resistentes à oxacilina, 93,7% desenvolveram-se no agar oxacilina (6µg/ml) e o gene *mecA* foi detectado em 75%. Os resultados sinalizam que maiores investimentos devem ser direcionados a identificação das espécies de estafilococos coagulase negativa nas instituições de saúde e na comunidade.

Palavras-chaves: Estafilococos coagulase negativa. Equipe de Enfermagem. Saliva. Resistência. Gene *mecA*.

ABSTRACT

Coagulase-negative staphylococci are frequently associated with nosocomial infections, and healthcare professionals can be reservoirs and spread them in hospitals and in the community. The aim of this study was to identify species of coagulase-negative staphylococci isolated from the saliva of nursing professionals, determine the resistance profile and detect the *mecA* gene. One hundred coagulase-negative staphylococci were selected: 41 were identified as *Staphylococcus epidermidis*, 25 as *Staphylococcus saprophyticus*, 18 as *Staphylococcus haemolyticus*, eight as *Staphylococcus cohnii*, four as *Staphylococcus lugdunenses*, three as *Staphylococcus capitis* and one as *Staphylococcus simulans*. Of these, 32% presented oxacillin resistance, 84.4% mupirocin resistance and 32% cefoxitin resistance, and all were vancomycin sensitive. Among the oxacillin-resistant coagulase-negative staphylococci, 93.7% developed in oxacillin agar (6µg/ml) and the *mecA* gene was detected in 75%. The results indicate that higher investments should be directed towards identifying coagulase-negative staphylococcus species in healthcare institutions and in the community.

Key-words: Coagulase-negative staphylococci. Nursing team. Saliva. Resistance. *mecA* gene.

1. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. 2. Programa Interunidades de Doutorado em Enfermagem da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 3. Faculdade de Enfermagem Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. 4. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP. 5. Médico Infectologista. Vice-presidente da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP.

Apoio Financeiro: FAPESP (Processo 05/58463-0)

Endereço para correspondência: Dra. Juliana de Oliveira Rosa. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG. Rua 235 s/nº, Setor Universitário, Goiânia, GO.

Tel: 55 62 3209-6108

e-mail: gzy7@cdc.gov

Recebido para publicação em 28/01/2009

Aceito em 20/07/2009

Os indivíduos são colonizados desde o nascimento, em diversos sítios anatômicos, por estafilococos coagulase negativa (ECN). Estes microrganismos podem se apresentar como bactérias oportunistas emergentes, especialmente em pacientes hospitalizados, imunocomprometidos, prematuros e com dispositivos implantados^{16 26}. Podem causar infecção no sítio primário de colonização ou disseminarem causando infecções hospitalares graves como bacteremias, septicemias e sepsis neonatal^{18 25 38}.

A similaridade dos ECN isolados do sangue e de cateter de clientes hospitalizados, com os recuperados do mesmo paciente em mucosas de orofaringe, orelha, nariz, axila, braço e perna tem

sido relatada^{17 25}. Estudo que avaliou pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoéticas, com quadro clínico de bacteremias, constatou similaridade dos ECN isolados do sangue com os recuperados da orofaringe⁴. Os ECN apresentam uma importante habilidade de formar biofilmes e podem estar associados a dispositivos no ambiente hospitalar^{36 37 41}.

Outro fator relevante em relação aos ECN é a sua capacidade de apresentar resistência a vários antimicrobianos, principalmente aos utilizados no ambiente hospitalar, aumentando assim o risco de falha terapêutica^{10 14 17 29 33}.

A resistência dos ECN à vancomicina apesar de pouco frequente, já é realidade no Brasil, conforme constatado em estudo³⁹ que detectou 4 ECN (2 *Staphylococcus capitis*, um *Staphylococcus haemolyticus* e um *Staphylococcus epidermidis*) resistentes a esse antibiótico em isolados de profissionais da saúde. Casos de infecções causadas por *Staphylococcus sp* resistentes à vancomicina também têm sido descritos³³.

