

Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Centro de Ciências da Saúde  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Medicina  
Doenças Infecciosas e Parasitárias

CARACTERIZAÇÃO DE *Staphylococcus haemolyticus* ISOLADOS DE  
PACIENTES NEONATAIS, ANTES E DURANTE A PANDEMIA DE  
COVID-19

NATHÁLIA SALGUEIRO DA ROCHA

Rio de Janeiro

2025



# CARACTERIZAÇÃO DE *Staphylococcus haemolyticus* ISOLADOS DE PACIENTES NEONATAIS, ANTES E DURANTE A PANDEMIA DE COVID-19

Nathália Salgueiro da Rocha

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências aplicadas à Infectologia (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Aranha Nouér  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kátia Regina Netto dos Santos  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Sampaio Cavalcante

Rio de Janeiro  
2025

### CIP - Catalogação na Publicação

S111c Salgueiro da Rocha, Nathália  
Caracterização de *Staphylococcus haemolyticus*  
isolados de pacientes neonatais, antes e durante a  
pandemia de COVID-19 / Nathália Salgueiro da  
Rocha. -- Rio de Janeiro, 2025.  
99 f.

Orientadora: Fernanda Sampaio Cavalcante.  
Coorientadora: Simone Aranha Nouér.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do  
Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias,  
2025.

1. *Staphylococcus haemolyticus*. 2. unidade de  
terapia intensiva neonatal. 3. colonização. 4. COVID  
19. I. Sampaio Cavalcante, Fernanda, orient. II.  
Aranha Nouér, Simone, coorient. III. Título.

# CARACTERIZAÇÃO DE *Staphylococcus haemolyticus* ISOLADOS DE PACIENTES NEONATAIS, ANTES E DURANTE A PANDEMIA DE COVID-19

Nathália Salgueiro da Rocha

Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Aranha Nouér  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kátia Regina Netto dos Santos  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Sampaio Cavalcante

Qualificação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências aplicadas à Infectologia (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Aprovada por:

Káris Maria de Pinho Rodrigues



Documento assinado digitalmente

KARIS MARIA DE PINHO RODRIGUES  
Data: 09/09/2025 16:35:15-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Karla Rodrigues Miranda



Documento assinado digitalmente

KARLA RODRIGUES MIRANDA  
Data: 09/09/2025 18:31:01-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Monique da Silva Dias Babinski



Documento assinado digitalmente

MONIQUE DA SILVA DIAS BABINSKI  
Data: 10/09/2025 11:53:39-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Rio de Janeiro

2025

**Dedico esse trabalho aos pacientes da UTI neonatal do Hospital Público Municipal Dr. Fernando Pereira da Silva (HPM).**

## AGRADECIMENTOS

---

Agradeço, primeiramente a Deus, por me guiar e proteger até aqui.

Agradeço a minha mãe Rosa, que sempre me apoiou e me deu força nessa trajetória. Desde ir comigo na minha primeira visita ao laboratório, até virar a noite me escutando estudar e apresentar trabalho, só para me fazer companhia. Essa conquista também é sua e eu não tenho como te agradecer por tudo que fez por mim.

Agradeço ao meu pai Antônio, pelo apoio, incentivo e por sempre acreditar na minha capacidade de superar dificuldades. Todas as nossas conversas me dão forças para continuar. Esse mérito também é seu.

Agradeço ao meu irmão Leandro, por sempre torcer por mim, me incentivar e me fazer rir e por não ser só um irmão, ser meu amigo também.

Agradeço ao meu noivo Paulo, por seu companheirismo e amizade. Seu incentivo e apoio também foram essenciais para a minha trajetória. Sou grata por ter você comigo.

Agradeço a Prof. Dra. Fernanda Sampaio Cavalcante, por ter aceitado me orientar e por ter me confiado esse projeto, que tenho tanto carinho. Obrigada por todos os ensinamentos, conselhos e parceria. Você é um exemplo de pessoa e profissional.

Agradeço a Prof. Dra. Kátia Regina Netto dos Santos, por ter aberto as portas do Laboratório de Infecção Hospitalar (LIH) com muito carinho quando eu era só uma aluna da graduação de Biomedicina, que veio de outra faculdade. Sou muito grata pela oportunidade de participar das atividades do laboratório e por todos os ensinamentos transmitidos.

Agradeço a Prof. Dra. Simone Aranha Nouér, pela oportunidade de realização do mestrado em sua orientação, pelos ensinamentos e pela colaboração e por guiar esse projeto.

Agradeço ao Prof. Dr. Dennis, que tenho orgulho de chamar de amigo, por me aconselhar, compartilhar experiências profissionais e pelas conversas, que ajudaram a deixar tudo mais leve na rotina.

Agradeço a Dra. Lorryne pelo tempo que fiquei te acompanhando como aluna de iniciação científica. Você foi muito importante para a minha introdução na rotina do laboratório e para o meu aprendizado. Sou muito grata a você.

Agradeço a Dra. Tamara, minha madrinha do laboratório. Obrigada pelos ensinamentos, pelos conselhos, por me ensinar “mineirês” e principalmente pela sua amizade. Não tenho como agradecer por tudo que você fez por mim.

Agradeço a Bruna, pela ajuda com seu perfeccionismo, pela paciência em me ensinar CMB (só aquele fluxo sabe pelo oque passamos) e, principalmente, por ser a pessoa mais “gato” que eu conheço (risos). Sou muito grata pela sua amizade e parceria.

Agradeço ao Gabriel, pela ajuda com os meus slides de apresentações (um dia eu aprendo, a ser tão boa com tecnologia quanto você), por me fazer companhia até tarde no laboratório, e por ser meu sócio na BRT MOBRIIO. Fico muito feliz em te chamar de amigo.

Agradeço ao Jefferson, meu irmão científico, por toda a ajuda ao longo do mestrado, pelo seu humor que sempre me faz rir (quando eu estou com fome, não conta). Sua parceria e amizade foi essencial e eu devo muito desse trabalho à você. Te desejo muito sucesso na vida.

Agradeço a Thais, por toda ajuda com dúvidas, por compartilhar seu aprendizado com artigos, por me aturar te perturbando em parceria com Gabriel (sinto falta de você cantando). E principalmente pela sua amizade e pela parceria.

Agradeço a Priscilinha, a filha que a ciência me deu, por sempre me ajudar, por ser meu braço direito no laboratório. Tenho muito orgulho de quem você é e quem está se tornando.

Agradeço as alunas Gabi, Gabriela, Priscila e Nycolle pelas ajudas no laboratório. Torço muito por cada uma de vocês.

Agradeço ao Marlei, por sempre estar disposto a compartilhar seus conhecimentos. Tenho muita admiração por você.

Agradeço a Eliane, pela ajuda e paciência na rotina de identificação das amostras por MALDI, mas também pelos ensinamentos em Microbiologia Clínica durante meu estágio no IPPMG. Sou muito grata a você.

Agradeço ao Rodrigo, pela sua paciência em me ajudar com as minhas dúvidas e solicitações.

Agradeço as alunas de iniciação científica do laboratório de Bioquímica, Geovana e Rafaela, por ajudarem na rotina de vigilância dos *swabs* de Macaé e pela torcida. Vocês vão longe.

Agradeço a enfermeira Luciana Gonçalves por ter abraçado esse projeto comigo e com as minhas orientadoras, por toda a ajuda na coleta de *swabs* e por ter me recebido com muito carinho e paciência quando fui conhecer a rotina da UTI neonatal. Esse projeto é mérito seu também.

Agradeço a neonatologista Dra. Tania Barbetto, pelo apoio ao projeto e por nos receber de braços abertos na unidade.

Agradeço aos alunos Yasmin, Izabella, Adail e Leticia pela coleta dos *swabs*. E a aluna Julia, pela coleta dos dados clínicos dos pacientes, que eu sei que não é fácil. Vocês são essenciais para esse projeto.

Agradeço aos professores Dra. Káris Maria, Dra. Karla Rodrigues, Dra. Monique da Silva, Dr. Rafael Mello e Dra. Gizele Duarte, por aceitarem participar da minha banca examinadora e por revisarem meu trabalho.

Agradeço aos professores do corpo docente do curso de Pós-Graduação da DIP pelas contribuições para a minha formação.

Agradeço a coordenação do curso de Pós- Graduação da DIP, pela oportunidade de desenvolver esse projeto, e pela indicação ao prêmio de aluno FAPERJ NOTA 10.

Agradeço aos órgãos de fomento que concederam apoio financeiro e logístico para o desenvolvimento desde trabalho: CNPQ, CAPES e FAPERJ.

## RESUMO

### CARACTERIZAÇÃO DE *Staphylococcus haemolyticus* ISOLADOS DE PACIENTES NEONATAIS, ANTES E DURANTE A PANDEMIA DE COVID-19

Nathália Salgueiro da Rocha

Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Aranha Nouér  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kátia Regina Netto dos Santos  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Sampaio Cavalcante

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências aplicadas à Infectologia (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

Em unidades de terapia intensiva neonatal (UTIN), *Staphylococcus haemolyticus* é uma das principais espécies isoladas em infecções. Durante a pandemia de COVID-19, a rotina dessas unidades foi impactada. O objetivo deste estudo foi avaliar prevalência e características microbiológicas de *S. haemolyticus* isolados em uma UTIN fluminense antes e durante a pandemia. Swabs nasais foram coletados semanalmente em dois períodos (julho/2019-março/2020 e novembro/2020-março/2021), semeados em ágar manitol salgado e as espécies identificadas por espectrometria de massas. A suscetibilidade antimicrobiana foi avaliada por disco-difusão, a concentração inibitória mínima (CMI) para vancomicina por microdiluição em caldo, os tipos de SCCmec por PCR e a diversidade genética por rep-PCR. De 107 pacientes, 75 estavam colonizados (42 no primeiro período; 33 no segundo; prevalência de 70,1%). A internação motivada por prematuridade foi mais frequente entre pacientes colonizados ( $p=0,03$ ). Comparando os dois períodos do estudo, não houve variação no perfil clínico/demográfico da UTIN, exceto pela redução no uso de associação de ampicilina e gentamicina durante a pandemia ( $p=0,048$ ). Todas as amostras foram resistentes à metilina, 53,3% apresentavam resistência aos beta-lactâmicos, ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, gentamicina e STX-TMP; 78% apresentavam CMI para vancomicina  $\geq 4\mu\text{g/mL}$ , 66% carregavam o SCCmec V e 33,3% fermentavam manitol. Não houve variação significativa nessas variáveis entre os dois períodos. Apenas cinco genótipos foram encontrados e 70,6% das amostras pertenceram a um genótipo, predominante nos dois períodos, mais resistente a vancomicina ( $p=0,008$ ) e com maior capacidade de metabolizar manitol ( $p=0,048$ ). O estudo indicou disseminação e predomínio de um genótipo de *S. haemolyticus* multirresistente com baixa susceptibilidade à vancomicina, cuja prevalência não foi alterada após as mudanças impostas pela pandemia.

Palavras-chave: *Staphylococcus haemolyticus*; unidades de terapia intensiva neonatal; colonização; COVID-19

Rio de Janeiro  
2025  
**ABSTRACT**

# CHARACTERIZATION OF *Staphylococcus haemolyticus* ISOLATED FROM NEONATAL PATIENTS, BEFORE AND DURING THE COVID-19 PANDEMIC

Nathália Salgueiro da Rocha

Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Aranha Nouér  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kátia Regina Netto dos Santos  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Sampaio Cavalcante

*Abstract* da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Doenças Infecciosas e Parasitárias), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências aplicadas à Infectologia (Doenças Infecciosas e Parasitárias).

In neonatal intensive care units (NICUs), *Staphylococcus haemolyticus* is one of the main species isolated in infections. During the COVID-19 pandemic, the routine of these units was affected. This study aimed to evaluate the prevalence and microbiological characteristics of *S. haemolyticus* isolates in a NICU in the state of Rio de Janeiro before and during the pandemic. Nasal swabs were collected weekly during two periods (July 2019–March 2020 and November 2020–March 2021), plated on mannitol salt agar, and species were identified by mass spectrometry. Antimicrobial susceptibility was assessed by disk diffusion, vancomycin minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by broth microdilution, SCC*mec* types were identified by PCR, and genetic diversity was analyzed by rep-PCR. Of 107 patients, 75 were colonized (42 in the first period; 33 in the second; prevalence of 70.1%). Hospitalization due to prematurity was more frequent among colonized patients ( $p=0.03$ ). Comparing the two study periods, there was no variation in the clinical/demographic profile of the NICU, except for a reduction in the use of ampicillin and gentamicin combination therapy during the pandemic ( $p=0.048$ ). All isolates were methicillin-resistant; 53.3% were resistant to beta-lactams, ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin, gentamicin, and trimethoprim-sulfamethoxazole; 78% had a vancomycin MIC  $\geq 4$   $\mu\text{g/mL}$ , 66% carried SCC*mec* type V, and 33.3% fermented mannitol. There was no significant variation in these variables between the two periods. Only five genotypes were identified, and 70.6% of isolates belonged to a single genotype, predominant in both periods, which showed higher vancomycin resistance ( $p=0.008$ ) and greater ability to metabolize mannitol ( $p=0.048$ ). The study indicated dissemination and predominance of a multidrug-resistant *S. haemolyticus* genotype with low susceptibility to vancomycin, whose prevalence was not affected by the changes imposed by the pandemic.

Key words: *Staphylococcus haemolyticus*; neonatal intensive care units; colonization; COVID- 19.

Rio de Janeiro  
2025

# SUMÁRIO

---

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMO</b>	IV
<b>ABSTRACT</b>	V
<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS</b>	VIII
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b>	XI
<b>LISTA DE QUADROS</b>	XII
<b>LISTA DE TABELAS</b>	XIII
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2 OBJETIVOS</b>	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b>	4
3.1 Infecções relacionadas à saúde em neonatos	4
3.2 Gênero <i>Staphylococcus</i> e espécies coagulase negativas	7
3.3 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	9
3.4 <i>Staphylococcus haemolyticus</i> e sua importância no contexto neonatal	12
3.5 Avaliação da diversidade genética em <i>S. haemolyticus</i>	13
3.6 Resistência à meticilina em <i>Staphylococcus</i> spp.	15
3.7 Resistência à vancomicina	18
3.8 Impacto da COVID-19 nas unidades de saúde	20
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	23
4.1 Desenho do estudo	23
4.1.1 Tipo e local do estudo	23
4.1.2 Dinâmica do local do estudo durante a pandemia de COVID-19	23
4.1.3 Critérios de inclusão e exclusão	24
4.2 Identificação das espécies	28
4.2.1 Método de MALDI-TOF-MS ( <i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight – Mass Spectrometry</i> )	28

4.2.2	Reação em cadeia da polimerase (PCR)	29
4.3	Determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos	30
4.3.1	Caracterização da susceptibilidade aos antimicrobianos em geral	30
4.3.2	Determinação da concentração mínima inibitória para vancomicina	33
4.4	Detecção do gene <i>mecA</i> e caracterização do SCC <i>mec</i>	34
4.5	Avaliação da diversidade genética	37
4.6	Análise do perfil clínico do paciente	37
4.7	Análise estatística	38
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>39</b>
5.1	Amostras coletadas, identificação bacteriana e pacientes incluídos	39
5.2	Características clínicas e demográficas dos pacientes	41
5.3	Fermentação do manitol	44
5.4	Perfil de susceptibilidade	44
5.5	Caracterização do SCC <i>mec</i>	47
5.6	Diversidade genética	48
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>60</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>61</b>
	<b>ANEXO</b>	<b>82</b>

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AFLP	Do inglês: <i>Amplified Fragment length Polymorphism</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	Do inglês: <i>American Type Culture Collection</i>
AUC/CMI	Área abaixo da curva pela concentração mínima inibitória
BrCAST	Do inglês: <i>Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
CAAE	Certificado de apresentação de apreciação ética
CC	Complexo clonal
<i>Ccr</i>	Do inglês: <i>cassette chromosome recombinase</i>
CIP	Ciprofloxacino
CLI	Clindamicina
CLSI	Do inglês: <i>Clinical Laboratory Standard Institute</i>
CMI	Concentração mínima inibitória
COVID-19	Do inglês: <i>Coronavirus Disease 2019</i>
CVU	Cateter venoso umbilical
D-ala-D-ala	D-alanil-D-alanina
D-ala-D-lac	D-alanil-D-lactato
DNA	Do inglês: <i>desoxiribonucleic acid</i>
dNTP	Dinucleotídeo trifosfatado
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
ERI	Eritromicina
EUA	Estados Unidos da América
F	Do inglês: <i>Forward</i>
Fnbp	Do inglês: <i>fibronectin binding protein</i>
FOX	Cefoxitina
GEN	Gentamicina
HPM	Hospital Público Municipal Dr. Fernando Pereira da Silva

hVISA	Do inglês: <i>heterogeneous vancomycin-intermediate S. aureus</i>
hVICO NS	Do inglês: <i>heterogeneous vancomycin-intermediate coagulase negative Staphylococci</i>
I	Intermediário
ICS	Infecção da corrente sanguínea
IMPG	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
IWG-SCC	Do inglês: <i>International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassete Chromosome (SCC) Elements</i>
LIH	Laboratório de Infecção Hospitalar
LNZ	Linezolida
MALDI-TOF/MS	Do inglês: <i>matrix assisted laser desorption ionization-time of flight/mass spectrometry</i>
MDR	Do inglês: <i>multidrug resistant</i>
MLST	Do inglês: <i>Multilocus sequence typing</i>
MRSA	Do inglês: <i>Methicillin-resistant S. aureus</i>
MUP	Mupirocina
N	Número de amostras
NA	Não aplicável
NT	Não-tipável
OXA	Oxacilina
Pb	Pares de base
PBP	Do inglês: <i>penicillin-binding protein</i>
PCR	Do inglês: <i>polymerase chain reaction</i>
PEN	Penicilina
PFGE	Do inglês: <i>Pulsed-field gel electrophoresis</i>
PICC	Do inglês: <i>peripherally inserted central catheter</i>
PK/PD	farmacocinética/farmacodinâmica
R	Do inglês: <i>Reverse</i>

RIF	Rifampicina
RJ	Rio de Janeiro
SCC <i>mec</i>	Do inglês: <i>Staphylococcal Cassette Chromosome mec</i>
SCN	<i>Staphylococcus</i> coagulase-negativo
SCP	<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo
SDR	Síndrome do Desconforto Respiratório
ST	Do inglês: <i>Sequence type</i>
STX-TMP	Sulfametoxazol-trimetoprim
TET	Tetraciclina
TSB	Do inglês: <i>Trypticase Soy Broth</i>
U	Unidade
UFC	Unidade formadora de colônias
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UPGMA	Do inglês: <i>unweighted pair group method with arithmetic mean</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UTIN	Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal
UV	Ultravioleta
VISA	Do inglês: <i>vancomycin intermediate S. aureus</i>
WHO	Do inglês: <i>World Health Organization</i>
1ºP	1º período do estudo, antes da pandemia de COVID-19
2ºP	2º período do estudo, durante a Pandemia de COVID-19
%	Porcentagem

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura	Legenda	Página
1	Comparação das estruturas dos tipos de SCC <i>mec</i> I até XIV em <i>S. aureus</i> . O SCC <i>mec</i> deve conter o complexo do gene <i>mec</i> e o gene <i>ccr</i> (complexo), com sequência do sítio de integração e repetições diretas em ambas as extremidades (adaptada de IWG-SCC, 2022).	18
2	Número de casos, óbitos e taxa de letalidade da COVID-19 no Brasil por mês e data de início e término das coletas de <i>swab</i> dos neonatos em cada um dos períodos do estudo. (adaptada de Brasil, 2024)	25
3	Fluxograma da metodologia utilizada neste estudo.	26
4	Identificação das 351 amostras de <i>Staphylococcus spp.</i> isoladas em 107 pacientes da unidade de terapia intensiva neonatal, nos dois períodos do estudo.	40
5	Dendrograma demonstrando a diversidade genética através de (GTG)5-PCR e características microbiológicas de 75 <i>S. haemolyticus</i> , isolados de pacientes de uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal.	49

## LISTA DE QUADROS

Quadro	Legenda	Página
1	Amostras bacterianas utilizadas como controles nas avaliações microbiológicas realizadas no presente estudo.	27
2	Interpretação dos resultados do MALDI-TOF-MS.	29
3	Sequência dos oligonucleotídeos utilizados para detecção do fragmento gênico específico de <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus haemolyticus</i> na PCR.	30
4	Descrição das categorias de susceptibilidade e seus respectivos pontos de corte para interpretação dos valores de halo de inibição de acordo com o CLSI (2024) e BrCAST (2024) para amostras de <i>Staphylococcus</i> spp. (exceto <i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i> ).	32
5	Valores de CMI relativos aos breakpoints de vancomicina segundo o CLSI (2024) e BrCAST(2024) para <i>S. haemolyticus</i> .	34
6	Sequência dos oligonucleotídeos utilizados e amplicons obtidos na PCR multiplex para a caracterização do complexo <i>ccr</i> .	35
7	Sequência dos oligonucleotídeos utilizados e amplicons obtidos na PCR multiplex para a caracterização do complexo <i>mec</i> .	35
8	Classificação dos tipos de SCC <i>mec</i> de acordo com os tipos e classes de complexos <i>ccr</i> e <i>mec</i> , respectivamente, para amostras de <i>Staphylococcus</i> spp.	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela	Legenda	Página
1	Número de pacientes colonizados por <i>Staphylococcus haemolyticus</i> em uma unidade de terapia intensiva neonatal, antes e durante a pandemia de COVID-19.	40
2	Características clínicas e demográficas associadas aos 75 pacientes de uma unidade de terapia intensiva neonatal, de acordo com o período avaliado.	41
3	Características clínicas e demográficas associadas aos pacientes colonizados e não colonizados por <i>Staphylococcus haemolyticus</i> de uma unidade de terapia intensiva neonatal.	43
4	Resistência antimicrobiana de 75 amostras de <i>Staphylococcus haemolyticus</i> isoladas antes e durante a pandemia em uma UTI neonatal.	45
5	Perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos encontrados em 75 amostras de <i>Staphylococcus haemolyticus</i> isoladas de neonatos colonizados, antes e durante a pandemia de COVID-19.	46
6	Concentração mínima inibitória para vancomicina em 75 amostras de <i>Staphylococcus haemolyticus</i> isoladas de neonatos colonizados.	47
7	Classificação das 75 amostras de <i>Staphylococcus haemolyticus</i> resistentes à metilina em relação aos tipos de SCCmec.	48
8	Distribuição dos genótipos identificados em 75 amostras de <i>Staphylococcus haemolyticus</i> isoladas de neonatos, antes e durante a pandemia de COVID-19.	50
9	Características microbiológicas de amostras de <i>Staphylococcus haemolyticus</i> associadas ao Genótipo A e a outros genótipos, dentre as 75 avaliadas neste estudo.	51

# 1 INTRODUÇÃO

---

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) representam um grave problema de saúde pública (Gammon et al., 2019; Osme et al., 2020; Moradi et al., 2024). Os neonatos internados em unidades de terapia intensiva neonatal (UTIN) são um dos grupos mais propensos a esse tipo de infecção (Fortaleza et al., 2017; De Mello Freitas et al., 2021). Isto se deve a diversos fatores, que envolvem a imaturidade da pele, aspectos imunológicos e à elevada frequência de procedimentos aos quais esses pacientes são submetidos, que constituem fatores de risco para o desenvolvimento das IRAS (Rangelova et al., 2020; Menezes et al., 2021).