A prevalência de ECN oxacilina resistente é elevada na maior parte dos hospitais no Brasil e no mundo e a identificação das espécies desse grupo é de extrema importância, pois a interpretação dos halos de inibição da oxacilina para *Staphylococcus epidermidis* é diferente das outras espécies. Um fator a ser considerado é que resultados discrepantes entre oxacilina e cefoxitina podem ser encontrados quando os ECN são avaliados pelo teste de disco difusão¹⁴.

Com relação às medidas de controle dos microrganismos resistentes, entre eles os ECN, a literatura faz referência à vigilância microbiológica prospectiva para identificar pacientes colonizados. Medidas como o isolamento dos clientes colonizados ou infectados, afastamento temporário do profissional colonizado de suas atividades, a adesão às precauções-padrão, higienização das mãos, limpeza cuidadosa do ambiente, controle da prescrição dos antimicrobianos de amplo espectro e tratamento dos pacientes colonizados e dos profissionais de saúde envolvidos nesses episódios devem ser implementadas^{10 27 36}. A colonização e transmissão de ECN resistentes relacionadas ao profissional de saúde deve ser investigada^{17 39}.

ECN estão associados a diversas infecções, o que requer o estabelecimento de estratégias de controle e prevenção¹¹. Desta forma, este estudo teve como objetivo identificar as espécies de ECN isolados da saliva de profissionais da enfermagem, determinar o perfil de resistência à oxacilina e detectar o gene *mecA* nos isolados resistentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Estafilococos coagulase negativa. Foram selecionados 100 ECN isolados da saliva de profissionais da enfermagem, que participaram de um estudo maior, participantes de um programa interinstitucional de vigilância de estafilococos resistentes à oxacilina, de um estudo transversal realizado nas unidades de terapia intensiva, clínica médica, clínica cirúrgica e gineco-obstétrica de um hospital escolas de nível terciário do interior do

estado de São Paulo. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Foram incluídos todos os profissionais que aquiesceram participar do estudo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que estavam em exercício profissional ativo, no hospital, durante o período do estudo e que não estavam em uso de antimicrobiano ou não os tinham utilizado nos últimos 30 dias. As coletas de saliva ocorreram no período de maio de 2007 a maio de 2008, de cada profissional foram coletadas 3 amostras com intervalo médio de três meses.

Isolamento e identificação. A saliva foi homogenizada por um minuto, submetida à diluição decimal em solução salina (0,8%) e semeada, em meio de cultura seletivo, agar manitol salgado⁴². O período de incubação foi de 24 a 48 horas a 37°C. A identificação dos estafilococos coagulase negativa foi baseada em provas bioquímicas (catalase, coagulase em tubo e lâmina, DNase, lecitinase, urease, acetoina, fermentação de carboidratos - frutose, manose, maltose, trealose, manitol, xilose, lactose e sacarose, suscetibilidade à bacitracina, novobiocina e polimixina e descarboxilação da ornitina)^{23 24}. O controle de qualidade foi realizado com cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* 25923 e 29213 *Staphylococcus epidermidis* 12228, *Staphylococcus haemolyticus* 29970 e *Staphylococcus saprophyticus* 15305. A produção de lecitinase pelos ECN foi verificada pela inoculação em agar contendo gema de ovo – agar Naito^{20 26}.

Teste de suscetibilidade. Os estafilococos coagulase negativa identificados foram submetidos ao teste de disco-difusão, segundo protocolo CLSI/M2-A9 (2005)⁹. Foram utilizados discos de vancomicina, cefoxitina, oxacilina e mupirocina (Oxoid, Basingstoke, Inglaterra).

Agar Mueller Hinton suplementado com 4% de cloreto de sódio e oxacilina (6µg/ml) foi utilizado como triagem para confirmar a resistência à oxacilina. O desenvolvimento de até mesmo uma colônia foi considerada prova positiva.

Deteção do gene *mecA*. Os ECN que apresentaram resistência à oxacilina e se desenvolveram no agar triagem oxacilina, foram cultivados em 3mL de caldo triplice soja por 24 horas a 37°C para a extração do DNA segundo Murakami cols (1991).

O gene *mecA* foi detectado pela técnica da polymerase chain reaction (PCR), utilizando os primers *mecA* F5'-TGGCTATCGTGTGACAATCG-3' e *mecA* R5'-CTGGAAGTTGTTGAGCAGAG-3' de acordo com Murakami cols³¹. Os ciclos da reação foram: 1 ciclo de 94°C por 3 minutos; 35 ciclos de 92°C por 45 segundos; 50°C por 1 minuto; 72°C por 1 minuto; e 1 ciclo a 72°C por 4 minutos. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% contendo brometo de etídio; foi utilizado marcador de massa molecular de 1Kb. A presença de fragmentos de 533pb resultantes dos produtos de amplificação foram visualizados em transiluminador e fotografados.

RESULTADOS

Os ECN isolados da saliva de profissionais de enfermagem foram identificados nas seguintes espécies: 41 (41%) *Staphylococcus epidermidis*, 25 (25%) *Staphylococcus saprophyticus*, 18 (18%) *Staphylococcus haemolyticus*, 8 (8%) *Staphylococcus cohnii*, 4 (4%) *Staphylococcus lugdunenses*, 3 (3%) *Staphylococcus capitis* e 1 (1%) *Staphylococcus simulans* (Tabelas 1, 2 e 3).

Os resultados dos testes de suscetibilidade evidenciaram que 32 (32%) dos ECN isolados exibiram resistência à oxacilina, 84% à mupirocina, 43,7% à cefoxitina, e todos os isolados exibiram suscetibilidade à vancomicina (Tabelas 2 e 3). Dos 100 isolados de ECN, 16% eram produtores de lecitinase, dentre eles 15,6% eram oxacilina resistentes.

Dos 32 ECN detectados pelo teste de disco difusão como resistentes à oxacilina, foram cultivados em agar triagem oxacilina (6µg) suplementado com cloreto de sódio a 4% e também submetidos à detecção do gene *mecA*. Desses, 93,7% desenvolveram-se no agar triagem oxacilina e o gene *mecA* foi detectado em 24 (75%). Ressalta-se que dentre os 20 *Staphylococcus epidermidis*, 15 (62,5%) apresentaram o gene *mecA* (Tabela 2).

DISCUSSÃO

No presente estudo, os ECN foram identificados como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus lugdunenses*, *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus simulans*. A maioria das instituições de saúde não identifica as espécies de ECN de rotina, dada a necessidade de execução de inúmeros testes bioquímicos, o que se constitui num trabalho relativamente laborioso e de custo elevado.

Rotineiramente, a identificação dos estafilococos é baseada apenas nos aspectos morfológicos das colônias, coloração de Gram, catalase e produção de coagulase, o que permite apenas classificar esses estafilococos em coagulase negativa ou em *Staphylococcus aureus*¹². No presente estudo, foi utilizado um esquema de 18 provas bioquímicas para determinar as espécies dos 100 ECN selecionados, o que permitiu a caracterização das espécies. Ressalta-se que a identificação das espécies é determinante para a escolha da terapêutica adequada, uma vez que existem variações na interpretação de halos no antibiograma de acordo com a espécie de ECN²³.

A identificação dos ECN é de grande importância para a associação dessas espécies com casos de infecções específicas,

TABELA 1

Identificação, padrão de suscetibilidade à oxacilina, cefoxitina, vancomicina e mupirocina de 100 estafilococos coagulase negativa isolados da saliva de profissionais da enfermagem. Ribeirão Preto, SP, 2008.

Identificação	Nº	Oxacilina		Cefoxitina				Vancomicina				Mupirocina					
		nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	41	20	48,8	21	51,2	17	41,5	24	58,5	0	0,0	41	100,0	36	87,8	5	12,2
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	25	5	20,0	20	80,0	2	8,0	23	92,0	0	0,0	25	100,0	23	92,0	2	8,0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	18	5	27,8	13	72,2	7	38,9	11	61,1	0	0,0	18	100,0	12	66,7	6	33,3
<i>Staphylococcus cohnii</i>	8	0	0,0	8	100,0	3	37,5	5	62,5	0	0,0	8	100,0	6	75,0	2	25,0
<i>Staphylococcus lugdunenses</i>	4	2	50,0	2	50,0	1	25,0	3	75,0	0	0,0	4	100,0	4	100	0	0,0
<i>Staphylococcus capitis</i>	3	0	0,0	3	100,0	1	33,3	2	66,7	0	0,0	3	100,0	2	66,7	1	33,3
<i>Staphylococcus simulans</i>	1	0	0,0	1	100,0	1	100,0	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	100,0	0	0,0
Total	100	32	68	32	68	0	100	84	16								

TABELA 2

Padrão de resistência à oxacilina por diferentes métodos em espécies de estafilococos coagulase negativa isolados de saliva de profissionais da saúde da enfermagem. Ribeirão Preto, SP, 2008.