O gênero *Staphylococcus*, principalmente as espécies *S. epidermidis* e *S. haemolyticus* são os principais microrganismos envolvidos em IRAS que acometem neonatos, e as infecções de corrente sanguínea (ICS) associadas ao uso de cateter são os eventos infecciosos mais comuns (Dong & Speer, 2014; Scamardo et al., 2020; De Mello Freitas et al., 2021). *Staphylococcus* são cocos Gram positivos, ubíquos, que podem ser divididos de acordo com a sua capacidade de produção e secreção da proteína coagulase (Sigudu et al., 2023). A espécie *S. aureus* é a principal representante do grupo dos coagulase positivos devido ao seu grande arsenal de fatores de virulência, o que a torna um dos principais patógenos humanos (GBD, 2019). Por outro lado, os *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN), que possuem poucos fatores de virulência, são as bactérias mais abundantes na pele humana (Joglekar et al., 2023).

Nesse contexto, *S. haemolyticus* responde pelo segundo lugar como agente etiológico de infecções causadas por SCN (Czejak et al., 2015; ECDP, 2024). Além da capacidade de formação de biofilme, um número notável de genes de virulência, de resistência aos antimicrobianos e aos metais pesados e, de tolerância à saneantes têm sido descritos (Chan et al., 2015; Pinheiro et al., 2015; Eltwisy et al., 2020; Westberg et al., 2022; Silva-de-Jesus et al., 2023; Magnan et al., 2024). A maioria das cepas é resistente às penicilinas semissintéticas, antimicrobiano de escolha para o tratamento dessas infecções (Zhydzetski et al., 2024). Além disso, há evidências de

que *S. haemolyticus* possa atuar como reservatório de genes de resistência para outras espécies de estafilococos, incluindo *S. aureus*, potencializando a disseminação da resistência antimicrobiana em ambiente hospitalar (Rossi et al. 2016; Morgado et al., 2024).

Desde 2022, quando uma epidemia de proporção nacional foi detectada em UTINs da França, *S. haemolyticus* vem causando surtos em unidades neonatais em diferentes países do mundo (Chakraborty et al., 2022; Westberg et al., 2022; Afeke et al., 2023). A epidemiologia molecular tem desempenhado um papel fundamental na compreensão desses surtos permitindo a identificação de perfis genéticos disseminados em ambientes hospitalares. Além da possibilidade de sequenciamento do genoma total, técnicas como o PFGE (eletroforese em gel de campo pulsado), MLST (tipagem por sequenciamento do *multilocus* enzimático) e *rep*-PCR (que se baseia na amplificação de sequências repetidas no genoma) podem ser aplicadas, e normalmente encontram uma grande variabilidade genética entre as amostras analisadas.

No Brasil, são escassos os estudos sobre a prevalência de *S. haemolyticus* em neonatos, mas na década de 2010 foram reportadas taxas elevadas de infecção e colonização nesta população (Ternes et al., 2013; Pereira et al., 2014; Salgueiro et al., 2019). Desde 2019, a colonização por *Staphylococcus* em uma UTIN do interior do estado do Rio de Janeiro vem sendo monitorada e foi verificado uma elevada frequência no isolamento de *S. haemolyticus* em bebês da unidade. A pandemia de COVID-19 afetou a dinâmica e a rotina dos serviços de saúde, acarretou o aumento do uso de saneantes e de antimicrobianos pela população. Portanto, este estudo foi conduzido para investigar se houve alteração na prevalência de *S. haemolyticus* entre os períodos, antes e durante a pandemia de COVID-19, assim como na resistência antimicrobiana e diversidade clonal bacteriana.

## 2 OBJETIVOS

---

### 2.1 Objetivo geral

Este estudo tem por objetivo descrever a prevalência, as características fenotípicas e moleculares de *Staphylococcus haemolyticus* isolados de colonização em neonatos internados em uma UTIN do Rio de Janeiro, antes e durante a pandemia de COVID-19.

### 2.2 Objetivos específicos

- Delinear o perfil clínico e demográfico dos pacientes da unidade, nos dois períodos avaliados;
- Identificar, via espectrometria de massas (MALDI-TOF-MS) e PCR espécie-específico, as espécies *Staphylococcus* spp, isoladas de *swab* nasal;
- Determinar a susceptibilidade aos antimicrobianos em amostras de *S. haemolyticus*;
- Avaliar a concentração mínima inibitória para vancomicina em amostras de *S. haemolyticus*;
- Caracterizar o tipo de SCC*mec* nas amostras de *S. haemolyticus* resistentes à meticilina;
- Analisar a diversidade genética das amostras de *S. haemolyticus*;

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

---

### 3.1 Infecções relacionadas à saúde em neonatos

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são aquelas que ocorrem durante o tratamento para outras doenças e tem o potencial de aumentar significativamente o tempo de internação, os custos financeiros relacionados ao tratamento e a taxa de mortalidade (Gammon et al., 2019; Moradi et al., 2024). No Brasil, Osme e colaboradores (2020) determinaram que o custo do tratamento para o Sistema Único de Saúde é de US\$2721 caso o paciente desenvolva IRAS e U\$ 1553 caso estas infecções não ocorram. O tempo de internação pode aumentar, em média, 11 dias caso o paciente desenvolva IRAS (Moradi et al., 2024)

Dados do Brasil, Estados Unidos da América e União Europeia indicam que os principais microrganismos causadores de IRAS são as enterobactérias, principalmente *Klebsiella* spp. e *E. coli*, seguido por *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e, em menor proporção, *Enterococcus* spp. e *Candida* spp. (Braga et al., 2018; Suetens et al., 2018; Magill et al., 2014). Braga e colaboradores em 2018 verificaram em um estudo no Brasil, realizado em Minas Gerais, que *S. aureus* e *P. aeruginosa* foram responsáveis por 39% e 27,1%, respectivamente, de todas as infecções em 28 unidades de terapia intensiva destinadas a pacientes adultos. Em infecções de corrente sanguínea (ICS), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* e outros *Staphylococcus* coagulase negativos foram mais comuns. Os autores também relataram que a taxa de resistência à meticilina entre *Staphylococcus* spp. foi de 45%.

Os neonatos, as crianças menores de um ano e os idosos, com mais de 65 anos, são os grupos mais afetados pela ocorrência de IRAS, sendo que as crianças são mais propensas a desenvolver infecções de corrente sanguínea, enquanto os idosos estão mais associados a infecções de pele e do trato urinário (Fortaleza et al., 2017). De modo geral, os grupos de mais alto risco para o desenvolvimento de IRAS são os pacientes que utilizam dispositivos invasivos, como cateter venoso central e cateter vesical, os que estão sob ventilação mecânica, os extremos etários e os

pacientes de unidades de terapia intensiva (UTI) (Fortaleza et al., 2017). Vale reforçar que a prevalência de IRAS é maior nas unidades de terapia intensiva (Braga et al., 2018), principalmente aquelas destinadas a neonatos (UTIN) (De Mello Freitas et al., 2021).

Menezes e colaboradores. (2021), em estudo realizado em uma UTIN de Minas Gerais, identificaram como fatores de risco para a aquisição de IRAS em neonatos a idade gestacional de até 28 semanas, a hospitalização prolongada e o uso de dispositivos invasivos, como cateter central de inserção periférica, ventilação mecânica e nutrição parenteral. De maneira semelhante, Ertugrul e colaboradores. (2016), ao analisarem infecções da corrente sanguínea em neonatos de uma UTIN na Turquia, apontaram esses mesmos fatores e acrescentaram o uso de cateter umbilical, a realização de procedimentos cirúrgicos, o uso de antimicrobianos, a transfusão de plasma ou hemácias, a ocorrência de hemorragia intracraniana e o baixo peso ao nascer. Em um estudo conduzido em Taiwan, Kung et al. (2016) também verificaram a associação de procedimentos invasivos, nutrição parenteral e hemorragia intracraniana com IRAS em neonatos, porém não consideraram o uso de antimicrobianos e transfusões como fatores de risco. Além disso, no estudo, o peso ao nascer e a idade gestacional foram semelhantes entre os grupos com e sem infecção, não sendo, portanto, considerados fatores de risco. No entanto, sabe-se que mais de 60% das IRAS em UTINs acometem neonatos com menos de 1000g, e a incidência diminui significativamente conforme o peso da criança aumenta (Scamardo et al., 2020).

Em neonatos, as IRAS apresentam taxa de mortalidade entre 18% e 36% (Pammi & Weisman 2015; McGovern et al., 2020). As crianças que apresentam essas infecções no período neonatal também têm um risco aumentado de apresentarem déficit motor e/ou cognitivo (Rand et al., 2016). Não está totalmente elucidado o motivo dos neonatos serem um grupo tão propenso às IRAS. Além da presença dos fatores de risco acima descritos, sabe-se também que uma das causas é o estrato córneo ter menos camadas. Em um estudo antigo, (Evans & Rutter 1986) demonstram que neonatos nascidos a termo possuem em geral 16 camadas de células, enquanto aqueles que nascem na 26ª semana de gestação apresentam apenas três camadas, o que reduz a proteção a infecções fornecida pela pele. Além disso, em 2018, Harberson e colaboradores postularam a hipótese de que o sistema imune dos

neonatos seja mais “tolerante” aos patógenos do que os adultos. De fato, há muito tempo se sabe que as ICS em neonatos atingem cargas bacterianas circulantes muito maiores que nos adultos (Yagupsky et al., 1990). Em ICS em adultos, são encontradas de 1 a 30 UFC/mL de sangue, sendo que uma contagem de 100 UFC/mL está associada à 100% de mortalidade, enquanto neonatos podem apresentar de 50 a 500 UFC/mL de sangue, com um terço deles apresentando >1.000 UFC/mL (Dietzman et al., 1974). Essa tolerância maior aos patógenos, segundo Haberson et al., (2018), seria resultado de um processo de supressão imunológica que existe para preservar a formação da microbiota intestinal e para garantir que o neonato consiga direcionar seu metabolismo para o crescimento e desenvolvimento, evitando gasto energético com a prevenção e destruição de patógenos.

O principal agente etiológico de IRAS em neonatos são os *Staphylococcus* coagulase negativos, que causam até 40% destas infecções (Dong & Speer 2014; Bizzarro et al., 2015; Scamardo et al., 2020; De Mello Freitas et al., 2021). Acredita-se que em crianças saudáveis que nascem a termo, essas bactérias se estabelecem definitivamente na microbiota na terceira semana de vida (Chu et al., 2017; Ta et al., 2018). Contudo, a prematuridade e a estadia em UTIN afetam a colonização da pele por *Staphylococcus*. Isto foi identificado inicialmente em 2010, por Bjorkqvist e colaboradores, que ao avaliar 20 neonatos prematuros, verificaram que 30% estavam colonizados por SCN antes do terceiro dia de vida. Em sete dias, 95% já estavam colonizados. Neste estudo, os autores também verificaram que de 14 pacientes que desenvolveram ICS por SCN, 11 estavam colonizados em pele e/ou narina por amostras geneticamente idênticas. Um outro estudo que avaliou a colonização nasal de neonatos prematuros e com baixo peso nos primeiros dias de vida (Cason et al., 2021), demonstrou que dentro das primeiras horas após o parto, estas crianças apresentavam colonização nasal por bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* ou *Rothia*, que tem origem na microbiota materna e nas bactérias do ambiente hospitalar, especialmente nas superfícies da sala de parto. Após alguns dias de internação na UTIN, a tendência foi verificar um aumento significativo nas taxas de colonização por *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Escherichia coli*, inclusive por cepas multirresistentes, que são adquiridas na UTIN. Além disso, entre nove e treze dias após a internação na UTIN, a diversidade bacteriana decaiu bastante, e

*Staphylococcus* e *Escherichia* adquiridos no ambiente passaram a ser os gêneros mais abundantes na mucosa nasal da criança. Younge e colaboradores (2018) avaliaram a microbiota da pele de neonatos prematuros e nascidos a termo e encontraram os gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia* e *Enterobacter*, sendo que a microbiota cutânea de bebês prematuros tinha menor diversidade e maior abundância de *Staphylococcus* e *Escherichia* do que a microbiota dos bebês a termo. Os autores também coletaram amostras do ambiente hospitalar e concluíram que uma proporção substancial da microbiota na pele da criança tinha origem em bactérias do ambiente hospitalar.

### **3.2 Gênero *Staphylococcus* e espécies coagulase negativas**

O gênero *Staphylococcus* está inserido na família *Staphylococcaceae* e abriga mais de 60 espécies (LPSN, 2025). Essas bactérias são classificadas como Gram positivos, imóveis, não flagelados, anaeróbios facultativos, resistentes a 0,04 U de bacitracina e com temperatura ótima de crescimento entre 30 °C e 37 °C. Algumas espécies de *Staphylococcus* produzem e secretam uma proteína denominada coagulase, que recebe este nome por converter o fibrinogênio do plasma em fibrina, levando a formação de um coágulo. As espécies que possuem esta característica são chamadas *Staphylococcus* coagulase positivos (SCP). No entanto, a maior parte das espécies de *Staphylococcus* não produzem a coagulase e são conhecidos como *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) (Carroll et al., 2019).

Os *Staphylococcus* coagulase-positivos, apesar de constituírem menos espécies, possuem como principal representante *Staphylococcus aureus*, que é amplamente reconhecido como um importante agente etiológico de infecções em humanos, abrangendo desde infecções superficiais da pele até condições graves, como pneumonia, endocardite e sepse (Tong et al., 2015). A importância clínica se deve, principalmente, à presença de diversos fatores de virulência que atuam na adesão, evasão imunológica e disseminação tecidual. Esses fatores também incluem a produção de citolisinas (como as hemolisinas e a leucocidina de Panton-Valentine), toxinas (como as toxinas esfoliativas, enterotoxinas e a toxina da síndrome do choque tóxico) e enzimas que degradam tecidos (como lipases, colagenases, hialuronidasas). A presença desses determinantes de virulência torna *S. aureus* altamente patogênico

e difícil de tratar, especialmente em casos de resistência antimicrobiana, como ocorre com as amostras resistentes à meticilina (Cheung; Bae; Otto, 2021)

Os SCN, por outro lado, foram durante muito tempo considerados espécies não patogênicas (Kloos; Bannerman, 1994; Vermont et al., 1998) e somente nos últimos 25 anos passaram a ser considerados relevantes como agentes causadores de infecções no ambiente hospitalar. Essas bactérias são extremamente abundantes na superfície da pele, sendo provavelmente o gênero mais encontrado na microbiota cutânea de seres humanos (Gautam et al., 2017; Byrd et al., 2018). A predominância dos *Staphylococcus*, em especial os SCN, na pele humana se deve a algumas características de espécies deste grupo, como o fato de serem espécies halotolerantes, suportando assim o alto teor de sal do suor, de utilizar a ureia presente no suor como fonte de nitrogênio e de possuir adesinas que permitem a fixação à pele (Scharschmidt, TC & Fischbach, 2013). Além disso, as espécies de SCN são conhecidas por produzirem uma variedade de bacteriocinas e substâncias antimicrobianas que eliminam outras espécies (Zipperer et al., 2016; Severn et al., 2022; Liu et al., 2024)

Neste contexto, *S. epidermidis* é a espécie mais abundante na superfície da pele (Byrd et al., 2018; Severn et al., 2019, Joglekar et al., 2023) e, juntamente com *S. aureus*, são as duas principais espécies encontradas na mucosa nasal (Liu et al., 2024). As outras duas espécies mais encontradas na superfície da pele são *S. capitis* e *S. hominis*. *S. capitis* é predominante no couro cabeludo (Widaty et al., 2023) e se distribui equilibradamente pelo restante da superfície do corpo, porém em menor abundância que *S. epidermidis* (Joglekar et al., 2024). Já *S. hominis* predomina em regiões mais úmidas e de dobras, como a fossa antecubital (dobra interna dos cotovelos), região inguinal, entre os dedos dos pés (Joglekar et al., 2023) e nas axilas (Li et al., 2019). Na orelha externa, *S. auricularis* é a espécie mais frequente (Joglekar et al., 2023).

Embora alguns estudos indiquem que *S. haemolyticus* e *S. epidermidis* podem carrear citolisinas e enterotoxinas (Eltwisy et al., 2020; Pinheiro et al., 2015), em geral os SCN são comensais e possuem poucos atributos de virulência. Por isso, causam infecções apenas mediante situações de imunossupressão e/ou utilização de procedimentos invasivos (Argemi et al., 2019), sendo conhecidas como bactérias oportunistas. Porém, um fator de virulência importante e frequente entre os SCN é a

formação de biofilme. Essa propriedade permite que os SCN realizem um processo de aderência a superfícies bióticas e abióticas e por isso torna-se o principal mecanismo através do qual estas bactérias acessam e se estabelecem em cateteres vasculares. A formação desse biofilme se dá por algumas etapas: adesão das células a uma superfície, maturação que se dá pela divisão e agregação de células, para a formação de multicamadas, ocorrendo também a produção de uma matriz extrapolimérica e dispersão das células do ambiente (Otto M. 2018).

### **3.3 *Staphylococcus haemolyticus***

*S. haemolyticus* é a segunda espécie de SCN mais relacionada a infecções humanas (Czejak et al., 2015; ECDP, 2024), que responde por até 20% das infecções causadas por SCN (Eltwisy et al., 2022). Descrito em 1975 por Kloos & Schleifer (1975), seu genoma é de aproximadamente  $2,4 \times 10^6$  pares de base, o que é semelhante ao genoma de *S. aureus* e de *S. epidermidis*, apresentando inclusive um conteúdo G+C similar a estas duas espécies (Chan et al., 2015). As condições ótimas de crescimento de *S. haemolyticus* são temperatura entre 30 e 40 °C, sob aerobiose e na presença de 10% de NaCl (Voes et al. 2009). *S. haemolyticus* é um microrganismo ubíquo, encontrado na pele humana, colonizando as axilas (Troccaz et al., 2015) e os pés (Joglekar et al., 2023), em água e estações de tratamento de esgoto (Basso et al., 2014; Batista et al., 2023) e em animais de rebanho (Leroy et al., 2015; Chuprom et al., 2023) e de estimação (Ruzauskas et al., 2015; Phumthanakorn et al., 2023).

Embora classicamente os SCN sejam considerados microrganismos pouco virulentos, alguns estudos realizados nos últimos anos vêm mostrando que amostras de *S. haemolyticus* podem carrear diversos genes associados à adesão e evasão da resposta imune. Eltwisy e colaboradores (2020) conduziram um estudo acerca da virulência em *S. haemolyticus* e para isso selecionaram 10 amostras desta espécie isoladas de feridas de úlceras em pacientes diabéticos em um hospital no Egito. Eles verificaram que 90% das amostras de *S. haemolyticus* avaliadas carreavam os genes *fnbA* e *fnbB*, 80% os genes da alfa-hemolisina e 50% eram positivos para gene *seg*, que codifica a enterotoxina G. Além disso, demonstraram alta capacidade de adesão a fibroblastos humanos, bem como conseguiram induzir a apoptose destas células. Pinheiro e colaboradores (2015), em estudo com amostras do Brasil, isoladas de

hemocultura, também verificaram que mais de 90% dos *S. haemolyticus* carregavam o gene *hla*, que codifica a alfa-hemolisina de *S. aureus*. Além disso, os genes para  $\beta$  e  $\delta$ -hemolisina foram detectadas em 81% e 40,5% das amostras, respectivamente. Sabe-se que a  $\beta$ -toxina atua na evasão da resposta imune, ao destruir monócitos, polimorfonucleares, linfócitos em repouso e linfócitos T em proliferação, enquanto a  $\delta$ -toxina está associada ao sistema *quorum sensing* da bactéria (Novick et al., 2007) e, por isso, podem colaborar com o estabelecimento da infecção. No Brasil, Araújo-Alves e colaboradores (2022) identificaram a presença do gene *shsA* de *S. haemolyticus*, ortólogo dos genes *sasX*, de *S. aureus* e *sesI*, de *S. epidermidis*, e que codifica uma proteína de superfície envolvida no estabelecimento da colonização e na invasividade da bactéria. Curiosamente, no ano seguinte, Silva-de-Jesus e colaboradores (2023) encontraram os genes *sesI* em amostras de *S. haemolyticus*, o que sugere a transferência horizontal de genes que ocorre entre as espécies.

A prevalência das infecções causadas por *S. haemolyticus* é agravada pelo fato de que a frequência de cepas multirresistentes isoladas no mundo aumentou nos últimos anos (MAGNAN et al., 2024). O genoma dessas cepas multirresistentes vem sendo mapeado usando tecnologias de sequenciamento de última geração, que apontam a ocorrência de múltiplos genes, associados à resistência aos beta-lactâmicos (*blaZ* e *mecA*), quinolonas (*norA*, *norB* e *norC*), aminoglicosídeos (*aac(6')* e *aph3*), polimixinas (*pmrF*), trimetoprim (*dfrC*), linezolida (*optrA*), à resistência cruzada à estreptogramina B, lincosamidas e macrolídeos (*ermK* e *msrA*) (Chan et al., 2015; Westberg et al., 2022). Chan e colaboradores (2015) também reportaram a ocorrência das bombas de efluxo do tipo MFS, que conferem resistência a múltiplos antimicrobianos, como tetraciclina, cloranfenicol e macrolídeos. Além dos genes que codificam resistência a antibióticos, um estudo realizado no sul da França, em 2024, identificou a presença de genes envolvidos na tolerância à saneantes e antissépticos *qacE*, *qacH*, *qacA/qacR*, que codificam bombas de efluxo associadas à expulsão de compostos de quaternário de amônio. Também foram detectados os genes que codificam bombas de efluxo de cobre (*copA*, *copB* e *copZ*) e transportadores de zinco (*crzB* e *crzA2*) envolvidos na resistência a metais pesados. Esses genes foram encontrados em todos os 53 genomas de *S. haemolyticus* analisados (Magnan et al. 2024).

A presença de genes de resistência, de tolerância a saneantes e de virulência em *S. haemolyticus* é preocupante, pois esta espécie pode servir como reservatório e transferir esses genes para outras espécies. Essa transferência de genes vem sendo analisada em alguns trabalhos, como o de Rossi e colaboradores (2016), que observaram a presença de plasmídeos e o genótipo de resistência à mupirocina em nove amostras de *S. haemolyticus* isoladas de hemocultura no Brasil. Esses plasmídeos mostraram-se diversos, sendo conjugativos ou mobilizáveis, e capazes de transferir resistência à mupirocina para *S. aureus*. Já no estudo de Morgado et al. (2024), vários plasmídeos putativos foram observados abrigando genes de resistência em *S. haemolyticus*. Os autores encontraram o raro gene da metiltransferase ribossomal *cfrA*, o qual é transmitido por plasmídeo e associado à resistência a vários antibióticos. A literatura indica que as principais infecções causadas por esta espécie são as infecções de corrente sanguínea (ICS) associadas a cateteres vasculares (Ahmed et al., 2015; Puspita et al., 2021; Eltwisy et al., 2022; Patil et al., 2024). Alguns fatores podem explicar este fato. Primeiramente, embora *S. haemolyticus* seja uma espécie pouco abundante na superfície corporal de pessoas saudáveis (Joglekar et al., 2023), ela é comum nas mãos de profissionais de saúde e indivíduos hospitalizados (Salgueiro et al., 2019; Alahmadi et al., 2021; Liu et al., 2024). Eltwisy e colaboradores em dois estudos, de 2020 e 2022, propuseram que em amostras de *S. haemolyticus* a presença da adesina Fnbp e o estabelecimento do biofilme facilitem a adesão e internalização bacteriana através do cateter. Já na corrente sanguínea, acredita-se que *S. haemolyticus* secrete fatores de virulência como hemolisinas e enterotoxinas. Além de ser reportado como um dos principais patógenos isolados em ICS, sendo especialmente comum naquelas que acometem neonatos hospitalizados (Westberg et al., 2022; Goliska et al., 2023), diversos estudos documentam a ocorrência de infecções por *S. haemolyticus* em outros sítios. Em uma publicação de Bryce, Doocey e Handy (2021) é relatado *S. haemolyticus* causando meningite após ICS relacionada ao cateter central de inserção periférica. Estudos recentes também identificaram *S. haemolyticus* e *S. epidermidis* como principais causadores de infecções urinárias comunitárias na Tanzânia (Phillip et al., 2023). Entre os SCN, *S. haemolyticus* é a segunda espécie mais encontrada em infecções oculares. Foi relatado também, amostras de *S. haemolyticus* da linhagem ST25/CC1 como causadoras de ceratite na Índia e Europa (Panda et al., 2016; Couto et al., 2018).

### 3.4 *Staphylococcus haemolyticus* e sua importância no contexto neonatal

Tradicionalmente, *S. epidermidis* é a espécie mais associada a infecções desenvolvidas por neonatos durante a internação em UTIN (Lee et al., 2019; Salgueiro et al., 2019; Soeorg et al., 2017). Este achado vai de encontro ao fato de que esta é a espécie mais isolada nesta população (Salgueiro et al., 2019; Cason et al., 2021). Nos últimos anos, contudo, a literatura aponta para um crescente aumento no isolamento de *S. haemolyticus* resistentes à meticilina em colonização/infecção de pacientes de UTINs no Brasil. Em 2010, Ternes e colaboradores já haviam detectado uma prevalência muito semelhante de *S. epidermidis* (38%) e *S. haemolyticus* (38.3%) entre neonatos de uma UTIN de Goiânia. Em 2014, Pereira e colaboradores encontraram esta espécie como o mais frequente SCN em infecções de corrente sanguínea de neonatos no Rio de Janeiro, sendo responsável por 77,5% dos casos e com 90,3% das amostras apresentando resistência à meticilina. Posteriormente, Salgueiro e colaboradores (2019) encontraram uma prevalência menor de *S. haemolyticus* em neonatos colonizados no Rio de Janeiro (23,3%), porém 90% destas amostras eram resistentes à meticilina.

Em outros países do mundo, também há diversos relatos da emergência de cepas multirresistentes de *S. haemolyticus* no contexto neonatal. Em 2020, um estudo multicêntrico realizado na França indicou que *S. epidermidis* e *S. capitis* eram os maiores responsáveis por ICS em neonatos, porém os autores já apontavam, naquele momento, um aumento importante na prevalência de *S. haemolyticus* (Decaleonne et al., 2020). Em 2022, o Ministério da Saúde da França detectou uma epidemia de óbitos em neonatos causados por *S. haemolyticus* em 12 das 18 regiões administrativas da França, o que foi investigado pelo Centro Nacional de Referência em *Staphylococcus* daquele país (Martins Simões et al., 2025).

Desde então, surtos por *S. haemolyticus* em neonatos vem sendo reportados não somente na França (Magnan et al; 2024; Pouly et al., 2025; Dupin et al., 2025), mas também na Suécia (Westberg et al., 2022), na Índia (Chakraborty et al., 2022) e Gana (Afeke et al., 2023). Um estudo sobre a prevalência de infecções de corrente sanguínea em neonatos de países de baixa e média renda verificou que *S. haemolyticus* e *S. epidermidis* são os principais agentes etiológicos dessas infecções,

sendo que *S. haemolyticus* foi a causa mais comum na Nigéria (Sands et al., 2022). Em todos esses estudos, as amostras de *S. haemolyticus* isoladas são, em sua maioria, multirresistentes.

Como a emergência de *S. haemolyticus* como principal patógeno associado a neonatos é um fato que vem sendo descrito apenas recentemente, as causas ainda não são totalmente conhecidas. A persistência dessas bactérias no ambiente hospitalar provavelmente está associada à sua capacidade de formação de biofilme (Wang et al., 2022) e resistência antimicrobiana acentuada, inclusive apresentando reduzida susceptibilidade a vancomicina (Dong et al., 2023). Sabe-se que a vancomicina é um dos principais antimicrobianos prescritos em UTIN (Hsieh et al., 2014; Hamdy et al., 2020). Além disso, *S. haemolyticus* é comumente isolado das mãos de profissionais de saúde, indicando a possibilidade de transmissão cruzada deste patógeno (Liu et al., 2024; Dupin et al., 2025). Em 2019, Soeorg e colaboradores realizaram um estudo com neonatos prematuros e a termo na Estônia e descobriram que a taxa de colonização por *S. haemolyticus*, tanto na pele quanto em colonização intestinal, é significativamente maior em bebês prematuros do que naqueles aqueles nascidos a termo. Um fato interessante é que os autores também identificaram *S. haemolyticus* no leite materno das mães. Em mais de 80% dos casos, não houve similaridade genética entre a amostra isolada da criança e aquela isolada no leite de sua respectiva mãe. Vale destacar que, em um estudo anterior, os autores haviam analisado 11 bebês prematuros com ICS por *S. haemolyticus* e demonstrado que 10 (90,9%) destes pacientes apresentavam colonização intestinal por amostras geneticamente relacionadas com aquelas isoladas no sangue. Esses estudos de Soeorg e colaboradores indicam que as amostras de *S. haemolyticus* que causam infecção são aquelas que colonizam o bebê, e que essas amostras que colonizam o neonato não são oriundas da microbiota materna, mas provavelmente tem origem no ambiente hospitalar.

### **3.5 Avaliação da diversidade genética em *S. haemolyticus***

Para avaliação da diversidade genética de amostras de *S. haemolyticus*, diversos protocolos podem ser utilizados. A técnica de eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) após fragmentação do DNA cromossômico com enzimas de restrição é bastante utilizada para caracterização de linhagens epidêmicas, sendo

especialmente útil para detecção de surtos causados por diversas bactérias (Mcdougal et al., 2003). Os estudos com base em PFGE em amostras clínicas de *S. haemolyticus* geralmente mostram uma grande variabilidade genética entre amostras, com muitos grupos clonais e genótipos esporádicos, mesmo quando as amostras são isoladas de um mesmo hospital (Barros et al., 2012; Talebi et al., 2016; Chang et al., 2018; Noshak et al., 2023). Além disso, o PFGE é trabalhoso e as comparações Inter laboratoriais de resultados são difíceis de serem alcançadas devido a diferenças técnicas e interpretação subjetiva de padrões de banda (Cavanagh et al., 2012). Em 2012, Cavanagh e colaboradores propuseram a metodologia de sequenciamento do multilocus enzimático (MLST) para *S. haemolyticus*. A técnica de MLST avalia a diversidade genética com base em mudanças em genes de evolução lenta, porque estão associados a processos metabólicos essenciais na célula. A variação observada é geralmente devido a mutações pontuais e/ou recombinação (Pérez-Losada et al., 2006).

Ainda no MLST é possível observar grande diversidade entre amostras de *S. haemolyticus* (Bouchami; De Lencastre; Miragaia, 2016; Qin et al., 2022). No estudo de Cavanagh e colaboradores (2012), onde a técnica de MLST para *S. haemolyticus* foi descrita, os autores avaliaram 45 amostras isoladas de humanos de animais e encontraram 38 clones e 17 STs após realizar as técnicas de PFGE e MLST. Na China, Qin e colaboradores (2022) avaliaram 97 amostras da espécie isoladas de diferentes fontes clínicas (fezes, narinas e ambiente hospitalar). Eles verificaram que as linhagens clonais associadas às sequências-tipos (ST) 42 e 3, que foram os mais frequentes, foram encontrados em apenas 17 (17,5%) e 14 (14,5%) amostras. Outras 19 amostras foram associadas aos STs 1, 8 e 52. Todas as demais 42 amostras isoladas no estudo pertenceram a STs desconhecidos com alelos reportados de forma inédita pelos autores. Já Lin e colaboradores (2022), ao analisar amostras de *S. haemolyticus* isoladas de pacientes de um hospital de Taiwan, encontraram uma diversidade um pouco menor. De 97 amostras, foram identificados 13 STs e, aqui, ST42 também foi a linhagem mais comum. Os autores inclusive encontraram um perfil de PFGE característico entre as amostras deste ST. Um dado interessante deste estudo foi o fato de que foram relatados quatro novos STs derivados do ST3. Os autores propuseram que isto pode indicar que essas novas linhagens surgiram naquele hospital, a partir de amostras pertencentes ao ST3 (Lin et al., 2022).

Uma outra técnica de tipagem molecular se baseia na amplificação de elementos repetitivos do genoma bacteriano, e por isso é chamada de rep-PCR. O perfil de bandas obtido após a eletroforese em cada amostra reflete as sequências repetitivas espalhadas por todo o genoma e este padrão pode ser comparado para avaliar a diversidade genética entre as amostras, através de análises de bioinformática que fornecem o grau de similaridade entre as amostras. É uma técnica mais rápida e mais econômica que o PFGE e o MLST (Svec et al., 2010; Rampadarath et al., 2015; Shin et al., 2023). Um dos protocolos de rep-PCR utilizados para tipagem de *Staphylococcus* é o GTG5-PCR, que se baseia na amplificação das regiões do genoma em que a sequência GTG se repete cinco vezes seguidas (Svec et al., 2010). Esta técnica foi utilizada inicialmente para identificar diferentes espécies de *Staphylococcus* (Svec et al., 2010) mas também se mostrou capaz de diferenciar genótipos em amostras de SCN de uma mesma espécie (Braem et al., 2011; Andrade-Oliveira et al., 2020; Martins-Silva et al., 2023).

Já em 2015, Leroy e colaboradores (2015) associaram o GTG5-PCR com a técnica de AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) para realizar a tipagem molecular de 44 amostras de *S. haemolyticus* isoladas de gado bovino na Bélgica. Combinando as duas técnicas, os autores encontraram quatro agrupamentos genéticos distintos. Recentemente, Martins-Silva e colaboradores (2023) utilizaram o GTG5-PCR isoladamente e conseguiram identificar a permanência de genótipos de SCN multirresistentes ao longo dos meses em uma estação de tratamento de dejetos de suinocultura.

### **3.6 Resistência à meticilina em *Staphylococcus* spp.**

Atualmente, o tratamento das infecções por *Staphylococcus*, sejam elas causadas por *S. aureus* ou SCN, deve ser preferencialmente realizado com oxacilina ou flucloxacilina, que por isso são chamadas penicilinas antiestafilocócicas (Michels et al., 2021). Esses antimicrobianos fazem parte da classe dos beta-lactâmicos e foram introduzidos para contornar a disseminação de cepas de *S. aureus* que apresentavam resistência às demais penicilinas devido à produção de penicilinases (Garrod 1960; Enright et al., 2002). A primeira penicilina deste grupo a ser utilizada foi a celbenina, mas esta foi substituída pela meticilina, que se tornou amplamente prescrita. Por isso, as cepas que desenvolveram resistência a estas drogas ficaram

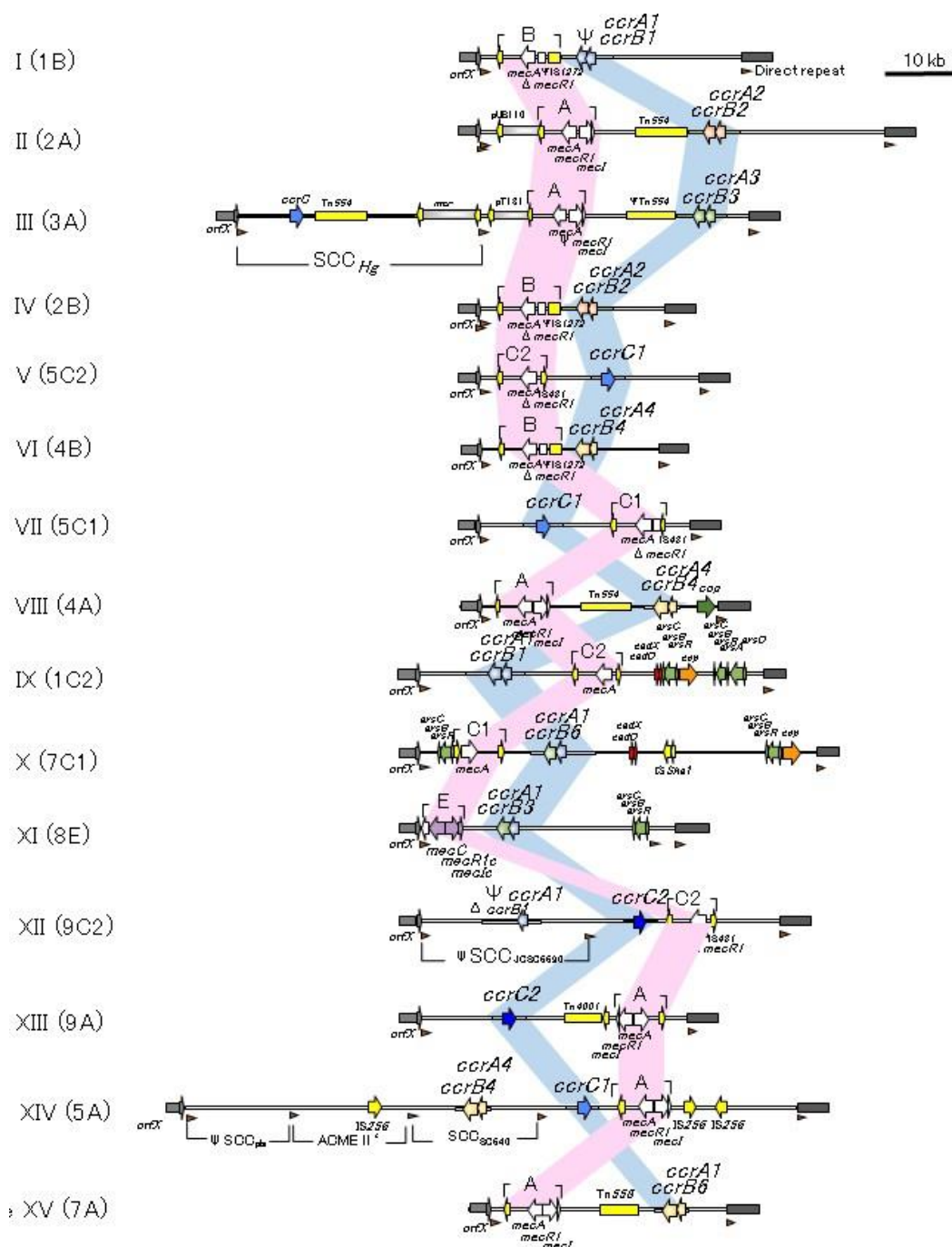
conhecidas como MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Atualmente, a meticilina não é mais utilizada, sendo substituída por outros antimicrobianos da mesma classe, como a oxacilina, flucloxacilina e nafcilina, porém a nomenclatura MRSA foi mantida. Alternativamente às penicilinas antiestafilocócicas, pode-se utilizar as cefalosporinas de primeira geração (Michels et al., 2021), que tem eficácia semelhante, sendo que as de segunda até quinta geração têm maior espectro. As cefalosporinas de primeira geração são igualmente eficazes com maior facilidade posológica (menos doses por dia) e menor custo (Corey, 2009; Rao et al., 2015).

A presença do gene *mecA* confere resistência à meticilina e a praticamente todos os antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos (Hackbarth & Chambers 1993). Isto ocorre porque o gene *mecA* codifica uma proteína denominada PBP2a, que é capaz de manter a formação de ligações cruzadas na parede celular bacteriana, mesmo na presença do agente beta-lactâmico, porque apresenta baixa afinidade por estes antimicrobianos (Chambers & DeLeo, 2009). Atualmente, o gene *mecA* encontra-se altamente conservado entre as espécies de *Staphylococcus* spp., especialmente em *S. aureus*. Acredita-se que esse gene surgiu em amostras de *Mammaliicoccus sciuri*, que até 2020 correspondia a um grupo de *Staphylococcus* (que englobava *S. sciuri*, *S. vitulinus* e *S. fleurettii*) (Kloos et al., 1976; Madhaiyan et al., 2020). Os genes *mecA* identificados em *M. sciuri* possuem semelhança entre 85% e 99% com aqueles atualmente presentes em *S. aureus* (Chambers & Deleo 2009).

Tanto em amostras de *S. aureus* quanto de SCN, o gene *mecA* está contido em um elemento genético móvel chamado cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*, *staphylococcal cassette chromosome mec*) (Katayama et al., 2000). Esse cassete possui dois elementos principais. Um deles é o complexo *mec*, onde está o gene *mecA* e seus reguladores (*mecI* e *mecR1*). Já foram descritas, até o momento, cinco classes de complexo gene *mec* (A, B, C1, C2 e E) as quais são definidas de acordo com a presença de sequências completas ou truncadas dos genes regulatórios e pela presença ou ausência de sequências de inserção IS431 e IS272 (Baig, 2018). O complexo *mec* classe A apresenta *mecA-mecI-mecRI-IS431* completos. O B apresenta IS272-  $\Delta$ *mecRI* (truncado)-*mecA-IS431*. A classe *mecC* possui IS431-  $\Delta$ *mecRI-mecA-IS431* e D,  $\Delta$ *mecRI- mecA-IS431*. Os complexos *mec* de classe C1 e C2 diferem quanto à orientação da transcrição de IS431. Enquanto em C1 as duas

cópias do elemento estão na mesma orientação, em C2 a cópia localizada à montante do gene *mecA* está na orientação inversa (Chambers & Deleo 2009; Hiramatsu et al., 2021). O segundo elemento essencial ao SCC*mec* é o complexo *ccr*, responsável por codificar recombinases (*ccr*) envolvidos na sua mobilidade no cromossomo bacteriano (Katayama; Ito; Hiramatsu, 2000). Três genes *ccr* distintos (*ccrA*, *ccrB* e *ccrC*) são responsáveis pela mobilidade de SCC*mec* em estafilococos. As semelhanças nucleotídicas são de 50% entre *ccrA*, *ccrB* e *ccrC* e vários alotipos de *ccrA* e *ccrB* foram classificados com uma semelhança entre 60% e 82%. As outras porções do SCC*mec* são elementos não essenciais, como genes adicionais de resistência a metais e outros antimicrobianos carregados por transposons e plasmídeos, além das regiões J, que contém genes de função ainda desconhecida (Wu et al., 2015; Miragaia 2018; Urushibara et al., 2020).

A combinação das diferentes classes de complexo *mec* e de complexos *ccr* indicam o tipo de SCC*mec*, sendo que até o momento são descritos 15 tipos com combinações distintas (Figura 1) (IWG-SCC, 2022; Wang et al., 2022). Acredita-se que, em *S. aureus*, a inserção de cada tipo de SCC*mec* ocorreu em linhagens específicas de amostras sensíveis à meticilina, o que levou a disseminação mundial de clones que se caracterizam por um padrão genético próprio e conservado, e com um tipo de SCC*mec* característico (Deurenberg & Stobberingh 2009; Chambers & Deleo 2009). Por outro lado, em SCN há pouca associação entre um tipo de SCC*mec* e um perfil genético (Rolo et al., 2012). No entanto, alguns tipos de SCC*mec* costumam ser mais comuns em determinadas espécies. O SCC*mec* tipo I e VI são mais comuns em *S. hominis* (Bouchami et al., 2012), o SCC*mec* IV em *S. epidermidis* (Miragaia et al., 2007) e SCC*mec* V em *S. haemolyticus* (Bouchami et al., 2012). A Figura 2 ilustra os 15 tipos de SCC*mec* já descritos. Em 2011, foi relatada a ocorrência do gene *mecC*, um homólogo do *mecA*, com 69% de identidade na sequência nucleotídica, em amostras isoladas de gado bovino e em humanos, e que produz a PBP2c, um terceiro tipo de PBP (García-Álvarez et al., 2011).



**Figura 1** - Comparação das estruturas dos tipos de SCCmec I até XIV em *S. aureus*. O SCCmec deve conter o complexo do gene *mec* e o gene *ccr* (complexo), com sequência do sítio de integração e repetições diretas em ambas as extremidades (adaptada de IWG-SCC, 2022).