Espécie	Número	Disco difusão		Oxacilina 6µg		Gene <i>mecA</i>	
		nº	%	nº	%	nº	%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	41	20	48,8	19	46,3	15	36,6
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	25	5	20	4	16	4	16
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	18	5	27,8	5	27,8	4	22,2
<i>Staphylococcus lugdunenses</i>	4	2	50	2	50	1	50

TABELA 3

Características de espécies de estafilococos coagulase negativa (n^o=32) isolados da saliva de profissionais da enfermagem, de acordo com o perfil de suscetibilidade e detecção do gene *mecA*. Ribeirão Preto, SP, 2008.

Número	Espécie	Oxacilina	Cefoxitina	Mupirocina	Vancomicina	Oxacilina 6µg	Gene <i>mecA</i>
15	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	+
21	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	-
29	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	-	+
41	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	+
57	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	+
60	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	-
63	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	-
64	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	+	-
85	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	+	+
87	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	+	+
90	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	+	+
107	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	+
121	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	+	+
136	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	+	+
138	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	+	-
179	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	R	S	+	+
209	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	+
271	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	S	S	+	+
277	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	S	S	S	+	+
288	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	R	R	S	+	+
67	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	R	R	R	S	+	-
157	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	R	R	R	S	+	+
164	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	R	R	R	S	+	+
216	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	R	R	R	S	+	+
277	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	R	S	S	S	+	+
63	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	R	S	R	S	+	-
188	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	R	S	R	S	+	+
205	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	R	R	S	S	+	+
210	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	R	S	S	S	-	+
224	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	R	S	R	S	+	+
125	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	R	S	R	S	+	-
303	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	R	R	R	S	+	+
Resistente (%)		100,0	43,7	84,4	0,0	93,7	75,0

R: resistente, S: sensível

tendo em vista que além dos *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus*, outras espécies de estafilococos têm apresentado virulência e resistência intrínseca a diferentes antimicrobianos, como o *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis* e o *Staphylococcus schleiferi*².

Vale destacar que o *Staphylococcus epidermidis* foi a espécie mais prevalente (41%) na saliva dos profissionais investigados, o que está de acordo com a literatura, pois esta é a espécie de ECN detectada com maior frequência em espécimes coletadas dos casos de infecções em humanos, em particular naquelas associadas com cateteres intravasculares. Além de ser o principal agente causador de bacteremia, endocardite de válvula protética, infecção relacionada à diálise peritoneal e ferida cirúrgica, no ambiente hospitalar^{16 19 34}.

Entretanto, as espécies de *Staphylococcus saprophyticus* e *Staphylococcus haemolyticus* também foram identificadas com frequência na saliva desses profissionais, sendo 25% e 18%, respectivamente. O *Staphylococcus haemolyticus* representa a segunda espécie mais frequente em infecções relacionadas a cateter, septicemia e endocardites, enquanto que o *Staphylococcus saprophyticus* apresenta-se como importante agente causador de infecção do trato urinário em mulheres jovens¹⁶. As infecções causadas por *Staphylococcus lugdunensis* são pouco frequentes em humanos, não obstante, quando ocorrem são graves e de progressão fulminante. Esse microrganismo tem sido associado a casos de endocardite de válvula nativa, a qual é caracterizada por uma fraca resposta aos tratamentos antimicrobianos convencionais, com importante

destruição valvular, formação de abscesso miocárdial, altas taxas de embolia periférica e aumento na mortalidade, incluindo os casos com tratamento cirúrgico^{3,28}.