### 3.7 Resistência a vancomicina

A vancomicina, sendo um antimicrobiano específico para bactérias Gram-positivas, possui um espectro de ação reduzido, porém desde o final da década de

1950, tem sido empregada no tratamento de infecções (Zhang et al., 2023). Mesmo após muitos anos de uso clínico da vancomicina, ainda persistem dúvidas sobre a estratégia mais adequada para aprimorar o tratamento e reduzir a toxicidade. A área sob a curva da razão de concentração inibitória mínima (AUC/MIC) foi registrada como a meta principal de farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD) para glicopeptídeos, incluindo a vancomicina (Rybak et al., 2020). Este antimicrobiano é um glicopeptídeo de peso molecular elevado, com cerca de 1450 Da (Pubchem, 2025). Segundo Haynes et al. (2023), há uma crescente necessidade de considerar alternativas à vancomicina para o tratamento da bacteremia pediátrica causada por MRSA, devido aos desafios relacionados à eficácia e à toxicidade.

Os antibióticos do grupo dos glicopeptídeos interferem na produção do peptídeoglicano. A vancomicina exibe atividade antibacteriana ao inibir a síntese de peptidoglicanos ao se ligar ao terminal D-alanil-D-alanina (D-ala-D-ala) do pentapeptídeo em formação, que pode ser utilizada para a futura produção de peptídeoglicano. A ligação da vancomicina impede a produção de peptídeoglicano, resultando no enfraquecimento da parede celular e tornando a bactéria propensa à lise (Abrahmsén et al., 2014; Lee e t al., 2019). É importante salientar que, devido ao seu peso molecular elevado, a vancomicina só tem efeito na parede celular bacteriana, não atingindo o seu citoplasma (Nagarajan, 1991).

A resistência plena à vancomicina em *S. aureus* é mediada pela presença do gene *vanA*, que leva à formação de um pentapeptídeo com terminal D-ala-D-lac ao invés do D-ala-D-ala, que ocorre naturalmente (McGuinness et al., 2017). O gene *vanA* tem origem em *Enterococcus*, e foi transmitido à *S. aureus* em um transposon inserido em um plasmídeo conjugativo (Arthur et al., 1993). Amostras com resistência plena apresentam CMI para vancomicina  $\geq 16 \mu\text{g/mL}$  (CLSI, 2024).

Em SCN, a resistência plena à vancomicina ainda não foi descrita. Nestas espécies ocorre a chamada resistência intermediária, que está diretamente ligada a um processo de espessamento da parede celular bacteriana. Este espessamento funciona como um obstáculo físico. Com a parede de peptidoglicano mais espessa, a vancomicina se acumula na superfície externa da parede celular, diminuindo sua eficácia (Dong et al., 2023). A resistência intermediária é uma problemática em infecções por *S. aureus*, espécie onde foi descrita pela primeira vez. Isto ocorreu no Japão, em maio de 1996, quando uma amostra de *S. aureus* com concentração

mínima inibitória (CMI) de 8mg/L para o antimicrobiano foi descrita. Esta variante surgiu de um paciente com infecção de ferida cirúrgica, que não respondia ao tratamento com vancomicina, e recebeu o nome de Mu50 (Hiramatsu et al., 1997). Amostras de *S. aureus* com fenótipo de resistência intermediária à vancomicina são chamadas VISA (“*vancomycin intermediate S. aureus*). De acordo com o CLSI, 2024, os valores de CMI para resistência intermediária em *S. aureus* ficam entre 4mg/L e 8mg/L e, para SCN, entre 8mg/L e 16mg/L.

O mecanismo que leva ao espessamento da parede celular e, conseqüentemente à resistência intermediária à vancomicina em *S. aureus* é complexo e envolve a ocorrência de mutações pontuais em diversos genes, sendo eles *WalkR*, *GraSR*,<sup>26</sup> *VraSR*,<sup>27</sup> *AgrCA*, *SaeSR*, *ArISR* (Meehl et al., 2007; Howden et al., 2014), *rpoB* (Matsuo et al., 2011) e *stx1* (Hu et al., 2016). É aceito que o aparecimento de amostras VISA estão associadas ao tratamento de longo prazo com vancomicina (Gardete et al., 2014). Em SCN, os estudos sobre esse tipo de resistência são raros. Dong e colaboradores (2023) realizaram o sequenciamento do genoma de uma amostra de *S. haemolyticus* com esse tipo de resistência e verificaram mutações importantes nos genes *walk*, que são um grupo de genes envolvidos no metabolismo da parede celular (Delauné et al., 2012).

A ocorrência de amostras com fenótipo de resistência intermediária à vancomicina em *S. aureus* e em SCN se inicia com o aparecimento da heteroresistência intermediária à vancomicina (hVISA ou hVISCN) (Koh et al., 2016; Bathavatchalam et al., 2021; Li, Walker & De Oliveira et al., 2022). Os hVISCN são amostras que apresentam CMI entre 0,5 e 4 µg/mL, mas que contém uma subpopulação de células nas quais já existe espessamento de parede suficiente para conferir resistência à vancomicina. Normalmente, essas subpopulações estão presentes nas frequências de 10<sup>-4</sup> a 10<sup>-6</sup> células (Bathavatchalam et al., 2021).

### **3.8 Impacto da COVID-19 nas unidades de saúde**

A pandemia da COVID-19 (*Coronavirus disease 19*) foi decretada em março de 2020 após a disseminação global do vírus SARS-CoV-2 (WHO, 2020), um novo tipo de coronavírus que pode causar a síndrome respiratória aguda grave (Lai et al., 2020). No Brasil, o período maior número de óbitos ocorreu em 2021, entre a 10a e 18a semanas epidemiológicas (março e abril), mas no início de 2022, entre a primeira e a

oitava semana epidemiológica daquele ano (janeiro e fevereiro), foi verificado maior número de casos, devido a emergência da cepa Ômicron (Figura 2; ver seção Materiais e Métodos)

A campanha de vacinação contra a COVID-19 no país começou em janeiro de 2021 e, até 1º de dezembro de 2022, a cobertura vacinal foi superior a 80% (Martins-Filho et al., 2023). Com o declínio no número de óbitos e aumento da cobertura vacinal, houve uma redução gradativa nas medidas de distanciamento social a partir do final de 2021, as quais foram totalmente revogadas no Brasil em maio de 2022 (Brasil, 2022).

Pacientes que contraem COVID-19, quando hospitalizados, são submetidos a longos períodos de internação com uso prolongado de dispositivos médicos somados ao comprometimento imunológico, o que proporciona uma piora do quadro clínico geral (Choudhury et al., 2020; Silva et al., 2021). Por isso, a administração empírica de antimicrobianos normalmente é realizada para que se evitem as infecções bacterianas secundárias ou IRAS (Rawson et al., 2020; Lai et al., 2021). Um estudo de Nori e colaboradores (2021), nos Estados Unidos, indicou que 60% dos 91 pacientes em uma unidade de terapia intensiva com COVID-19 tiveram culturas de secreção traqueal positivas e 54% apresentaram hemoculturas positivas. O patógeno mais isolado nesses pacientes foi *S. aureus*, correspondendo a 44% do total das amostras.

Nos primeiros meses da pandemia, a azitromicina foi associada a uma possível redução na mortalidade (Echeverría-Esnal et al., 2021; Sultana et al., 2020). Dessa forma, este antimicrobiano tornou-se amplamente prescrito. Um estudo conduzido em um hospital do Rio de Janeiro verificou um aumento significativo na prescrição de macrolídeos, que junto aos beta-lactâmicos passaram a ser os antibióticos mais consumidos pós 2020 (Silva et al., 2022). Essas duas classes de antimicrobianos também foram as mais prescritas para pacientes com diagnóstico ou suspeita de COVID-19 na Europa e nos Estados Unidos da América, enquanto na China as fluoroquinolonas foram os principais antibióticos utilizados (Langford et al., 2021).

Além do aumento no uso de antimicrobianos, a rotina dos hospitais foi intensamente alterada pelas modificações nas rotinas de limpeza. Diversos protocolos foram propostos com o objetivo de promover a desinfecção de ambientes, indicando o uso de produtos à base de hipoclorito de sódio, quaternários de amônio, peróxido de hidrogênio e álcool 70% (De Andrade et al., 2020; Liu et al., 2020; WHO, 2020;

Andrés et al., 2021). Embora o acometimento de neonatos pela COVID-19 seja incomum (Shalish et al., 2020), a pandemia também provocou mudanças de rotinas de cuidados e processos nas maternidades e UTINs. Entre outras medidas, contato mãe e bebê na primeira hora do nascimento foi desestimulado, os profissionais de saúde passaram a utilizar equipamento de proteção individual de acordo com as recomendações locais, as visitas foram suspensas (Carvalho et al., 2020; Cardoso et al., 2021). Além disso, as equipes foram remanejadas ou alteradas (Carvalho et al., 2020) e muitos recursos também necessitaram ser realocados nos hospitais para dar suporte à admissão de casos suspeitos de COVID-19. Estes fatores podem ter impactado diretamente na disseminação de microrganismos (Murray; Swanson, 2020).

A espécie *S. haemolyticus* é um importante agente de IRAS e pode carrear muitos genes de virulência, resistência antimicrobiana e tolerância a saneantes. Além disso, pode também atuar como reservatório destes genes para outras espécies. Nos últimos anos, *S. haemolyticus* tem emergido como causa de surtos em unidades neonatais de vários países do mundo e parece estar substituindo *S. epidermidis* como principal agente de infecção e colonização nestes pacientes. Desde 2019, nosso grupo vem monitorando as taxas de colonização por *Staphylococcus* em uma UTIN do interior do estado do Rio de Janeiro, e observamos um aumento da frequência de isolamento de *S. haemolyticus* entre os neonatos. Durante a pandemia de COVID-19 todas as unidades de saúde foram fortemente impactadas, com alterações nos protocolos de atendimento, circulação de pessoas e rotinas de higienização e desinfecção. Este estudo busca avaliar a prevalência e as características microbiológicas de *S. haemolyticus* disseminados nesta UTIN e investigar se mudanças ocasionadas pela pandemia afetaram o padrão de colonização desses pacientes.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 4.1 Desenho do estudo

#### 4.1.1 Tipo e local do estudo

O estudo é prospectivo e teve como objetivo avaliar a prevalência e caracterizar aspectos de resistência e diversidade de amostras de *S. haemolyticus* oriundas de swabs nasais de vigilância de pacientes consecutivos internados em uma UTI neonatal de 10 leitos do Hospital Público Municipal Dr. Fernando Pereira da Silva (HPM). O HPM é uma instituição pública e terciária, localizada à Rodovia RJ168 – KM 4, no bairro Virgem Santa, na cidade de Macaé/RJ. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ Campus Macaé sob o número de CAAE 25808819.4.0000.5699. Não houve intervenção no acompanhamento dos casos.

O hospital possui 247 leitos e os seguintes setores: Pronto-atendimento; centro cirúrgico; centro obstétrico (duas salas de cirurgia); terapia intensiva [(CTI) adulto/ CTI pediátrico/ UTIN)]; recuperação pós-anestésica; sala de politrauma e maternidade. Atende 24 horas por dia e possui 18 especialidades médica: clínica médica; pediatria; obstetrícia; cirurgia geral; ortopedia; neurocirurgia; cirurgia plástica; otorrinolaringologia; oftalmologia; cirurgia vascular; anestesia; urologia; radiologia; hemoterapia; psiquiatria; nefrologia; infectologia e cirurgia bucomaxilofacial.

#### 4.1.2. Dinâmica do local do estudo durante a pandemia de COVID-19

Em 03/04/2020, através do decreto municipal 045/2020, o hospital assumiu o caráter de emergência referenciada, ou seja, passou a atender somente pacientes encaminhados pelo Corpo de Bombeiros e pelo serviço 192, ficando suspensos o pronto atendimento e a demanda espontânea em ambulatórios. No entanto, o funcionamento da maternidade permaneceu inalterado, aberta às pacientes que procurassem atendimento. Os leitos de terapia intensiva para pacientes adultos passaram a atender apenas pacientes com COVID-19. Pacientes sem a doença que necessitaram de leitos de terapia intensiva foram remanejados para outras instituições ou foram alocados na unidade intermediária. As visitas foram suspensas ou reduzidas ao máximo, dependendo do setor. Em julho de 2020 algumas cirurgias eletivas

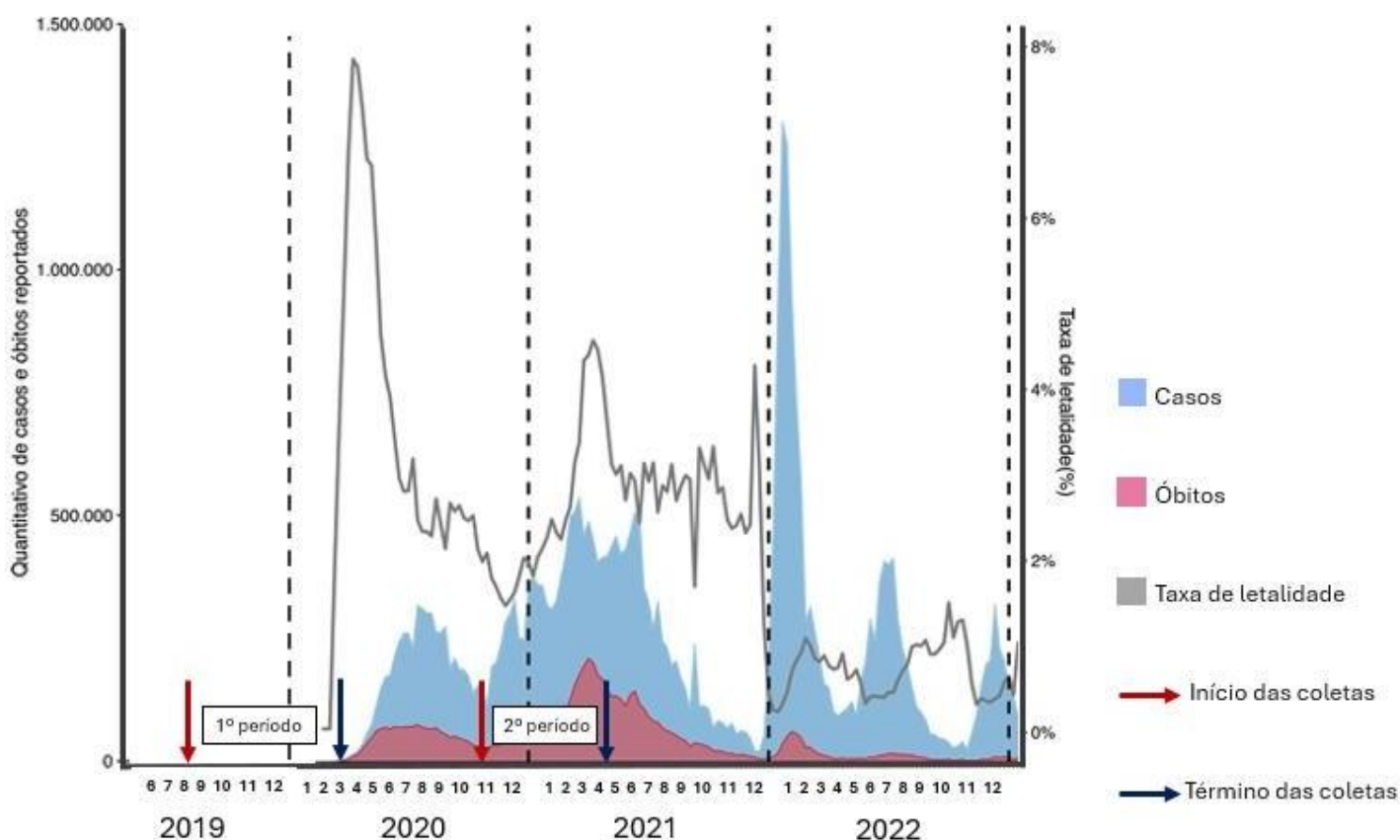
começaram a ser novamente realizadas, porém em novembro de 2020 foram novamente suspensas. Apenas em maio de 2021 as cirurgias eletivas foram definitivamente retomadas e os esquemas de visitação foram ampliados. A partir do segundo semestre de 2021, pacientes com COVID-19 ficaram limitados a apenas um CTI.

Em relação a UTIN, durante a pandemia, algumas modificações foram implementadas: i) profissionais de grupos de risco (com diabetes, hipertensão, obesidade, pessoas acima de 60 anos e gestantes), foram afastados de suas funções laborais; ii) visitas de familiares foram limitadas apenas à mãe ou ao pai dos pacientes, em horário estabelecido previamente e estritamente com uso de máscaras; iii) a equipe da unidade (exclusiva da UTIN) passou a utilizar equipamento de proteção individual rotineiramente (máscara, touca, capote e luvas); iv) celulares dentro da unidade foram permitidos mediante a exigência do uso de filme plástico entorno do aparelho; v) a desinfecção da unidade, que antes era realizada com hipoclorito de sódio diluído, passou a ser efetuada com desinfetantes à base de quaternário de amônio e biguanidas. A desinfecção das incubadoras e balanças passou a ser realizada com lenços umedecidos com solução de quaternário de amônio, biguanidas e EDTA. vi). A lavagem das mãos foi intensificada e foram utilizados sabonetes à base de triclosan. Os profissionais relataram grande preocupação com a possibilidade de contágio pelo SARS-CoV-2 e, de sua transmissão para os neonatos da unidade.

#### **4.1.3 Critérios de inclusão e exclusão**

Foram avaliadas amostras coletadas em dois períodos: de agosto de 2019 a março de 2020 (1º período; antes da pandemia) e de novembro de 2020 a abril de 2021 (2º período; durante o pico de óbitos da pandemia). Todos os neonatos internados na UTIN, independente do tempo de internação, foram submetidos à coleta semanal de *swab*. Foi incluída no estudo apenas a primeira amostra positiva para *Staphylococcus haemolyticus* de cada paciente avaliado.

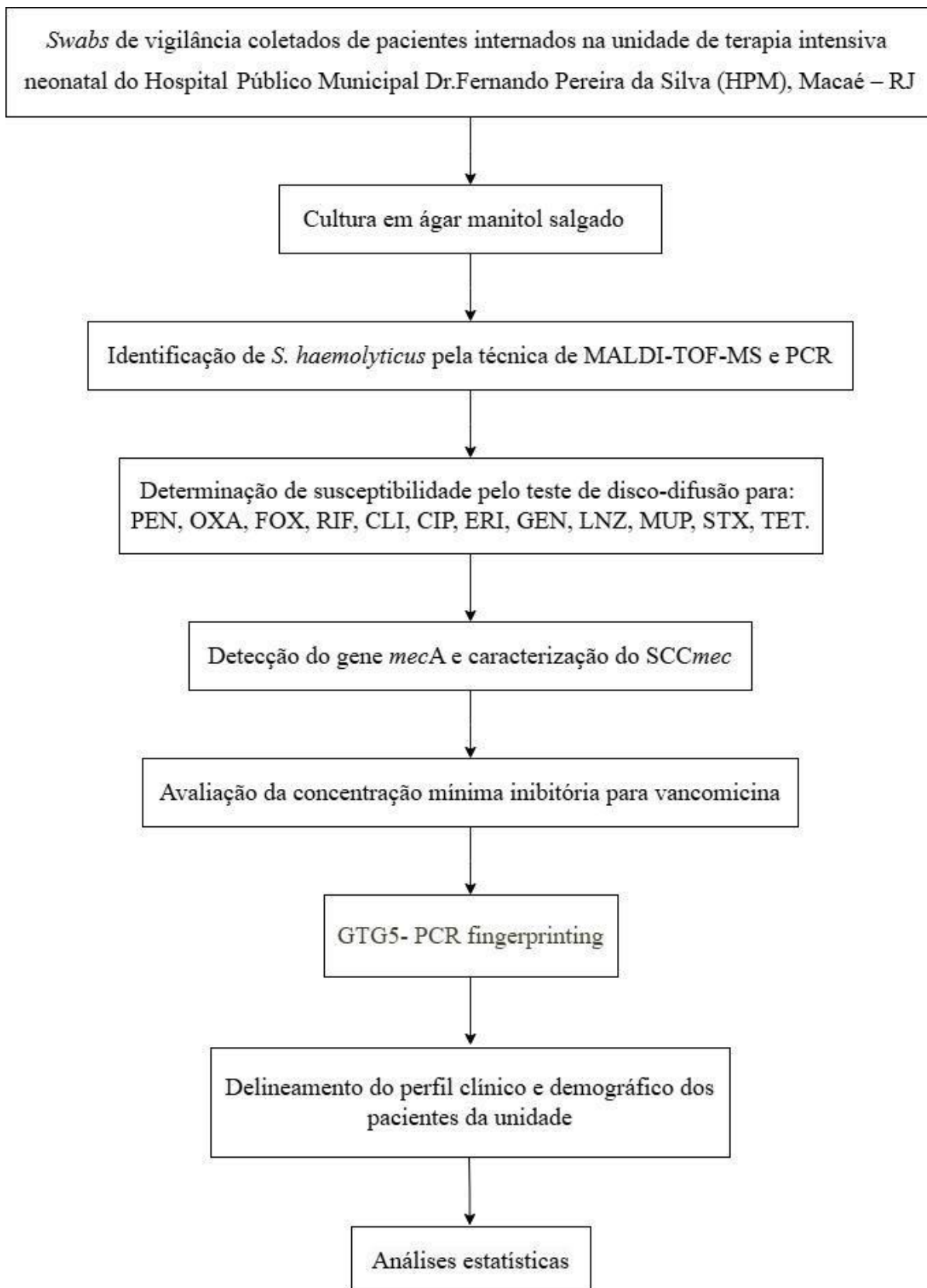
Foram excluídos deste estudo pacientes cujas coletas foram realizadas fora do período analisado, pacientes que foram admitidos e receberam alta antes de serem submetidos à coleta semanal do *swab*, pacientes para os quais não foi possível acessar os prontuários médicos. As coletas foram realizadas pela enfermeira responsável, com acompanhamento de acadêmicas do curso de enfermagem da



**Figura 2** – Número de casos, óbitos e taxa de letalidade da COVID-19 no Brasil por mês e data de início e término das coletas de *swab* dos neonatos em cada um dos períodos do estudo (adaptada de Brasil, 2024).