Dos 100 ECN identificados, 32% apresentaram resistência à oxacilina nos testes de difusão em disco, 84,4% à mupirocina e 43,7% à cefoxitina, porém, todos os isolados apresentaram suscetibilidade à vancomicina. A resistência elevada dos ECN à mupirocina tem sido evidenciada, provavelmente devido ao uso dessa substância para a descolonização de indivíduos portadores de *Staphylococcus aureus* oxacilina resistentes^{9,10,19}. Esse resultado sinaliza para, a importância de se repensar as políticas de controle de microrganismos multirresistentes nos serviços de saúde.

Salienta-se ainda que, dos 32% ECN com resistência a oxacilina, detectada pelo teste de difusão de disco, 93,7% desenvolveram no agar com oxacilina, confirmando o perfil de resistência desses isolados. Estudo¹² realizado com recém-nascidos, evidenciou que 50% dos ECN isolados eram resistentes à oxacilina. Investigação que avaliou *Staphylococcus aureus* e ECN isolados da mucosa nasal de estudantes de medicina revelou que 23,5% dos ECN foram resistentes à oxacilina, enquanto todos os *Staphylococcus aureus* foram sensíveis a esse antibiótico, ressaltando que os ECN podem funcionar como um reservatório de resistência em seus portadores¹⁷.

Outro ponto relevante diz respeito à capacidade desses microrganismos em sintetizar a enzima lecitinase, capaz de degradar a bainha de mielina, sendo esse mecanismo, um fator de virulência de grande importância para os estafilococos, tanto para os *Staphylococcus aureus*, como para os ECN²⁰. Nesse estudo, foram identificados 16% de ECN produtores de lecitinase, dentre eles 15,6% eram oxacilina resistentes, sinalizando o potencial de virulência desses ECN nos indivíduos colonizados.

O gene *mecA* codifica a proteína alterada denominada PBP 2a da parede bacteriana, presente nos isolados de estafilococos oxacilina resistentes. Com relação à detecção desse gene em estafilococos, a maioria dos estudos enfoca os *Staphylococcus aureus*, cuja frequência de detecção tem variado de 14% a 35,5%^{1,7,13,22}. Apesar das investigações sobre a presença do gene *mecA* em isolados de ECN resistentes à oxacilina serem escassas, destaca-se que o percentual de resistência à oxacilina tem variado de 68,2% a 71%^{15,34}. No presente estudo, em 75% do ECN oxacilina resistentes detectou-se o gene *mecA* dos isolados da saliva de profissionais de enfermagem.

Os ECN estão entre os principais microrganismos emergentes, nosocomiais e com resistência a vários antimicrobianos, sendo que os ECN multirresistentes são comuns em pacientes hospitalizados. A emergência deste microrganismo tem limitado o arsenal terapêutico o que contribui para um risco aumentado de fracasso no tratamento^{17,29,32}.

Vale ressaltar que este estudo é pioneiro no que se refere à presença do gene *mecA* em ECN isolados da saliva de profissionais da saúde saudáveis. Estes achados sinalizam que maiores investimentos devem ser direcionados a identificação das espécies de ECN tanto nas instituições de saúde quanto na comunidade, bem como o perfil de resistência desse grupo de microrganismos, uma vez que os profissionais de saúde podem se constituir num importante reservatório desses estafilococos resistentes.