Todos os *swabs* (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil), contendo meio de transporte Amies, coletados foram enviados ao Laboratório de Infecção Hospitalar (IMPG - UFRJ) e semeados em placas de ágar manitol salgado (Plast Labor, Rio de Janeiro, Brasil), as quais foram incubadas em estufa a 35°C, por 48 h. Após este período, através de observação visual, um representante de cada tipo de morfologia colonial foi transferido para uma placa de ágar contendo 5% de sangue desfibrinado de carneiro (Plast Labor) e o crescimento bacteriano foi transferido para caldo TSB (Tryptic Soy Broth, BD, Becton, Dickinson and Company; Sparks, MD, USA) com 20% (v/v) de glicerol (Proquimos Comércio e Indústria Ltda; Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e mantido a -20°C (Sambrock, Fritsch & Maniatis, 1989). As amostras foram submetidas à identificação bacteriana, determinação do perfil de susceptibilidade antimicrobiana,

caracterização do tipo de SCCmec e determinação da diversidade genotípica. O fluxograma da metodologia está apresentado na Figura 3 e as amostras bacterianas utilizadas como controles dos testes estão apresentadas no quadro 1.



**Figura 3** - Fluxograma da metodologia utilizada. **MALDI-TOF/MS**: *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight - Mass Spectrometry*; **PCR**: reação em cadeia da polimerase; **SCCmec**: cassete cromossômico estafilocócico; **PEN**:penicilina; **OXA**:oxacilina; **FOX**:cefoxitina; **RIF**:rifampicina **CLI**:clindamicina; **CIP**:ciprofloxacina; **ERI**: eritromicina; **GEN**: gentamicina; **LNZ**: linezolida; **MUP**:mupirocina; **SXT**: sulfametoxazol-trimetoprim; **TET**: tetraciclina.

**Quadro 1** - Amostras bacterianas utilizadas como controles nas avaliações microbiológicas realizadas no presente estudo.

<b>Espécie</b>	<b>Amostra</b>	<b>Característica</b>	<b>Referência</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Controle para os testes fenotípicos de identificação e de disco-difusão; para a PCR espécie-específico	CLSI, 2022
	ATCC 29213	Controle para o teste de microdiluição em caldo para vancomicina	CLSI, 2022
	ATCC 33591	Controle positivo para o gene <i>mecA</i>	Santos <i>et al.</i> , 1999
	Mu50	Controle para o SCCmec tipo II	Hiramatsu <i>et al.</i> , 1997
	63 <sup>a</sup>	Controle para o SCCmec tipo III	Cardoso Guimarães <i>et al</i> 2021
	526 <sup>a</sup>	Controle para o SCCmec tipo IV	Schuenck <i>et al.</i> , 2009
	1952a	Controle para o SCCmec tipo V	Augusto <i>et. al.</i> , 2022
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14900	Controle para PCR espécie-específico	NA
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ATCC 29970	Controle para PCR espécie-específico	NA
<i>Escherichia coli</i>	DH5 $\alpha$	Calibrador do MALDI-TOF-MS	NA

**ATCC**: American Type Culture Collection; **SCCmec**: cassete cromossômico estafilocócico *mec*; **MALDI-TOF**: *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight - Mass Spectrometry*; **NA**: não aplicável

## 4.2 Identificação das espécies

### 4.2.1 Método de MALDI-TOF-MS (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight - Mass Spectrometry*)

O método de MALDI-TOF/MS (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight - Mass Spectrometry*) foi o protocolo utilizado para a identificação das espécies de *Staphylococcus*. Após o isolamento em ágar manitol salgado, as amostras foram semeadas em ágar sangue (Plast Labor) e, então incubadas por 24 h a 35 °C. Após esse período, uma colônia de cada amostra foi colocada em duplicata nos poços da placa metálica de 96 poços fornecida pelo fabricante. Em seguida, foi adicionado primeiramente 1 µL de ácido fórmico a 70% (v/v) sobre cada amostra (Sigma-Aldrich Chemical Company; Saint Louis, MO, EUA) e, após a secagem a temperatura ambiente, foi adicionado à amostra 1 µL da matriz contendo ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico (HCCA - Sigma) preparado em acetonitrila 50% e ácido trifluoroacético 2,5% (Sigma). A placa novamente foi submetida a um processo de secagem natural e depositada no equipamento.

A amostra padrão *E. coli* DH5 $\alpha$  foi utilizada para a calibração do equipamento e o software MALDI Biotyper versão 3.1 (Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA) de bioinformática. O equipamento operou utilizando frequência do laser a 60 Hz, voltagem das fontes iônicas de 1,8 e 2 kV, e faixa de peso molecular de 2.000 a 20.000 Da. Os espectros foram obtidos de forma linear, coletados a partir da somatória de 240 disparos do laser realizados em quatro grupos de 60 disparos lançados em diferentes regiões do poço. Foi utilizado para comparar em seu banco de dados o espectro mais semelhante ao da amostra analisada. Em seguida, uma lista com os dez padrões de microrganismos encontrados mais semelhantes à amostra em análise foi disponibilizada em um arquivo. Essa lista foi organizada de forma decrescente, de acordo com a faixa disponibilizada após a identificação, que pode variar de 0,00 a 3,00. De acordo com o quadro 2, foram utilizados neste estudo as faixas que estiveram entre os valores de 2,00 a 3,00. Amostras com valores da faixa abaixo de 2,00 foram submetidas à técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção de fragmentos específicos das espécies clínicas prevalentes (*S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. haemolyticus*).

**QUADRO 2** - Interpretação dos resultados do MALDI-TOF-MS.

Faixa	Interpretação	Símbolo	Cor
2,00 - 3,00	Identificação de grande confiabilidade	(+++)	Verde
1,70 - 1,99	Identificação de baixa confiabilidade	(+)	Amarelo
0,00 - 1,69	Identificação de organismo impossível	(-)	Vermelho

Fonte: Adaptado de Bruker Daltonik MALDI *Biotyper Classification Results*. **MALDI-TOF**: *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight - Mass Spectrometry*.

#### 4.2.2. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Amostras cujo score de identificação da espécie no MALDI-TOF ficaram abaixo de 2,00 foram submetidas a PCR para amplificação de segmentos específicos das espécies *S. epidermidis*, *S. aureus* e *S. haemolyticus*, conforme descrito por Pereira e colaboradores (2010). As sequências dos oligonucleotídeos estão descritas no quadro 3.

Previamente, foi realizada a obtenção do DNA bacteriano, através do uso do kit de extração Quick-DNATM Miniprep Plus Kit D4069 (Zymo research, Irvine, California, USA), seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante. A concentração final do DNA obtido foi mensurada através do Thermo ScientificTM NanoDropTM Lite Micro-volume spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, Delaware, USA), utilizando as orientações do manual fornecido pelo fabricante.

A amplificação foi realizada utilizando um volume total de 50 µL contendo 3 µL (aproximadamente 60ng) de DNA, 200µM de cada desoxinucleotídeo trifosfatado (dATP, dGTP, dCTP e dTTP) (Promega, Madison, WI, EUA), 1U de *Taq* DNA polimerase (Promega), 5µl tampão de reação 10X (10mM Tris-HCl, 25 mM KCl) e 2mM de MgCl<sub>2</sub> (concentração inicial). Para os oligonucleotídeos SH1, SH2, SA1, SA2, SE1 e SE2, foram utilizados 0,4 µM de cada e 0,25 µM dos oligos MRS1 e MRS2.

Após realização de uma etapa de desnaturação inicial de 94 °C por 3 min, foram realizados 30 ciclos de amplificação a 94 °C/1min, 55 °C/1min e 72 °C/1min, seguido de uma etapa final de extensão, realizada a 72 °C por 5min. Foi utilizado um termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha).

Após a amplificação dos fragmentos de DNA, foi realizada a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, acrescido de *Unisafe* 0,5X (Uniscience Corporation, Hialeah, Flórida, EUA), 80V (400mV) por 1 h e 30 min. Por fim, o resultado foi visualizado em um transiluminador UV Kasvi (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Como padrão de DNA para a corrida eletroforética foi utilizado um marcador de 100pb DNA ladder (Biotools, Jupiter, Flórida, EUA).

**QUADRO 3-** Sequência dos oligonucleotídeos utilizados para detecção do fragmento gênico específico de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus haemolyticus* na PCR.

Gene	Especificidade	Iniciadores	Sequência (5'-3')	Amplicon (pb)	Referência
<i>mecA</i>	Resistência à meticilina	MRS-F	TAGAAATGACTGAACG TCCG	154	Del Vecchio <i>et al.</i> , 1995
		MRS-R	TTGCGATCAATGTTAC CGTAG		
<i>recN</i>	<i>S. epidermidis</i>	Sep-F	ATCAAAAAGTTGGCGA ACCTTTTCA	219	Iorio <i>et al.</i> , 2011
		Sep-R	CAAAGAGCGTGGAG AAAAGTATCA		
<i>mvaA</i>	<i>S. haemolyticus</i>	SH-F	GGTCGCTTAGTCGGA ACAAT	271	Schuenck <i>et al.</i> , 2008
		SH-R	CACGAGCAATCTCATC ACCT		
<i>nuc</i>	<i>S. aureus</i>	Sa442-F	AATCTTTGTCCGGTACA CGATATCCTCCACG	108	Martineau <i>et al.</i> , 1998
		Sa442-R	CGTAATGAGATTTTCAG TAGTAAATACAACA		

**pb:** pares de bases; **PCR:** reação em cadeia polimerase.

### 4.3 Determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos

#### 4.3.1 Caracterização da susceptibilidade aos antimicrobianos em geral

Para a avaliação da susceptibilidade a diferentes antimicrobianos em amostras de *S. haemolyticus*, foi realizado o método de disco-difusão, utilizando os discos

cefoxitina (30 µg), oxacilina (30 µg), penicilina (10U), ciprofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), tetraciclina (30 µg), linezolidina (30 µg), rifampicina (5 µg), mupirocina (200 µg) e sulfametoxazol-trimetoprim (23.75/1.25 µg) (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido), segundo estabelecido pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024) e pelo Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST, 2024). As amostras foram semeadas em ágar sangue (Plast Labor®) e incubadas a 35 °C por 24 h. Após o crescimento, foi preparada uma suspensão bacteriana em solução salina a 0,85%, com a turbidez ajustada para o padrão 0,5 da escala de McFarland. Com o auxílio de um *swab*, o inóculo bacteriano foi semeado de forma confluyente em placas de ágar Müeller-Hinton (BD®, Becton, Dickinson and Company; Sparks, MD, EUA), sendo depositados os discos de antimicrobianos sobre o meio imediatamente após a semeadura.

Após incubação a 35 °C por 24 h, a leitura foi realizada com base no tamanho do halo de inibição formado ao redor dos discos utilizando os valores estabelecidos pelo CLSI (2024) e comparado com aqueles estabelecidos pelo BrCAST (2024). Os valores utilizados para interpretação dos halos de inibição de todos os antimicrobianos estão listados no Quadro 4. A amostra *S. aureus* ATCC 25923 foi utilizada como controle de sensibilidade do teste. Em conjunto com o teste de disco-difusão em ágar, foi realizado o teste de indução de resistência a clindamicina por eritromicina (teste de halo D), conforme as recomendações do CLSI (2024). O disco de clindamicina foi depositado a uma distância de 20 mm (borda a borda) do disco de eritromicina, seguido de incubação a 35 °C ± 2 por 16-18 h. A amostra que apresentasse o fenótipo de resistência iMLS<sub>B</sub> apresentaria um achatamento do halo de inibição próximo ao disco de clindamicina, com formato da letra D, devido a eritromicina que ao difundir no meio de cultura induz a resistência à clindamicina. Caso a amostra apresentasse o fenótipo cMLS<sub>B</sub>, não é verificada formação de halo de inibição para ambos os discos. As amostras com resistência intermediária de acordo com o CLSI (2024), foram incluídas como amostras resistentes na interpretação dos resultados.

**Quadro 4** - Descrição das categorias de susceptibilidade e seus respectivos pontos de corte para interpretação dos valores de halo de inibição de acordo com o CLSI (2024) e BrCAST (2024) para amostras de *Staphylococcus* spp. (exceto *S. aureus* e *S. epidermidis*).

Categorias de susceptibilidade de acordo com o halo de inibição (em mm)						
Antimicrobiano	CLSI <sup>a</sup>			BrCAST		
	S	I	R	S	I	R
Cefoxitina	≥ 25	-	≤ 24	≥ 22	-	≤ 21
Oxacilina	≥ 25	-	≤ 24	≥	-	≤
Penicilina	≥ 29	-	≥ 28			
Ciprofloxacina	≥ 21	16-20	≤ 15	≥ 50	24-49	≤ 23
Clindamicina	≥ 21	15-20	≤ 14	≥ 22	19-21	≤ 20
Eritromicina	≥ 23	14-22	≤ 13	≥ 21	18-20	≤ 17
Gentamicina	≥ 15	13-14	≤ 12	≥ 22	-	≤ 21
Linezolida	≥ 21	-	≤ 20	≥ 21	-	≤ 20
Tetraciclina	≥ 19	15-18	≤ 14	≥ 22	19-21	≤ 18
STX-TMP	≥ 16	11-15	≤ 10	≥ 17	14-16	≤ 13
Rifampicina	≥ 20	17-19	≤ 16	≥ 26	23-25	≤ 22
Mupirocina	Presença de Halo	-	Ausência de Halo	≥ 30	-	≤ 18

**CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute; **BrCast:** Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **STX:** sulfametoxazol-trimetoprim; **S:** sensível;

I:intermediário; R:resistente.

#### **4.3.2 Determinação da concentração mínima inibitória para vancomicina**

Com o objetivo de avaliar possíveis alterações nas concentrações mínimas inibitórias (CMI) para os antimicrobianos antes e após o estabelecimento da pandemia, o teste de microdiluição em caldo foi realizado para determinar a CMI para vancomicina (Sigma-Aldrich). Os testes foram realizados em amostras de *S. haemolyticus* utilizando placas de microtitulação de 96 poços com fundo côncavo (Cralplast; Cotia, SP, Brasil), segundo o CLSI (2024).

Para a realização do teste, foi preparada uma solução 20 vezes mais concentrada do antimicrobiano do que a concentração máxima a ser testada. Posteriormente, os poços da placa foram preenchidos com 100 µL caldo Muller-Hinton, (MHB, Muller-Hinton Broth, BD), com exceção da primeira coluna, que foi preenchida com 190 µL deste caldo e 10 µL de antimicrobiano em solução estoque, de modo a realizar uma diluição 1:20 e obter, nesta primeira coluna, a concentração máxima desejada na placa. Com o auxílio de uma pipeta multicanal foram transferidos 100 µL dos poços da primeira coluna para os poços da coluna adjacente, repetindo o processo sucessivamente para as próximas colunas. Dessa forma, foi realizada uma diluição seriada da primeira à penúltima coluna, obtendo-se concentrações decrescentes do antimicrobiano, sendo essas de 16 µL até 0,25 µL. A última coluna de cada placa foi utilizada como controle de esterilidade do experimento, em que os poços foram preenchidos apenas com MHB e dois dos poços foram acrescidos de 3 µL da solução estoque de antimicrobiano, para controle do meio e do antimicrobiano, respectivamente.

O inóculo foi preparado a partir do crescimento bacteriano obtido após cultivo a 35 °C por 24 h. As amostras crescidas foram utilizadas para o preparo de suspensões bacterianas em solução salina a 0,85%, com turbidez equivalente à escala 0,5 de McFarland. Após atingir a turvação desejada, 100 µL da suspensão bacteriana foram transferidos para um microtubo contendo 900 µL de solução salina a 0,85%, obtendo-se uma diluição 1:10 do inóculo inicial (~10<sup>7</sup> UFC/mL). A partir de então, 5 µL do inóculo diluído foram transferidos para cada poço da placa de microtitulação, de forma que cada fileira correspondesse a uma amostra a ser testada. A placa foi incubada a 35 °C, por 24h. A leitura dos resultados foi feita visualmente,

seguindo as orientações do CLSI (2024) e a CMI foi determinada como a menor concentração sem crescimento bacteriano. As faixas de susceptibilidade estabelecidas para o antimicrobiano pelo CLSI (2024) estão listadas no quadro 5. A amostra *S. aureus* ATCC 29213 foi utilizada como controle de sensibilidade do teste e os resultados foram comparados com os valores estabelecidos pelo BrCAST (2024).

**QUADRO 5** - Valores de CMI relativos aos *breakpoints* de vancomicina segundo o CLSI (2024) e BrCAST (2024) para *S. haemolyticus*.

Antimicrobiano	CLSI	BrCAST
Vancomicina	≤4 (S) / 8-16 (I) / ≥16 (R)	≤4 (S) / ≥4 (R)

**CLSI:** Clinical and Laboratory Standard Institute; **BrCast:** Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **S:** sensível; **I:** intermediário; **R:** resistente

#### 4.4 Detecção do gene *mecA* e caracterização do *SCCmec*

As amostras de *S. haemolyticus* resistentes à meticilina foram submetidas à caracterização do tipo de *SCCmec* utilizando a metodologia descrita por Kondo e colaboradores (2007). Essa técnica consiste na realização de duas reações distintas para tipificar os complexos *mec* e *ccr* de cada amostra, amplificando regiões que sejam específicas dos diferentes tipos desses complexos. Ao final, os resultados de ambas as reações são combinados para determinar o *SCCmec* da amostra, visto que cada cassete apresenta uma combinação específica de complexos *mec* e *ccr*. A sequência dos oligonucleotídeos utilizados e o tamanho dos fragmentos gerados para cada tipo de complexo *mec* e *ccr* estão apresentados na Quadro 6. As combinações de complexos *mec* e *ccr* de cada *SCCmec* estão listadas na Quadro 7.

A amplificação dos fragmentos do complexo *ccr* foi realizada utilizando microtubos contendo 1µL (~30 ng) do DNA bacteriano, obtido pela metodologia descrita no tópico 4.3, tampão de enzima 1X, 3,2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de cada dNTPp (Promega), 1,5 U de Taq DNA Polimerase (Promega), dez oligonucleotídeos a 0,1 µM cada (Tabela 8) e água livre de nucleases suficiente para completar 50 µL. A PCR foi realizada em termociclador (Eppendorf), utilizando a seguinte reação: desnaturação inicial a 94°C por 4 min, 30 ciclos de desnaturação 50 a 94°C por 2 min,

anelamento a 57°C por 1 min e extensão a 72°C por 2 min, concluindo com uma etapa de extensão final a 72°C por 5 min.

**QUADRO 6** - Sequência dos oligonucleotídeos utilizados e amplicons obtidos na PCR multiplex para caracterização do complexo *ccr*.

Oligonucleotídeo	Sequência (5'-3')	Gene	Amplicon (pb)
<b>PCR 1</b>			
mA1 mA2	5'-TGCTATCCACCCTCAAACAGG-3' 5'-AACCTATATCATCAATCAGTACGT-3'	<i>mecA</i>	286
1	5'-AACCTATATCATCAATCAGTACGT-3'	<i>ccrA1</i>	695
2	5'-TAAAGGCATCAATGCACAAACACT-3'	<i>ccrA2</i>	937
3 Bc	5'-AGCTCAAAGCAAGCAATAGAAT-3' 5'-ATTGCCTTGATAATAGCCITCT-3	<i>ccrA3</i>	1791
4.2 4.2	5'-GTATCAATGCACCAGAACTT-3' 5'-TTGCGACTCTCTTGCGGTTT-3'	<i>ccrA4</i>	1287
R F	5'-CCTTTATAGACTGGATTATTCAAATAT-3' 5'-CGTCTATTACAAGATGTTAAGGATAAT-3'	<i>ccrC</i>	518

Quadro adaptado de KONDO et al, 2007.

**QUADRO 7** - Sequência dos oligonucleotídeos utilizados e amplicons obtidos na PCR multiplex para caracterização do complexo *mec*.

Oligonucleotídeo	Sequência (5'-3')	Gene	Amplicon (pb)
<b>PCR 2</b>			
ml 6	5'-CATAACTTCCCATTCTGCAGATG-3'	<i>mecI</i> (classe <i>mecA</i> )	1963
IS7	5'-ATGCTTAATGATAGCATCCGAATG-3'	<i>IS1272</i> (classe <i>mecB</i> )	2827

IS2	5'-TGAGGTTATTCAGATATTTTCGATGT-3'	IS431 (classe <i>mecC</i> )	804
mA7	5'-ATATACCAAACCCGACAACACTACA-3'		

Quadro adaptado de KONDO et al, 2007.

Para amplificar os fragmentos do complexo *mec*, os microtubos foram preenchidos com 3µL de DNA bacteriano obtido pela metodologia descrita no tópico 4.5.2, tampão de enzima 1X, 3 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200µM de cada dNTP (Promega), 1,5U de *Taq* DNA Polimerase (Promega), quatro oligonucleotídeos a 0,1µM cada (Tabela 8) e água livre de nucleases suficiente para completar 50µL. A PCR foi realizada em um termociclador (Eppendorf), com a seguinte reação de amplificação: desnaturação inicial a 94°C por 4 min, seguido por 30 ciclos compostos por desnaturação a 94°C por 2 min, anelamento a 60°C por 1 min e extensão a 72°C por 2 min, e uma extensão final a 72°C por 5 min. Os fragmentos amplificados em ambas as reações foram visualizados em eletroforese em gel de agarose a 1,5%, com adição do intercalante de DNA Unisafe 0,5X (Uniscience). Um marcador de padrão de tamanho molecular DNA ladder de 1Kb (Biotools) foi utilizado de forma comparativa para indicar o tamanho dos fragmentos amplificados, e a eletroforese foi realizada em tampão TBE 0,5X a 90V por 2h. As amostras Mu50 (*SCCmec* II), 63a (*SCCmec* III), 526a (*SCCmec* IV) e 1952a (*SCCmec* V) foram utilizadas como controles da reação.

**QUADRO 8** – Classificação dos tipos de *SCCmec* de acordo com os tipos e classes de complexos *ccr* e *mec*, respectivamente, para amostras de *Staphylococcus* spp.