REFERÊNCIAS

1. Andrews WW, Schelonka R, Waites K, Stamm A, Cliver SP, Moser. Genital tract methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Risk of vertical transmission in pregnant women. *Obstetrics & Gynecology* 111:113-118, 2008.
2. Arché GL. *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Mandell, Douglas, Bennett's, Principles and practice of infectious diseases, New York, p.1777-1784, 1995
3. Anguera L, Diekema DJ, Doern GV. *Staphylococcus lugdunensis* infective endocarditis: description of 10 cases and analysis of native valve, prosthetic valve, and pacemaker lead endocarditis clinical profiles. *Heart* 91:1-7, 2005.
4. Boisson K, Thouvez M, Talon D, Bertrand X. Characterisation of coagulase-negative staphylococci isolated from blood infections: incidence, susceptibility to glycopeptides, and molecular epidemiology. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 21:660-665, 2002.
5. Boyce JM. MRSA patients: proven methods to treat colonization and infection. *Journal Hospital Infection* 48:9-14, 2001.
6. Centers for disease control and prevention. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. *Morbidity Mortality Weekly Report* 51: 16-25, 2002b. Disponível em: <http://www.cdc.gov>. Acesso em: 22 jun. 2007.
7. Chen TK, Huard RC, Della-Latta P, Saiman L. Prevalence of Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in pregnant women. *Obstetrics & Gynecology* 108: 482-487, 2006.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Tests Approved Standards. M2-A9. 9th edition, Wayne, PA USA, 2005.
9. Chong SC, Yin CS, Bakar AA, Skewi Z, Naing NN, Jamal F, Othman N. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 39:458-464, 2006
10. Coia JE, Duckworth GJ, Edwards DJ, Farrington M, Fry C, Humphreys H, Mallaghan C, Tucker DR. For the joint working party of the British Society of Antimicrobial chemotherapy, the Hospital Infection Society, and the Infection Control Nurses Association Guidelines for the control and prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare facilities. *Journal of Hospital Infection* 63:S1-44, 2006.
11. Costa SF, Miceli MH, Anaissie EJ. Mucosa or skin as source of coagulase-negative staphylococcal bacteraemia? *Lancet Infectious Diseases* 4:278-286, 2004.
12. Cunha L, Lopes CA, Rugolo LM, Chalita IV. Clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from neonates. *Journal de Pediatria* 78:279-288, 2002.
13. Dar JA, Thoker MA, Khan JA, Ali A, Khan MA, Rizwan M, Bhat KH, Dar MJ, Ahmed N, Ahmad S. Molecular epidemiology of clinical and carrier strains of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the hospital setting of north India. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 22:1-15, 2006.
14. Frigatto EA, Machado AM, Pignatari AC, Gales AC. Is the cefoxitin disk test reliable enough to detect oxacillin resistance in coagulase negative staphylococci? *Journal Clinical Microbiology* 43:2028-2029, 2005.
15. Hederstierna-Johnsen T, Henrik C, Schonheyder P, Kirsten P. Detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci by cefoxitin disk diffusion and oxacillin Etest. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica* 113:688-692, 2005.
16. Heikens E, Fleer A, Paaauw A, Florijn A, Fluit AC. Comparison of genotypic and phenotypic methods for species-level identification of clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology* 43:2286-2290, 2005.
17. Higuchi W, Isobe H, Iwao Y, Dohmae S, Saito K, Takano T, Otsuka T, Baranovich T, Endo C, Suzuki N, Tomiyama Y, Yamamoto T. Extensive multidrug resistance of coagulase-negative staphylococci in medical students. *Journal of Infection and Chemotherapy* 13:63-66, 2007.
18. Huang SY, Tang RB, Chen SJ, Chung RL. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia in critically ill children: risk factors and antimicrobial susceptibility. *The Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 36:51-55, 2003.
19. Hurdle JG, O'Neill AJ, Mody L, Chopra I, Bradley SE. In vivo transfer of high-level mupirocin resistance from *Staphylococcus epidermidis* to methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus* associated with failure of mupirocin prophylaxis. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 56:1166-1168, 2005.
20. Ito IY, Costa A, Baracchini O. Emprego da gema de ovo no isolamento de *Staphylococcus aureus*. The annals of Microbiology 16:189-192, 1969.
 21. Jarlov JO, Busch-Sorensen C, Espersen F, Mortensen I, Hougaard DM, Rosdahl VT. Evaluation of different methods for the detection of methicillin resistance in coagulase-negative *staphylococci*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 40:241-249, 1997.