Tipo de <i>SCCmec</i>	Complexo <i>ccr</i>	Classe <i>mec</i>
I	<i>ccrA1-ccrB1</i>	<i>mecA-IS1272</i>
II	<i>ccrA2-ccrB2</i>	<i>mecA-mecI</i>
III	<i>ccrA3-ccrB3</i>	<i>mecA-mecI</i>
III Mercury	<i>ccrA3-ccrB3 + ccrC</i>	<i>mecA-mecI</i>
IV	<i>ccrA2-ccrB2</i>	<i>mecA-IS1272</i>
V	<i>ccrC</i>	<i>mecA-IS431</i>
VI	<i>ccrA4-ccrB4</i>	<i>mecA-IS1272</i>

#### **4.5. Avaliação da diversidade genética**

A avaliação da diversidade molecular das cepas de cada espécie foi realizada através de GTG5- PCR. O DNA isolado foi amplificado usando o primer (GTG) 5: 5'-GTGGTGGGTGGTGGTG-3'. As reações continham: 6,25µL de GoTaq G2 Green Master Mix (Promega), 1µL de primer na concentração de 1,6µL/mL, 0,25 µL de DMSO, GoTaq e MgCl<sub>2</sub>, 50ng de DNA e água em quantidade suficiente para completar o volume final de 12,5µL para cada reação. Os seguintes parâmetros de utilizados: desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos; seguido 30 ciclos de desnaturação a 95 °C por 1 minuto, hibridização a 40 °C por 1 minuto, 65 °C por 6 minutos de extensão e por fim, 1 ciclo de extensão final a 65 °C por 10 minutos.

Após a reação, os produtos amplificados foram visualizados por meio de eletroforese em gel de agarose 1,5% corado Unisafe. Em seguida, os perfis de banda (*fingerprints*) obtidos foram analisados utilizando a versão 7.6.3 do *software* Bionumerics (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Bélgica) para a construção de dendrogramas usando o método UPGMA (*“unweighted pair group method with arithmetic mean”*), com 5% de tolerância. Para agrupamento das amostras em um mesmo genótipo, foi exigido, no mínimo, 90% de similaridade.

#### **4.6 Análise do perfil clínico do paciente**

Os prontuários médicos dos pacientes incluídos no estudo foram consultados e as seguintes informações foram coletadas: sexo do bebê, tipo de parto, idade gestacional ao nascer, peso ao nascer, uso de antimicrobianos nos primeiros sete dias de internação, e quais foram utilizados, uso de dispositivos invasivos, e quais dispositivos foram utilizados, e motivo da internação na UTIN. Essas informações foram inseridas em um banco de dados no programa Microsoft Excel 365 (Microsoft Office® Excel, Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA), no qual os pacientes foram identificados por um número.

#### **4.7 Análise estatística**

Todos os dados foram registrados em formulário padronizado e inseridos em

um banco de dados criado no programa Excel Microsoft® (versão Office 2010). Entre os períodos antes e depois da pandemia, foram comparadas as variáveis clínicas, os perfis de susceptibilidade antimicrobiana, os valores de concentração mínima inibitória, tipos de SCC*mec* e genótipos prevalentes. As variáveis categóricas foram analisadas utilizando o teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher, dependendo da frequência observada. Variáveis contínuas foram analisadas pelo teste t de Student ou Mann-Whitney. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para os valores onde  $p < 0,05$ . O presente estudo também avaliou a prevalência do Genótipo A em relação a outras variantes, investigando suas associações com características microbiológicas (tipo de SCC*mec*, fermentação do manitol, perfil de resistência aos antimicrobianos e CMI para vancomicina). Para isso, foi utilizado o teste de independência de Qui-quadrado. Em casos com baixa frequências esperadas nas células das tabelas de contingência, a correção de Yates foi aplicada ao teste, a fim de evitar superestimação da significância estatística. Por fim, a diferença entre os valores de CMI para vancomicina entre amostras do Genótipo A e de outros genótipos foi avaliada pelo teste do Qui-quadrado ou Exato de Fischer.

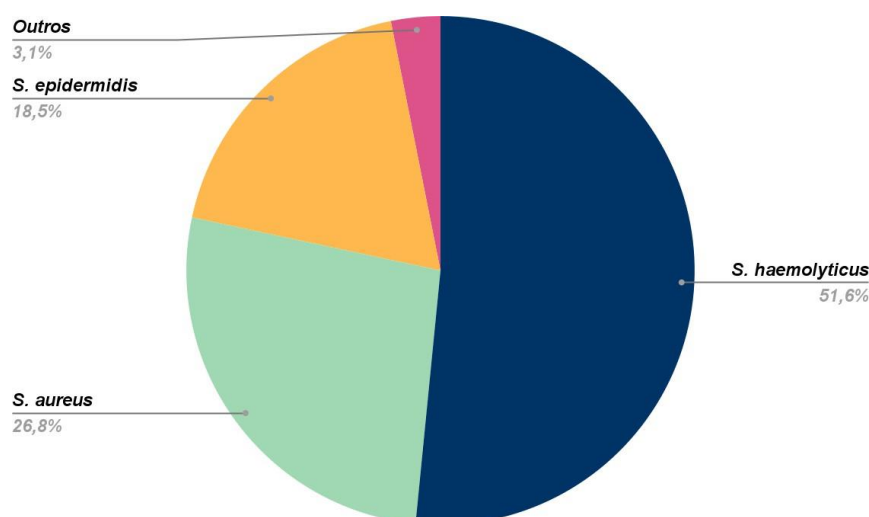
As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para  $p < 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas com o software R versão 4.4.2 (R CORE TEAM, 2024).

## 5 RESULTADOS

---

### 5.1 Amostras coletadas, identificação bacteriana e pacientes incluídos

Este estudo avaliou amostras de *S. haemolyticus* isoladas de *swabs* nasais de pacientes que se encontravam internados na unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN), entre agosto de 2019 e março de 2020 (período pré-pandêmico), e, entre novembro de 2020 e abril de 2021 (período de pandemia). No primeiro período, 65 neonatos foram admitidos na unidade e foi verificada uma média de 8,09 pacientes/dia. Um total de 59 pacientes foram incluídos no estudo, dos quais foram coletados 208 *swabs*. No segundo período do estudo, houve 56 admissões e uma média de 8,4 pacientes/dia, com 49 neonatos incluídos. Destes pacientes, foram coletados 115 *swabs*. O protocolo utilizado em nosso estudo para o processamento dos *swabs* permitiu o isolamento de 177 amostras de *Staphylococcus* no primeiro período e 174 amostras deste gênero no segundo. Todas as amostras foram submetidas a identificação via MALDI-TOF-MS e a PCR espécie específico. No total, foram isolados, 181 (51,6%) amostras de *S. haemolyticus*, 94 (26,8%) de *S. aureus*, 65 (18,5%) de *S. epidermidis*, seis (1,7%) de *S. saprophyticus*, duas (0,6%) de *S. warneri*, duas (0,6%) de *S. hominis* e uma (0,2%) de *S. pseudointermedius*.



**Figura 4:** Identificação das 351 amostras de *Staphylococcus spp.* isoladas em 107 pacientes da unidade de terapia intensiva neonatal, nos dois períodos do estudo.

Após a identificação de todas as amostras, foi selecionada a primeira amostra de *S. haemolyticus* isolada de cada paciente. Desta forma, 42 amostras do período pré-pandemia, e 33 durante o período pandêmico foram incluídas no estudo, totalizando 75 amostras de *S. haemolyticus*. No primeiro período, a prevalência de *S. haemolyticus* foi de 72,4% (42/58) e no segundo, 67,3% (33/49). Não houve diferença estatisticamente significativa na taxa de isolamento dessa espécie quando os dois períodos foram comparados ( $p=0,57$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1:** Número de pacientes colonizados por *Staphylococcus haemolyticus* em uma unidade de terapia intensiva neonatal, antes e durante a pandemia de COVID-19.

Aspectos avaliados	Antes da Pandemia de COVID-19	Durante a Pandemia de COVID-19	Total
Pacientes admitidos	65	56	121
Pacientes/dia	8,0	8,4	16,5
Pacientes avaliados	58	49	107
Pacientes colonizados	42 (72,4%)	33 (67,3%)	75 (70%)

Não houve diferença estatisticamente significativa. % = Porcentagem.

## 5.2 Características clínicas e demográficas dos pacientes

Dos 107 pacientes incluídos, 55 (51,4) eram meninos, com peso médio de  $1962,8 \pm 806,3$ g e nascidos após  $32,8 \pm 4$  semanas de gestação. Considerando os primeiros 10 dias de internação, o uso de antimicrobianos foi amplo, principalmente dos  $\beta$ -lactâmicos (78%), porém a vancomicina foi administrada em 7,5% dos pacientes. Aproximadamente um terço dos neonatos foi admitida na UTIN devido à prematuridade (31,3%) e outro terço devido à síndrome do desconforto respiratório (29%). De modo geral, o perfil dos dois grupos foi similar. No entanto, a internação motivada por prematuridade ou prematuridade extrema foi significativamente mais frequente entre as crianças colonizadas por *S. haemolyticus* do que entre as não colonizadas ( $p = 0,03$ ). Foi também observado ao longo do estudo que, em média, as crianças que não adquiriram colonização foram maiores ( $2091 \pm 690$ g) e nasceram com idade gestacional mais avançada ( $33,8 \pm 3,7$  semanas), embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa (Tabela 2).

**Tabela 2-** Características clínicas e demográficas associadas aos pacientes colonizados e não colonizados por *Staphylococcus haemolyticus* de uma unidade de terapia intensiva neonatal.

Características avaliadas	Colonizados N = 75 (%)	Não colonizados N = 32(%)	Total N = 107 (%)	Valor de p
Sexo (masculino)	39 (52)	16 (50)	55 (51,4)	0,85
Tipo de parto				
Vaginal	20 (26,6)	8 (25)	28 (26,1)	-
Cesáreo	33 (44)	13 (40,6)	46 (43)	-
ND	21 (28)	11 (34,3)	33 (29,9)	-
Peso ao nascer (média em g)	1908 ± 850,2	2091 ± 690	1962,8 ± 806,3	0,25 <sup>2</sup>
Idade gestacional (média em semanas)	32,4 ± 4	33,8 ± 3,7	32,8 ± 4	0,10 <sup>2</sup>
Uso de antimicrobianos <sup>1</sup>				
β-lactâmicos em geral	60 (80)	24 (75)	84 (78,4)	0,56
Ampicilina	56 (74,6)	21 (65,6)	77 (72)	0,34
Gentamicina	50 (66,6)	19 (59,3)	69 (64,5)	0,47
Ampicilina+Gentamicina	50 (66,6)	19 (59,3)	69 (64,5)	0,47
Vancomicina	5 (6,6)	3 (9,3)	8 (7,5)	0,69 <sup>3</sup>
Não fez uso	13 (17,3)	6 (18,7)	18 (17,8)	0,93
Uso de dispositivos invasivos				
CVU	21 (28)	10 (31,2)	31 (29)	0,73
PICC	17 (22,6)	13 (40,6)	30 (28)	0,06
Motivo principal para internação				
Prematuridade	30 (40)	6 (18,7)	36 (33,6)	<b>0,03</b>
SDR	18 (24)	13 (40,6)	31 (29)	0,08
Má formação congênita	7 (9,3)	5 (15,6)	12 (11,2)	0,34
Mãe COVID-19+	5 (6,7)	-	5 (4,7)	0,39 <sup>3</sup>

**ND:** Informação não disponibilizada; **CVU:** cateter venoso umbilical; **PICC:** cateter central de inserção periférica; **SDR:** síndrome do desconforto respiratório. **N=** Número de amostras; **% =**

Porcentagem. <sup>1</sup>nos primeiros dez dias de internação; <sup>2</sup>Teste t de Student.

Dos 75 pacientes, 68 (90,7%) foram colonizados por *S. haemolyticus* nos primeiros sete dias de internação e, na segunda semana todos estavam colonizados. Dentre os pacientes incluídos, 39 (52%) eram do sexo masculino. A idade gestacional média ao nascer foi de  $32,4 \pm 4$  semanas, enquanto o peso médio dos neonatos foi de  $1908 \pm 844$ g. Apenas 13 (17,3%) pacientes não utilizaram antimicrobianos antes do isolamento da amostra. Nesse contexto, antimicrobianos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos foram utilizados por 60 (80%) pacientes, tendo sido a combinação ampicilina + gentamicina administrada em 66,6% dos neonatos. O uso da vancomicina antes do isolamento de *S. haemolyticus* ocorreu em apenas cinco (6,6%) pacientes. Prematuridade e diagnóstico de síndrome do desconforto respiratório foram as principais causas apontadas em prontuário para admissão dos neonatos na UTIN.

Houve pouca variação no perfil clínico e demográfico dos pacientes quando os dois períodos do estudo foram comparados. O uso de antimicrobianos apresentou tendência de redução. A taxa de pacientes que não recebeu antibioticoterapia subiu de 11,9% para 24,4% ( $p= 0,16$ ), com destaque para o uso da ampicilina e da combinação ampicilina + gentamicina, que apresentaram variação estatisticamente significativa ( $p= 0,04$  em ambos os casos) (Tabela 3).

**Tabela 3** - Características clínicas e demográficas associadas aos 75 pacientes colonizados por *Staphylococcus haemolyticus* de uma unidade de terapia intensiva neonatal, de acordo com o período avaliado

Características avaliadas	Antes da pandemia N=42 (%)	Durante a pandemia N=33 (%)	Total N=75 (%)	Valor de p
Sexo (masculino)	17 (40,7)	20 (60,6)	39 (52)	0,08
Tipo de parto				
Vaginal	14 (33,3)	6 (18,1)	20 (26,6)	-
Cesáreo	18 (42,8)	15 (45,4)	33 (44)	-
ND	9 (21,4)	12 (36,3)	21 (28)	-
Peso ao nascer (média em g)	1807,7 ± 811,1	2035,6 ± 868,6	1908 ± 844,5	0,25 <sup>2</sup>
Idade gestacional (média em semanas)	31,8 ± 3,6	33,1 ± 4,5	32,4 ± 4	0,16 <sup>2</sup>
Uso de antimicrobianos <sup>1</sup>				
β-lactâmicos em geral	36 (85,7)	24 (72,7)	60 (80)	0,16
Ampicilina*	32 (76,1)	18 (54,5)	50 (66,6)	<b>0,04</b>
Gentamicina	35 (83,3)	21 (36,6)	56 (74,6)	0,05
Ampicilina+Gentamicina	32 (76,1)	18 (54,5)	50 (66,6)	<b>0,04</b>
Vancomicina	4 (9,5)	1 (3)	5 (6,6)	0,37
Não fez uso	5 (11,9)	8 (24,4)	13 (17,3)	0,16
Uso de dispositivos invasivos				
CVU	8 (19)	13 (39,3)	21 (28)	0,05
PICC	8 (19)	9 (27,2)	17 (22,6)	0,39
Motivo da internação				
Prematuridade	17 (40,4)	13 (39,4)	30 (40)	0,06
SDR	13 (30,9)	5 (15,1)	18 (24)	0,82
Má formação congênita	6 (14,3)	1(3)	7(9,3)	0,12 <sup>3</sup>
Mãe COVID-19+	-	5 (15,2)	5 (6,7)	0,01 <sup>3</sup>

**ND:** Informação não disponibilizada no prontuário; **CVU:** cateter venoso umbilical; **PICC:** cateter central de inserção periférica; **SDR:** síndrome do desconforto respiratório. **N=** Número de amostras;

% = Porcentagem..<sup>1</sup>até o momento do isolamento da amostra; <sup>2</sup>Teste t de student; <sup>3</sup>Teste exato de Fischer.

### 5.3 Fermentação do manitol

Durante o processo de coleta dos *swabs*, foi realizada a semeadura em ágar manitol salgado, de modo a selecionar as amostras positivas para o gênero *Staphylococcus* e diferenciar as amostras de *S. aureus*, fermentadoras do manitol, das espécies coagulase negativas que, em geral, não fermentam este carboidrato. No total, 25 (33,3%) das amostras foram fermentadoras do manitol. No primeiro período do estudo, das 42 amostras de *S. haemolyticus* isoladas, 13 (30%) foram capazes de fermentar esse carboidrato. Já no segundo período, de 33 amostras isoladas, 12 (36%) apresentaram a mesma característica. Apesar do aumento, a diferença observada na taxa de amostras manitol positivas antes e durante a pandemia não foi estatisticamente significativa ( $p=0,63$ ).

### 5.4 Perfil de susceptibilidade

As 75 amostras de *S. haemolyticus* isoladas no presente estudo foram analisadas quanto à sua susceptibilidade antimicrobiana, a qual se mostrou similar nos dois momentos. Todas as amostras mostraram perfil de resistência à meticilina, em ambos os períodos. As maiores taxas de resistência foram encontradas para cefoxitina (100%), oxacilina (100%), penicilina (100%), eritromicina (93%), gentamicina (90%), ciprofloxacina (88%), clindamicina (84%) e sulfametoxazol-trimetoprim (81%) (Tabela 3). De modo geral, após o estabelecimento da pandemia da COVID-19, houve um leve aumento nas taxas de resistência para a maioria dos antimicrobianos. No entanto, para tetraciclina, as taxas de resistência caíram de 26% para 5%. Para linezolida, foi detectada uma amostra resistente no primeiro período (2%) e nenhuma no segundo. Não foram encontrados perfis que apresentassem halo D positivo.

**Tabela 4** - Resistência antimicrobiana de 75 amostras de *Staphylococcus haemolyticus* isoladas antes e durante a pandemia em uma UTI neonatal.

Antimicrobiano	Antes da pandemia N= 42 (%)	Durante a pandemia N=33 (%)	Total N=75 (%)	Valor de <i>p</i>
Ciprofloxacina	34 (80%)	32 (96%)	66 (88%)	0,06
Clindamicina	33 (78%)	30 (90%)	63 (84%)	0,20
Eritromicina	38 (90%)	32 (96%)	70 (93%)	0,37
Gentamicina	38 (90%)	30 (90%)	68 (90%)	1,00
Linezolida	1 (2%)	0	1 (1%)	1,00
Mupirocina	0	2 (6%)	2 (2%)	0,19
SXT-TMP	31 (73%)	30 (90%)	61 (81%)	0,07
Tetraciclina	4 (9%)	0	4 (5%)	0,13
Rifampicina	5 (11%)	8 (24%)	13 (17%)	0,22

**SXT-TMP:** sulfametoxazol-trimetoprim; **N=** Número de amostras; % = Porcentagem. Todas as amostras foram resistentes a cefoxitina, oxacilina e penicilina.

Mais da metade das amostras de *S. haemolyticus* (53,3%) isoladas neste estudo apresentaram o mesmo perfil de susceptibilidade, com resistência simultânea à oito antimicrobianos: penicilina, cefoxitina, oxacilina, ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, gentamicina e STX-TMP. Este perfil foi detectado em 21 (50%) amostras antes da pandemia e em 19 (57,6%) após o estabelecimento da COVID-19. Outras nove (12%) amostras apresentaram um perfil de susceptibilidade semelhante, porém com resistência adicional à rifampicina. Esse segundo perfil predominante passou de 7,1% no primeiro período para 18,2% no segundo período. Por outro lado, perfis esporádicos foram reduzidos de 30,1% para 18,2%.

**Tabela 5** - Perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos encontrados em 75 amostras de *Staphylococcus haemolyticus* isoladas de neonatos colonizados, antes e durante a pandemia de COVID-19

Perfis de resistência antimicrobiana	Antes da pandemia N=42 (%)	Durante a pandemia N=33 (%)	Total N=75 (%)
PEN-OXA-FOX-ERI	1 (2,3%)	1 (3%)	2 (2,7%)
PEN-OXA-FOX-CIP-CLI-STX	2 (4,6%)	0	2 (2,7%)
PEN-OXA-FOX-ERI-CIP-CLI-GEN-RIF	2 (4,6%)	0	2 (2,7%)
PEN-OXA-FOX-ERI-CIP-CLI-GEN -STX	21 (50%)	19 (57,6%)	40 (53,3%)
PEN-OXA-FOX-ERI-CIP-CLI-GEN-STX-RIF	3 (7,1%)	6 (18,2%)	9 (12%)
PEN-OXA-FOX-ERI-CIP-CLI-GEN-STX-MUP	1 (2,3%)	1 (3%)	2 (2,7%)
Outros*	13 (30,1%)	6 (18,2%)	19 (25,3%)

**PEN:** penicilina; **OXA:** oxacilina; **FOX:** cefoxitina; **CIP:** ciprofloxacino; **CLI:** clindamicina; **ERI:** eritromicina; **GEN:** gentamicina; **MUP:** mupirocina; **SXT:** sulfametoxazol-trimetoprim; **RIF:** rifampicina; **N=** Número de amostras; **%** = Porcentagem..\*Perfis esporádicos detectados apenas uma vez ao longo do estudo.

A suscetibilidade à vancomicina foi avaliada pela determinação da concentração mínima inibitória (CMI). O estudo indicou que 66% (50/75) e 12% (9/75) das amostras avaliadas neste estudo apresentaram, respectivamente, valores de CMI iguais a 4 µg/mL e 8 µg/mL para o antimicrobiano. No primeiro período avaliado, foram encontradas 61% (26/42) de amostras com CMI= 4µg/mL e 11% (5/42) com CMI = 8µg/mL. No segundo período, houve um aumento, porém não estatisticamente significativo, na taxa de amostras apresentando esses valores. Durante a COVID-19, 72% (24/33) das amostras passaram a apresentar CMI = 4 µg/mL e 12% (4/33) apresentaram CMI = 8 µg/mL.

As amostras foram também agrupadas de acordo com a faixa de CMI apresentada. Antes da pandemia, 73,8% (31/42) apresentam CMI igual ou superior a 4. Após o estabelecimento da pandemia esse valor aumentou para 84,8% (28/33). No entanto, este aumento não foi considerado significativo.

**Tabela 6** - Concentração mínima inibitória para vancomicina em 75 amostras de *Staphylococcus haemolyticus* isoladas de neonatos colonizados, antes e durante a pandemia de COVID-19.

Valor de CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )	Antes da pandemia N=42 (%)	Durante a pandemia N=33 (%)	Total n=75 (%)	Valor de <i>p</i>
Valor absoluto				
1	1 (2)	2 (6)	3 (4)	0,58
2	10 (23)	3 (9)	13 (17)	0,13
4	26 (61)	24 (72)	50 (66)	0,46
8	5 (11)	4 (12)	9 (12)	1,00
Faixa				
1 – 2	11 (26,2)	5 (15,2)	16 (21,3)	0,25
4 – 8	31 (73,8)	28 (84,8)	59 (78,7)	0,25

**CMI:** concentração mínima inibitória; **N=** Número de amostras; % = Porcentagem.

### 5.5 Caracterização do SCC*mec*

Todas as amostras de *S. haemolyticus* incluídas neste estudo foram resistentes à metilina e, portanto, todas foram submetidas à caracterização do SCC*mec*. Mais da metade das amostras de *S. haemolyticus* apresentou o SCC*mec* tipo V (52%) e as demais (48%) apresentaram cassetes não tipáveis (NT). Dentre as amostras com SCC*mec* NT, a maioria (16 amostras; 44,4%) não tinha nem o tipo de complexo *ccr* e nem a classe *mec* identificados pelos protocolos utilizados. Antes da pandemia 57,2% das amostras carregavam o SCC*mec* tipo V e 42,8% (18/42) apresentaram cassetes NT. Após a pandemia, no entanto, esse perfil se inverteu e os SCC*mec* NT passaram a representar a maior parte das amostras (54,4%; 18 amostras), enquanto o SCC*mec* tipo V foi encontrado em 45,5% (15). Além disso, no segundo período do estudo houve uma maior variabilidade de cassetes *mec*. Enquanto antes da pandemia foram encontrados apenas três padrões de SCC*mec* NT (NT1, NT5 e NT7), no segundo período foram detectados sete padrões (N1 ao N7) (Tabela 6).

**Tabela 7** - Classificação das 75 amostras de *Staphylococcus haemolyticus* resistentes à meticilina em relação aos tipos de SCC*mec*.

Tipo de SCC <i>mec</i>	Total N= 75 (%)	Antes da pandemia N=42 (%)	Durante a pandemia N=33 (%)	Complexo <i>ccr</i>	Classe do complexo <i>mec</i>
V	39 (52)	24 (57,2)	15 (45,5)	<i>ccr5</i>	C
NT	36 (48)	18 (42,8)	18 (54,5)		
NT1	4 (11)	2	2	<i>ccr1</i> + 5	C
NT2	1 (2,8)	-	1	<i>ccr1</i>	A
NT3	1 (2,8)	-	1	<i>ccr4</i> + 2 + 5	C
NT4	2 (2,7)	-	2	<i>ccr5</i>	-
NT5	11 (30,5)	8	3	-	C
NT6	1 (2,8)	-	1	<i>ccr4</i>	-
NT7	16 (44,4)	8	8	-	-

**SCC*mec***: cassete cromossômico estafilocócico *mec*; **NT**: Não tipável; **(-)**: ausente; **N**= Número de amostras; % = Porcentagem.

## 5.6 Diversidade genética

As amostras de *S. haemolyticus* isoladas no estudo foram submetidas ao PCR GTG5 *fingerprint* e o perfil de bandas obtido foi comparado para análise dos genótipos encontrados na UTIN ao longo dos dois períodos. Considerando uma tolerância de 5% quanto ao distanciamento das bandas e um coeficiente de similaridade de cerca de 90%, foram encontrados cinco genótipos (Figura 4). Das 75 amostras avaliadas, 95,8% (72) foram relacionadas a apenas três genótipos, e 70,6% (53) pertenciam ao genótipo A.

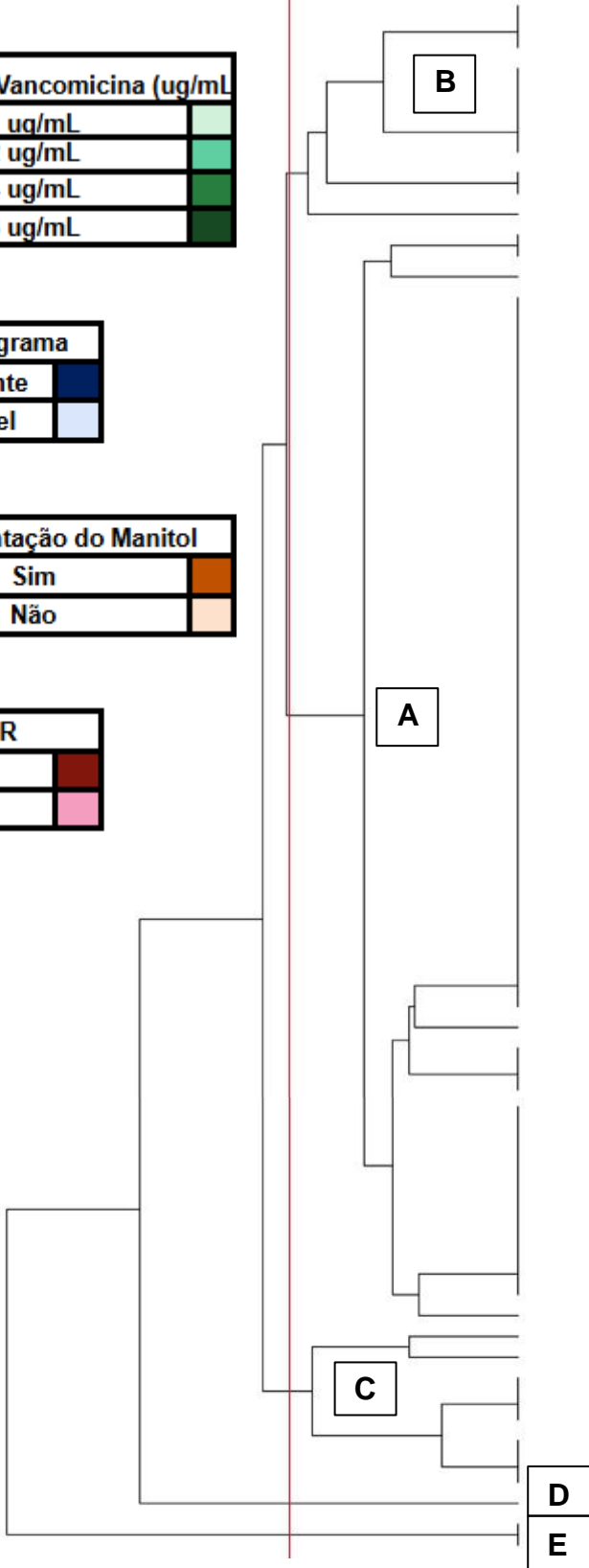
70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170 180 190 200

CMI para Vancomicina (ug/mL)	
1 ug/mL	
2 ug/mL	
4 ug/mL	
8 ug/mL	

Antibiograma	
Resistente	
Sensível	

Fermentação do Manitol	
Sim	
Não	

MDR	
Sim	
Não	



Strain	SCCmec	CMI Vancomicina	Cefoxitina	Oxacilina	Penicilina	Eritromicina	Gentamicina	Ciprofloxacina	Clindamicina	STX-TMP	Rifampicina	Tetraciclina	Mupirocina	Linezolid	MDR	Fermentação do Manitol
125B - 2 <sup>o</sup> P	V															
127B - 2 <sup>o</sup> P	V															
98A - 2 <sup>o</sup> P	V															
104B - 2 <sup>o</sup> P	V															
114A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
100A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
37A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
30A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
62G - 1 <sup>o</sup> P	V															
41B - 1 <sup>o</sup> P	V															
56C - 1 <sup>o</sup> P	V															
133B - 2 <sup>o</sup> P	V															
31A - 1 <sup>o</sup> P	V															
35A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
29B - 1 <sup>o</sup> P	V															
135C - 2 <sup>o</sup> P	V															
129A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
130A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
136B - 2 <sup>o</sup> P	NT															
9A - 1 <sup>o</sup> P	V															
132B - 2 <sup>o</sup> P	NT															
61A - 1 <sup>o</sup> P	V															
57A - 1 <sup>o</sup> P	V															
58 - 1 <sup>o</sup> P	NT															
17A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
23A - 1 <sup>o</sup> P	V															
99A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
107A - 2 <sup>o</sup> P	V															
49B - 1 <sup>o</sup> P	NT															
111A - 2 <sup>o</sup> P	V															
116D - 2 <sup>o</sup> P	V															
110A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
121A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
122A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
52A - 1 <sup>o</sup> P	V															
68A - 1 <sup>o</sup> P	V															
75A - 1 <sup>o</sup> P	V															
82A - 1 <sup>o</sup> P	V															
86A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
89A - 2 <sup>o</sup> P	V															
90B - 2 <sup>o</sup> P	V															
91B - 2 <sup>o</sup> P	V															
93B - 2 <sup>o</sup> P	V															
95B - 2 <sup>o</sup> P	NT															
96A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
126A - 2 <sup>o</sup> P	V															
109B - 2 <sup>o</sup> P	V															
28B - 1 <sup>o</sup> P	V															
14A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
38A - 1 <sup>o</sup> P	V															
3A - 1 <sup>o</sup> P	V															
8A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
11A - 1 <sup>o</sup> P	V															
12A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
45B - 1 <sup>o</sup> P	NT															
53A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
60C - 1 <sup>o</sup> P	V															
19F - 1 <sup>o</sup> P	NT															
22A - 1 <sup>o</sup> P	NT															
65A - 1 <sup>o</sup> P	V															
39A - 1 <sup>o</sup> P	V															
40A - 1 <sup>o</sup> P	V															
123C - 2 <sup>o</sup> P	NT															
113B - 2 <sup>o</sup> P	NT															
134A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
120A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
1E - 1 <sup>o</sup> P	V															
7A - 1 <sup>o</sup> P	V															
5B - 1 <sup>o</sup> P	NT															
21 - 1 <sup>o</sup> P	V															
42C - 1 <sup>o</sup> P	NT															
97A - 2 <sup>o</sup> P	NT															
101B - 2 <sup>o</sup> P	NT															
71 - 1 <sup>o</sup> P	NT															
69A - 1 <sup>o</sup> P	NT															

**Figura 5.** Dendograma demonstrando a diversidade genética através de (GTG)5–PCR e características microbiológicas de 75 *Staphylococcus haemolyticus*, isolados de pacientes de uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. **1°P:** Antes da Pandemia de COVID-19; **2°P:** Durante a Pandemia de COVID-19. **NT:** Não-tipável; **CMI:** Concentração Mínima Inibitória; **STX-TMP:** sulfametoxazol-trimetoprim; **MDR:** *Multidrug resistance*.

A Tabela 7 descreve a variabilidade genotípica encontrada em cada um dos períodos avaliados. Três genótipos foram detectados em amostras de ambos os períodos. O Genótipo A foi predominante, tanto antes (71,4%; 30 amostras) quanto durante (69,7%; 23) a pandemia. O Genótipo B aumentou de 11,9% (5/42) para 18,2% (6/33) após a pandemia. Já o Genótipo C teve sua prevalência reduzida de 11,9% (5/42) para 9,1% (3/33). Por outro lado, o Genótipo D foi encontrado somente no primeiro período, em duas amostras (4,7%) e o Genótipo E somente no segundo período, em uma amostra (3,1%).

**Tabela 8-** Distribuição dos genótipos identificados em 75 amostras de *Staphylococcus haemolyticus* isoladas de neonatos, antes e durante a pandemia de COVID-19.

Genótipos	Antes da pandemia N=42 (%)	Durante a pandemia N=33 (%)	Total N=75 (%)	Valor de <i>p</i>
Genótipo A	30 (71,4)	23 (69,7)	53 (70,6)	1,00
Genótipo B	5 (11,9)	6 (18,2)	11(14,6)	0,52
Genótipo C	5 (11,9)	3 (9,1)	8 (10,6)	1,00
Genótipo D	2 (4,7)	0	2(2,6)	0,50
Genótipo E	0	1 (3)	1(1,3)	0,44

**N=** Número de amostras; % = Porcentagem.

Na Figura 4 estão ilustradas as características microbiológicas das amostras de cada genótipo. Devido a maior frequência de amostras relacionadas ao Genótipo A em ambos os períodos do estudo, foi investigada uma possível associação entre este genótipo e as características avaliadas no estudo (Tabela 8). A análise estatística indicou que a capacidade de fermentação do manitol ( $p=0,048$ ) e um valor de CMI para vancomicina igual ou maior que 4  $\mu\text{g/mL}$  foram significativamente mais encontrados em amostras do Genótipo A, enquanto amostras de outros genótipos apresentaram, em sua maioria, valores de CMI menores ou iguais a 2  $\mu\text{g/mL}$  ( $p=0,008$ ). Não foram encontradas diferenças significativas com relação a resistência aos antimicrobianos ou ao tipo de SCC*mec*.

**Tabela 9** - Características microbiológicas de amostras de *Staphylococcus haemolyticus* associadas ao Genótipo A e a outros genótipos, dentre as 75 avaliadas neste estudo.

Características	Genótipo A N=53 (%)	Outros N=22 (%)	Valor $p^1$
Fermentação do manitol	39 (73,6)	11 (50)	<b>0,048</b>
Resistência antimicrobiana			
Ciprofloxacina	46 (86,8)	20 (90,9)	1,000
Clindamicina	46 (86,8)	17 (77,3)	0,306
Eritromicina	49 (92,5)	21 (95,5)	1,000
Gentamicina	47 (88,7)	21 (95,5)	0,666
Linezolida	1 (1,9)	0	1,000
Mupirocina	1 (1,9)	1 (4,5)	0,503
Rifampicina	8 (15,1)	5 (22,7)	0,427
STX-TMP	45 (84,9)	16 (72,7)	0,218
Tetraciclina	4 (7,5)	0	0,314
CMI vancomicina ( $\mu\text{g/mL}$ )			
1 – 2	7 (13,2)	9 (40,9)	
4 – 8	46 (86,8)	13 (59,1)	<b>0,008</b>
Tipo de SCC <i>mec</i>			
V	24 (45,3)	12 (54,5)	0,464
NT	29 (54,7)	10 (45,5)	

**STX-TMP**: sulfametoxazol-trimetoprim; **CMI**: concentração mínima inibitória; **SCC*mec***: cassete cromossômico estafilocócico *mec*; **NT**: não tipável; **N**= Número de amostras; **%** = Porcentagem.

<sup>1</sup>Teste qui-quadrado ou Exato de Fischer.

## 6 DISCUSSÃO

---

Entre neonatos admitidos em unidades de terapia intensiva, SCN são a principal causa de IRAS (Fang et al., 2023; Opare-Asamoah et al., 2023) Esses microrganismos são adquiridos durante a hospitalização, estabelecem colonização e a partir daí podem desencadear infecção, principalmente as ICS associadas ao uso de catéter (Holmes et al., 2024). Após o estabelecimento da pandemia de COVID-19, diversos estudos conduzidos em diferentes países do mundo apontaram a emergência da espécie *S. haemolyticus* como principal espécie isolada de colonização e infecção em UTIN.

O presente estudo incluiu 110 pacientes internados na segunda maior UTIN pública do Norte Fluminense em dois períodos, antes e durante a pandemia de COVID-19. A prevalência de *S. haemolyticus* neste estudo foi de 68,2%. São bastante raros na literatura os estudos que avaliaram a presença de *S. haemolyticus* em neonatos colonizados. Um deles foi conduzido por nosso grupo em 2009. Foram avaliados 175 neonatos de um outra UTIN pública do estado do Rio de Janeiro e apenas 23,3% destas crianças estavam colonizadas por esta espécie (Salgueiro et al., 2019). Nesta mesma época (2007 e 2008), Ternes e colaboradores (2013) coletaram amostras de neonatos colonizados em um UTIN de Goiás e verificaram que 38% deles estavam colonizados por *S. haemolyticus*. A discrepância das taxas encontradas entre estudos prévios no Brasil e a reportada em nosso estudo pode indicar a emergência, nos últimos anos, da espécie como principal SCN colonizador em UTINs brasileiras.

Quando são consideradas amostras de infecção em neonatos, é possível perceber que *S. haemolyticus* vem aumentando em prevalência neste grupo. Durante muito tempo, a espécie ocupou o segundo ou terceiro lugar entre as espécies de SCN mais frequentemente isoladas no mundo, sempre atrás de *S. epidermidis* (Keim et al., 2011; Brzychczy-Wloch et al., 2013; Pereira et al., 2013). Em 2014, um estudo realizado no Rio de Janeiro identificou que 77% das amostras de SCN isoladas de sepse em neonatos era da espécie *S. haemolyticus* (Pereira et al., 2014). A partir de 2020, diversos países passaram a reportar esta espécie como a mais isolada em infecções adquiridas em UTIN (Chakraborty et al., 2022; Qin et al. 2022; Westberg et al. 2022). Atualmente, esse patógeno tem sido identificado

como um importante patógeno em unidades neonatais, com aumento da resistência antimicrobiana em diferentes regiões (Magnan et al., 2024). Em nosso estudo, avaliamos somente amostras de colonização. No entanto, verificamos que a taxa observada imediatamente antes da pandemia (68,8%) foi praticamente a mesma daquela observada no pico de óbitos por COVID-19 em nosso país (67,3%). Isto indica que a disseminação desta espécie em nossa unidade ocorreu pouco antes do início antes do período pandêmico. A análise dos dados demográficos e clínicos associados aos pacientes colonizados por *S. haemolyticus* indicou que mais de 90% dos pacientes adquiriram colonização em até 7 dias de internação. Este dado é condizente com o já observado por Salgueiro e colaboradores (2019), que verificaram que o tempo para isolamento de *S. haemolyticus* por pacientes de UTIN é, em média, 5 dias.

No presente estudo, embora pacientes colonizados por *S. haemolyticus* tenham nascido menores e com idade gestacional mais prematura, essas diferenças não foram significativas quando comparadas aos pacientes que não desenvolveram colonização. No entanto, as internações em UTIN motivadas por prematuridade foram significativamente mais frequentes entre crianças que adquiriram a bactéria. Estudos recentes que avaliaram *S. haemolyticus* isolados de fontes de colonização e de infecção em neonatos demonstram que crianças menores de 1500g estão mais propensas a adquirir colonização e infecção de corrente sanguínea do que aquelas que nascem maiores (Magnan et al., 2024; Simões et al., 2025). Os achados de nosso estudo podem sugerir que, no que se refere à colonização por *S. haemolyticus*, mais relevante do que a prematuridade, é o seu impacto no quadro clínico do paciente.

Verificamos também que, durante a pandemia, as crianças foram ligeiramente maiores e menos prematuras do que antes desse período, inclusive o percentual de crianças admitidas por prematuridade também caiu. No entanto, nenhuma dessas variações foi significativa. Apesar disso, muitos autores reportaram a redução nas taxas de nascimentos prematuros durante a pandemia, em vários países do mundo. Segundo esses autores, essa redução ainda não pode ser totalmente explicada, mas é possível que as restrições impostas durante a pandemia foram responsáveis por uma menor exposição a agentes infecciosos, que podem induzir parto prematuro (Weinberger et al., 2022; David & Reutter, 2023). Os antimicrobianos mais utilizados foram  $\beta$ -lactâmicos, especialmente a ampicilina em combinação com a gentamicina. A escolha desses antimicrobianos está em consonância com as diretrizes da Organização Mundial de Saúde e de outras associações médicas, que preconizam o uso intravenoso desses antimicrobianos em caso de suspeita ou risco de

desenvolvimento de sepse pelo neonato (Jefferies et al., 2017; Fuchs et al., 2018). Curiosamente, no segundo período do estudo o uso de ampicilina e gentamicina caiu significativamente ( $p= 0,0484$ ) em comparação com o período pré-pandemia. Outros estudos conduzidos ao redor do mundo mostram que, durante a COVID-19, o uso de antimicrobianos aumentou (Peterson., 2022; Rusic., 2021). A redução no uso de ampicilina e gentamicina, observada em nosso estudo, pode estar relacionada ao fato de que, durante a pandemia, a média de peso e idade gestacional dos neonatos admitidos foi maior do que o observado antes da pandemia, ainda que esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Sabe-se que a propensão ao uso de antimicrobianos é maior quanto mais prematuro é o paciente (Huncikova et al., 2023)

No entanto é importante notar que mais de 80% utilizaram algum antimicrobiano, e não houve diferença significativa nas taxas de uso de antimicrobianos em geral entre os dois períodos. Essas taxas foram inclusive muito superiores ao observado na literatura. Um amplo estudo multicêntrico conduzido em 29 países e que envolveu 2265 neonatos de UTIN verificou que 26% deles utilizaram antimicrobianos. Mesmo em países de menor renda, esta taxa foi de 31% (Prusakov et al., 2021). Considerando que, em nosso estudo, todos os pacientes estavam colonizados por *S. haemolyticus*, é possível que exista correlação estreita entre o uso de antimicrobianos o estabelecimento de colonização por esta espécie. É importante frisar também que, nos pacientes analisados, até o momento do isolamento da amostra o uso de vancomicina foi bastante reduzido (6,6%). Isto está relacionado ao fato de que 90% dos pacientes apresentaram colonização na primeira semana de internação na unidade. A vancomicina é um antimicrobiano que, embora esteja entre os 10 medicamentos mais utilizados em UTINs e é recomendado em caso de falha terapêutica, quando outros antimicrobianos já foram utilizados (Stark et al., 2022).

Além da prevalência de *S. haemolyticus* e do perfil clínico e demográfico dos pacientes colonizados ser bastante similar, as características microbiológicas das amostras isoladas nos dois períodos também foi semelhante. Um fato observado em nosso estudo foi o elevado percentual de amostras (33,3%) que tiveram capacidade de fermentar o carboidrato manitol. A fermentação do manitol é mediada pela presença do operon *mtl*, o qual possui alta homologia com o de *S. aureus* (Takeuchi et al., 2005). Bouchami e colaboradores (2023) demonstraram que variantes genômicas e fenotípicas com deleções/mutações em genes clinicamente relevantes, dentre eles os responsáveis pela fermentação do manitol, acontecem naturalmente, mesmo na ausência de estresse ambiental, como aquele provocado pelo uso de antimicrobianos. No entanto, quando exposto a pressões seletivas,

é esperado que essas mutações cessem e uma única variante se torne dominante. Em outras palavras, os autores sugerem que a deleção do operon *mtl* é um evento comum quando não há pressão seletiva. Assim, é possível que o ambiente da UTIN, marcado pelo uso massivo de antimicrobianos, tenha impedido as mutações espontâneas que causariam a deleção do operon *mtl* e tenham permitido a disseminação de amostras fermentadoras do manitol.