 22. Kampf G, Adena S, Ruden H, Weist K. Inducibility and potential role *mecA*-gene positive oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from colonized healthcare workers as a source for nosocomial infections. Journal Hospital Infection 54:124-129, 2003.
 23. Kloos WE, Schleifer KH. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. Journal of Clinical Microbiology 1:82-88, 1975.
 24. Koneman EW, Woods GL, Procop GW, Schreckenberger PC, Allen SD, Janda WM. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th edition, Lippincott, Williams & Wilkins, p.1535, 2005.
 25. Krause R, Haberl R, Wolfler A, Daxbock F, Auner HW, Krejs GJ, Wenisch C, Reisinger EC. Molecular typing of coagulase-negative *staphylococcal* blood and skin culture isolates to differentiate between bacteremia and contamination. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 22:760-763, 2003.
 26. Kremer B, Jacobs JA, Soudijn ER, van der Ven AJ. Clinical value of bacteriological examinations of nasal and paranasal mucosa in patients with chronic sinusitis. European Archives of Otorhinolaryngology 258:220-225, 2001.
 27. Loveday HP, Pellowe CM, Jones SRLJ, Pratt RJ. A systematic review of the evidence for interventions for the prevention and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (1996-2004): report to the Joint MRSA Working Party (subgroup A). Journal Hospital Infection 63:545-570, 2006.
 28. Mamishi S, Pourakbari B, Ashtiani MH, Hashemi FB. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from bloodstream infections at Children's Medical Center, Tehran, Iran, 1996-2000. International Journal of Antimicrobial Agents 26:373-379, 2005.
 29. Monsen T, Karlsson C, Wistrom J. Spread of clones of multidrug-resistant, coagulase-negative *staphylococci* within a university hospital. Infection Control and Hospital Epidemiology 26:76-80, 2005.
 30. Monteiro GF. Segredos da Estatística em pesquisas científicas. 1^a edição, Editora Vieira. Goiânia, 2004.
 31. Murakami K, Espersen F, Mortensen I. Identification of methicillin-resistant strains of *Staphylococci* by polymerase chain reaction. Journal Clinical Microbiology 29:2240-2244, 1991.
 32. Nascimento JS, Ceotto H, Nascimento SB, Giambiagi-Demarval M, Santos KR, Bastos MC. Bacteriocins as alternative agents for control of multiresistant *staphylococcal* strains. Letters in Applied Microbiology 42:215-221, 2006.
 33. Nunes AP, Teixeira LM, Iorio NL, Bastos CC, Fonseca LS, Souto-Padron T, Santos KR. Heterogeneous resistance to vancomycin in *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus warneri* clinical strains: characterisation of glycopeptide susceptibility profiles and cell wall thickening. International Journal of Antimicrobial Agents 27:307-315, 2006.
 34. Oliveira ADD, Azevedo PA, Souza LB, Viana-Niero C, Francisco W, Lottenberg G, Martino MDV, Hofling-Lima AL. Laboratory detection for methicillin resistance in coagulase negative *Staphylococcus* isolated from ophthalmic infections. Arquivos Brasileiros de Oftalmologia 70:667-6675, 2007.
 35. Palazzo ICV, Araujo MLC, Darini ALC. First report of Vancomycin-resistant *Staphylococci* isolated from healthy carriers in Brazil. Journal of Clinical Microbiology 43:179-185, 2005.
 36. Prado-Palos MA. *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* metilicina resistentes. (MRSA) em Profissionais de saúde e as interfaces com as infecções nosocomiais. Tese de Doutorado. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.
 37. Sakarya S, Oncu S, Ozturk B, Tuncer G, Sari C. Neuraminidase produces dose-dependent decrease of slime production and adherence of slime-forming, coagulase-negative *staphylococci*. Archives of Medical Research 35:275-278, 2004.
 38. Shankar KR, Brown D, Hughes J, Lamont GL, Losty PD, Lloyd DA, van Saene HK. Classification and risk-factor analysis of infections in a surgical neonatal unit. Journal of Pediatric Surgery 36:276-281, 2001.
 39. Shittu A, Lin J, Morrison D, Kolawole D. Identification and molecular characterization of mannitol salt positive, coagulase-negative *staphylococci* from nasal samples of medical personnel and students. Journal of Medical Microbiology 55:317-324, 2006.
 40. Steers E, Foltz EL, Graaves VS. An inocula replicating apparatus for continue testing of bacterial susceptibility to antibiotics. Antibiotics and Chemotherapy 9:307-311, 1959.
 41. von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative *staphylococci*. Lancet Infectious Diseases 2:677-685, 2002.
 42. Westergren G, Krasse B. Evaluation of a micromethod for determination of Streptococcus mutans and Lactobacillus infection. Journal Clinical Microbiology 7:82-83, 1978.