É possível também que amostras manitol positivas estejam sendo selecionadas dentro da unidade, devido às características dos pacientes admitidos. Sabe-se que a habilidade de metabolizar o manitol é um mecanismo importante para a bactéria, pois o acúmulo deste carboidrato no interior da célula causa um desbalanço osmótico que afeta a capacidade de *Staphylococcus* em responder ao estresse causado pela salinidade, alcalinidade e espécies reativas de oxigênio (Nguyen et al., 2019). Kenny e colaboradores (2013) determinaram também que amostras que não fermentam o manitol são mais susceptíveis aos ácidos graxos da pele. Inclusive, cepas de *S. aureus* manitol negativas foram incapazes de estabelecer colonização de pele em modelos murinos. Segundo os autores, isto provavelmente ocorre porque os ácidos graxos desestabilizam a membrana citoplasmática bacteriana e favorecem o influxo de água, potencializando o efeito nocivo do manitol acumulado no interior da célula (Kenny et al., 2013; Nguyen et al., 2019). Neste contexto, é importante considerar a relevância dos ácidos graxos na pele dos neonatos. Após a 28ª semana de gestação, o bebê já nasce com a pele recoberta pela vérnix, uma substância de aspecto gorduroso, formada 80% por água, 10% por proteínas e 10% por lipídeos (Hoeger et al., 2002), que começa a surgir na 17ª semana de gestação e forma uma camada hidrofóbica, com pH entre 6,7 – 7,4 e rica em peptídeos antimicrobianos (Youssef et al., 2001; Kutlubay et al., 2017). A porção lipídica da vérnix é composta por colesterol, ceramidas ácidos graxos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados e de cadeia ramificada (Hoegger et al., 2002; Li et al., 2021). Em nossa unidade, na primeira semana de admissão, não são realizados banhos no neonato, portanto a maioria permanece com a camada protetora da vérnix durante um tempo prolongado. A presença desta barreira lipídica pode favorecer a presença de *S. haemolyticus* fermentadores de manitol, os quais são mais resistentes aos ácidos graxos da vérnix. No entanto, são necessários estudos que possam determinar se a vérnix tem propriedade de inibir a colonização por cepas de *Staphylococcus* que fermentam ou não o manitol.

Todas as amostras de *S. haemolyticus* avaliadas neste estudo foram resistentes à meticilina e mais de 80% delas foram resistentes a ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina,

gentamicina e sulfametoxazol-trimetoprim. Outros estudos realizados no Brasil e no mundo, encontraram taxas de resistência acima de 80% para esses antimicrobianos (Pereira et al., 2014; Salgueiro et al., 2017; Salgueiro et al., 2019; Ocloo et al. 2023; Magnan et al., 2024), confirmando os dados encontrados no presente estudo. Vale ressaltar que mais da metade das amostras, inclusive, apresentou o mesmo perfil de susceptibilidade, marcado pela resistência simultânea a esse antimicrobianos (PEN-OXA-FOX-ERI-CIP-CLI-GEN-STX). Este perfil foi encontrado em 50% e 57% das amostras do primeiro e segundo período, respectivamente, mas este aumento não foi considerado significativo. De todos os antimicrobianos testados, apenas para linezolida e tetraciclina houve redução na resistência no segundo período. Todos os demais apresentaram manutenção ou aumento, ainda que não significativo, das taxas de resistência. Estes resultados sugerem que, na unidade avaliada, cepas MDR com mesmo perfil de susceptibilidade se disseminaram antes da pandemia e permaneceram estáveis, apesar das alterações na rotina que ocorreram após 2020.

É importante notar que a redução significativa no uso de ampicilina + gentamicina e a tendência de redução no uso de antimicrobianos pelos neonatos após a pandemia não foi acompanhada por uma redução nas taxas de resistência a esses antimicrobianos. Isto provavelmente se deve a uma característica própria de *S. haemolyticus*, reportada por Chakraborty e colaboradores (2022). Os autores verificaram que amostras resistentes à cefotaxima, quando são cultivadas na ausência do antibiótico, não sofrem redução na concentração mínima inibitória, mesmo após 500 gerações. Mesmo os autores tendo avaliado apenas a resposta à cefotaxima, isto é um indício de que essa espécie não perde facilmente seus determinantes de resistência, mesmo quando a exposição ao antibiótico é removida.

Com relação à vancomicina, 66% das amostras apresentaram CMI= 4ug/mL e 12% apresentaram CMI= 8ug/mL, sendo que não houve alteração significativa entre os períodos antes e durante a pandemia. Esses valores são maiores do que o observado na literatura para amostras clínicas de *S. haemolyticus*. Na maioria dos artigos realizados nos últimos 10 anos no Brasil (Pinheiro et al., 2016; Dier-Pereira et al., 2021) e no mundo (Bathavatchalam et al., 2020; Mahonaran et al., 2021; Patil et al., 2024), mais de 85% das amostras apresentaram valores de CMI para vancomicina  $\leq$  2ug/mL. Há apenas um estudo no Brasil que relatou valores mais próximos aos nossos. Dier-Pereira e colaboradores (2021) indicaram que 55% amostras de *S. haemolyticus* isoladas de ICS em um hospital de Londrina, no Paraná, apresentavam CMI  $\geq$  4ug/mL. Em um estudo que realizou o

sequenciamento genético de uma cepa de *S. haemolyticus* com CMI= 8ug/mL, Dong e colaboradores (2023) determinaram que uso prolongado da vancomicina está associado ao desenvolvimento de mutações que culminam no fenótipo de resistência intermediária. Em nosso estudo, poucos pacientes (6,6%) haviam utilizado vancomicina, pois a maioria das amostras foi isolada ainda na primeira semana após a admissão do paciente. Porém, ao longo da internação, este antimicrobiano é amplamente utilizado em nossa unidade, principalmente devido às altas taxas de resistência a beta-lactâmicos. Os valores de CMI para vancomicina muito elevados encontrados aqui provavelmente refletem a utilização intensa desse antimicrobiano na UTIN.

Uma das amostras com CMI= 8ug/mL para vancomicina apresentou também resistência à linezolida. A linezolida é uma das poucas opções terapêuticas para o tratamento de *Staphylococcus* resistentes à metilina e à vancomicina (Porchera et al., 2024). Não há relatos na literatura de amostras de *S. haemolyticus* resistentes à linezolida isoladas de neonatos. Apesar deste antimicrobiano ser utilizado em algumas UTINs (Bagga et al., 2018; Matrat et al., 2020), não há histórico de uso em nossa unidade. No entanto, sabe-se que amostras resistentes podem existir esporadicamente e emergem rapidamente à medida que o uso do antimicrobiano é ampliado (Ikeda-Dantsuji et al., 2011). O isolamento de uma amostra com resistência intermediária à vancomicina e resistente à linezolida chama a atenção para a possibilidade de surtos.

Em nosso estudo, o SCC*mec V* foi encontrado em aproximadamente metade das amostras de *S. haemolyticus* e todas as demais apresentavam cassetes não tipáveis. Este dado é condizente com o que é verificado para amostras de *S. haemolyticus* no mundo. Estudos indicam que até 50% das amostras desta espécie carregam de fato o SCC*mec V*, enquanto a outra metade apresenta cassetes *mec* que não são tipáveis. A incapacidade de caracterizar esses elementos deve-se a deleções na estrutura do SCC*mec* ou ao fato de possuírem combinações de *ccr* e complexos *mec* atípicas (Szczyka et al., 2016; Hosseinkhani et al., 2018; Salgueiro et al., 2019; Ocloo et al., 2023). Mais uma vez, como verificamos em outras variáveis microbiológicas analisadas neste estudo, não houve alteração significativa no percentual de amostras tipo V ou não tipáveis após o estabelecimento da pandemia.

A diversidade genética das amostras foi analisada, utilizando a técnica de rep-PCR. Dentre as técnicas de tipagem baseadas em sequências genômicas repetidas, a determinação de perfil genotípico baseada no (GTG5) foi selecionada por já ter sido utilizada antes com sucesso para tipagem de amostras de *S. haemolyticus* (Svec et al., 2010; Martins-

Silva et al., 2023) e por ser mais prática e menos custosa que o PFGE. No entanto, sua capacidade de discriminar genótipos é menor e, por isso, utilizamos um corte de 90% como limite mínimo de similaridade entre os genótipos. Surpreendentemente, uma variabilidade muito baixa foi encontrada, com apenas 5 genótipos encontrados. Todas as técnicas comumente usadas para avaliar a epidemiologia molecular de *S. haemolyticus* costumam revelar uma grande variedade de perfis esporádicos e diversos clones com baixa similaridade entre si (Talebi et al., 2016; Chang et al., 2018; Noshak et al., 2023). No presente estudo, foi utilizada uma técnica de realização mais prática e menos custosa, porém menos discriminatória. Para isso, utilizamos um corte de 90% como limite mínimo de similaridade entre os genótipos. Dier-Pereira e colaboradores (2021) utilizaram a técnica de rep-PCR para caracterizar a epidemiologia molecular de *S. haemolyticus* isoladas de infecção de corrente sanguínea em um mesmo hospital em Londrina, no Paraná, e, utilizando um corte de 80% de similaridade, encontraram 31 genótipos entre 40 amostras. Aplicando o mesmo percentual de 90% de similaridade, os autores teriam identificado 37 genótipos. Nossos resultados, portanto, parecem indicar a circulação de poucos genótipos, que estão muito bem adaptados ao ambiente da unidade. Não houve emergência nem substituição durante a pandemia, mostrando que alterações nas rotinas de desinfecção e de circulação de pessoas não afetou a epidemiologia molecular local dos *S. haemolyticus*.

De todos os genótipos, houve um em especial (Genótipo A) que englobou 70,6% das amostras deste estudo. A prevalência desse genótipo foi praticamente a mesma tanto antes (71,4%) quando durante (69,7%) da pandemia. Esse dado vai de encontro aos demais achados microbiológicos, que indicam que o perfil de *S. haemolyticus* não foi alterado após a pandemia. A análise estatística demonstrou que a capacidade de fermentação do manitol e valores de CMI para vancomicina entre 4 e 8ug/ml foram significativamente mais encontradas entre as amostras do Genótipo A do que em outros genótipos. Como já discutido anteriormente, a metabolização do manitol torna as bactérias mais resistentes aos ácidos graxos da pele, o que é útil especialmente entre amostras que colonizam pacientes nascidos há poucos dias e que ainda possuem vestígios da vernix caseosa na pele. Da mesma forma, os valores elevados de CMI conferem às amostras deste genótipo a capacidade de persistir e se disseminar no ambiente da UTIN, marcado pelo amplo uso da vancomicina.

Nosso estudo avaliou uma UTIN do interior do estado do Rio de Janeiro em dois períodos, antes e durante a pandemia de COVID-19, nos quais o perfil clínico e demográfico foi similar. Nesses dois momentos do estudo, foi encontrada uma elevada prevalência de *S.*

*haemolyticus* multirresistentes, com reduzida susceptibilidade à vancomicina e características microbiológicas semelhantes. A análise genética demonstrou o predomínio e disseminação de um genótipo específico, significativamente menos sensível à vancomicina e com alta capacidade de metabolização do manitol. Esses dados reforçam outros estudos que vem mostrando a emergência de *S. haemolyticus* no contexto neonatal e demonstra a habilidade de genótipos específicos em se estabelecer na UTIN e permanecer ao longo do tempo, mesmo em um cenário de intensas mudanças, como ocorreu na pandemia.

## 7 CONCLUSÃO

---

- A frequência de pacientes colonizados por *S. haemolyticus* neste estudo foi de 70,1%, sendo que as internações motivadas por prematuridade foram significativamente mais frequentes entre os pacientes colonizados.

- A prevalência de colonização por *S. haemolyticus* antes da pandemia (72,4%) foi similar ao observado quanto durante o período pandêmico (67,3%).
- Nos dois períodos, a maioria dos pacientes era do sexo masculino, prematuros e fez uso de antimicrobianos, especialmente beta-lactâmicos. A única variação observada foi a redução no uso de ampicilina e da combinação ampicilina e gentamicina durante a pandemia.
- Todas as amostras de *S. haemolyticus* foram resistentes à meticilina e mais de 80% delas foram resistentes a eritromicina, gentamicina, ciprofloxacino, clindamicina e STX-TMP. Além disso, mais da metade das amostras apresentaram o mesmo perfil de susceptibilidade, com resistência simultânea a esses antimicrobianos. Não houve diferença no perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos entre os dois períodos.
- Valores de CMI para vancomicina  $\geq 4$  ug/mL foram encontrados em mais de 73,8% das amostras de *S. haemolyticus* no primeiro período e em 84,8% no segundo. Mais uma vez, essa variação não foi considerada significativa.
- Mais da metade das amostras de *S. haemolyticus* apresentou o SCC*mec* tipo V (52%) e as demais (48%) apresentaram cassetes não tipáveis (NT) que foram mais variados durante a pandemia.
- Uma baixa variabilidade genética foi encontrada, sendo detectados apenas cinco genótipos. Cerca de 70% das amostras pertenceram a um mesmo genótipo, que foi o predominante tanto antes quanto durante a pandemia. Este genótipo foi associado a altos valores de CMI para vancomicina e com maior capacidade de fermentar o manitol.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

Afeke I, Addo KK, Ayeh-Kumi PF, Lokpo SY, Adu-Aryee NA, Owusu E, et al. Antimicrobial profile of coagulase-negative *Staphylococcus* isolates from categories of individuals at a neonatal intensive care unit of a tertiary hospital, Ghana. *Pan Afr Med J*. 2023;44:92.

Ahmed S, Kawaguchiya M, Ghosh S, Urushibara N, Sato M, Morimoto S, et al. Drug resistance and molecular epidemiology of aerobic bacteria isolated from puerperal infections in Bangladesh. *Microb Drug Resist*. 2015;21(3):297–306. doi:10.1089/mdr.2014.0219.

Alahmadi TFH, Alahmadey ZZ, Organji SR, Elbanna K, Ahmad I, Abulreesh HH. First report of multi-drug resistant *Staphylococcus haemolyticus* in nosocomial infections in North Eastern Saudi Arabia. *J Pure Appl Microbiol*. 2021;15(2):725–34. Available from: <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.2.24>

Andrade-Oliveira AL, Rossi CC, Souza-Silva T, Giambiagi-Demarval M. *Staphylococcus nepalensis*, a commensal of the oral microbiota of domestic cats, is a reservoir of transferrable antimicrobial resistance. *Microbiology (Reading)*. 2020;166(8):727–34. doi:10.1099/mic.0.000940.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica no 04 de 2020 GVIMS-GGTES-ANVISA-ATUALIZADA.pdf — Português (Brasil) [Internet]. Brasília: ANVISA; 2020 [cited 2022 Oct 20]. Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/notas-tecnicas/2020/nota-tecnica-n-04-2020-gvims-ggtesanvisa-atualizada.pdf/view>

Araujo-Alves AV, Kraychete GB, Gilmore MS, Barros EM, Giambiagi-Demarval M. *shsA*: a novel orthologous of *sasX/sesI* virulence genes is detected in *Staphylococcus haemolyticus* Brazilian strains. *Infect Genet Evol*. 2022;97:105189. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105189>

Argemi X, Hansmann Y, Prola K, Prévost G. Coagulase-negative staphylococci pathogenomics. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5):1215.

Arthur M, Molinas C, Courvalin P. Evidência da incorporação *in vivo* de D-lactato nos precursores de peptidoglicano de enterococos resistentes à vancomicina. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993;37(8):1896–900. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.37.8.1896>

Bagga B, Buckingham S, Arnold S, Nesbitt A, Guimera D, Lee K. Increasing linezolid-resistant *Enterococcus* in a children's hospital. *Pediatr Infect Dis J*. 2018 Mar;37(3):242–4.

Baig S, Johannesen TB, Overballe-Petersen S, Larsen J, Larsen AR, Stegger M.

Novel SCCmec type XIII (9A) identified in an ST152 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(6):e00056-18. doi:10.1128/AAC.00056-18. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.00056-18>

Barros EM, Ceotto H, Bastos MC, dos Santos KR, Giambiagi-Demarval M. *Staphylococcus haemolyticus* as an important hospital pathogen and carrier of methicillin resistance genes. *J Clin Microbiol*. 2012;50(1):166–8.

Basso AP, Nascimento JS, da Costa MM, Sorbara MP, Bastos MC. Antibiotic resistance and enterotoxin genes in *Staphylococcus* sp. isolated from polluted water. *An Acad Bras Cienc*. 2014;86(1):333–40. Available from: <https://doi.org/10.1590/0001-37652014106612>

Bathavatchalam J, Xavier AS, Venkatesan M, Sundararajan M. Vancomycin therapeutic drug monitoring: a review of the current practice and recommendations for precision dosing. *J Clin Transl Res*. 2021;7(5):575–89. Available from: <https://doi.org/10.18053/jctres.07.202105.001>

Bathavatchalam YD, Solaimalai D, Amladi A, Dwarakanathan HT, Anandan S, Veeraraghavan B. Vancomycin heteroresistance in *Staphylococcus haemolyticus*: elusive phenotype. *Future Sci OA*. 2021 Apr 9;7(7):FSO710.

Batista MPB, Cavalcante FS, Alves Cassini ST, Pinto Schuenck R. Diversity of bacteria carrying antibiotic resistance genes in hospital raw sewage in Southeastern Brazil. *Water Sci Technol*. 2023;87(1):239–50. Available from: <https://doi.org/10.2166/wst.2022.427>

Been JV, Burgos Ochoa L, Bertens LCM, Schoenmakers S, Steegers EAP, Reiss IKM. Impact of COVID-19 mitigation measures on the incidence of preterm birth: a national quasi-experimental study. *Lancet Public Health*. 2020;5(11):e604–11.

Bizzarro MJ, Shabanova V, Baltimore RS, Dembry LM, Ehrenkranz RA, Gallagher PG. Sepsis in the Neonatal Intensive Care Unit. *Semin Perinatol*. 2015;39(1):19–28.

Björkqvist M, Liljedahl M, Zimmermann J, Schollin J, Söderquist B. Colonization pattern of coagulase-negative *Staphylococci* in preterm neonates and the relation to bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29(9):1085–93.

Bouchami O, Ben Hassen A, de Lencastre H, Miragaia M. High prevalence of mec complex C and ccrC is independent of SCCmec type V in *Staphylococcus haemolyticus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(4):605–14. doi:10.1007/s10096-011-1354-3

Bouchami O, de Lencastre H, Miragaia M. Impact of insertion sequences and recombination on the population structure of *Staphylococcus haemolyticus*. *PLoS One*. 2016;11(6):e0156653.

Bouchami O, Machado M, Carriço JA, Melo-Cristino J, de Lencastre H, Miragaia M. Spontaneous genomic variation as a survival strategy of nosocomial *Staphylococcus haemolyticus*. *Microbiol Spectr*. 2023 Mar 6;11(2):e0255222.

Braem G, De Vliegher S, Supré K, Haesebrouck F, Leroy F, De Vuyst L. (GTG)<sub>5</sub>-PCR fingerprinting for the classification and identification of coagulase-negative *Staphylococcus* species from bovine milk and teat apices: a comparison of type strains and field isolates. *Vet Microbiol.* 2011;147(1-2):67–74. doi:10.1016/j.vetmic.2010.05.044

Braga MP, Landim JT, Ribeiro SP, Thompson JN, Jordano P, Almeida-Neto M. Unifying host-associated diversification processes using butterfly-plant networks. *Nat Commun.* 2018;9(1):5155.

Brasil. Ministério da Saúde. Como se proteger? Confirma medidas não farmacológicas de prevenção e controle da pandemia do novo coronavírus [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; [data desconhecida]. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/como-se-proteger>. Accessed: 2022 Oct 20.

BrCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte, instruções e outros documentos [Internet]. BrCAST; [data desconhecida]. Available from: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Accessed: 2022 Oct 19.

Brugger J, Althaus CL. Transmission of and susceptibility to seasonal influenza in Switzerland from 2003 to 2015. *Epidemics.* 2020;30:100373.

Bryce AN, Doocey R, Handy R. *Staphylococcus haemolyticus* meningitis and bacteremia in an allogenic stem cell transplant patient. *IDCases.* 2021;26:e01259.

Brzychczy-Wloch M, Borszewska-Kornacka M, Gulczynska E, Wojkowska-Mach J, Sulik M, Grzebyk M, et al. Prevalence of antibiotic resistance in multi-drug resistant coagulase-negative staphylococci isolated from invasive infection in very low birth weight neonates in two Polish NICUs. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2013 Dec 20;12:41.

Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(3):143–55.

Cardoso LF, Scolese AM, Hamidaddin A, Gupta JA. A saúde materno-infantil no contexto da pandemia de COVID-19: evidências, recomendações e desafios. *Rev Bras Saúde Mater Infant.* 2021;21(Suppl 1):S221–8.

Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, McAdam AJ, Patel R, Richter SS, et al. *Manual of Clinical Microbiology.* Wiley; 2019.

Carvalho WB, Gibelli MABC, Krebs VLJ, Calil R, Nicolau CM. Atuação de uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal durante a Pandemia de COVID-19: recomendações da disciplina de neonatologia. *Rev Assoc Med Bras.* 2020;66(7):894–7.

Cason C, Boscaro F, Fasanaro AM, Auriemma L, Fasolato L, Buseti M, et al. Microbial contamination in hospital environment has the potential to colonize preterm newborns' nasal cavities. *Pathogens.* 2021;10(5):615.

Cavanagh JP, Klingenberg C, Hanssen AM, Ecklund I, Rødland MS, Sundsfjord A,

et al. Core genome conservation of *Staphylococcus haemolyticus* limits sequence based population structure analysis. *J Microbiol Methods*. 2012;89(3):159–66.

Chakraborty M, Bardhan T, Basu M, Bhattacharjee B. Influence of sub-inhibitory dosage of cefotaxime on multidrug resistant *Staphylococcus haemolyticus* isolated from sick neonatal care unit. *Antibiotics (Basel)*. 2022;11(3):360. Published 2022 Mar 8. doi:10.3390/antibiotics11030360

Chambers HF, DeLeo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(9):629–41. doi:10.1038/nrmicro2200

Chan BC, Ip M, Lau CB, Lui SL, Jolivalt C, Ganem-Elbaz C, et al. Combating against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*—dois ácidos graxos de *Portulaca oleracea* L. exibem efeitos sinérgicos com eritromicina. *Front Microbiol*. 2015;6:273. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00273>. Accessed: 2024 Feb 4.

Chang PH, Liu TP, Huang PY, Liao CH, Wang YL, Lai CC, et al. Clinical features, outcomes, and molecular characteristics of an outbreak of *Staphylococcus haemolyticus* infection, among a mass-burn casualty patient group, in a tertiary center in northern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018;51(6):847–55. doi:10.1016/j.jmii.2018.07.004

Chan KG, Ng KT, Chong TM, Yin WF, Tan JL. Antibiotic resistant and virulence determinants of *Staphylococcus haemolyticus* C10A as revealed by whole genome sequencing. *J Genomics*. 2015;3:72–4. doi:10.7150/jgen.12574

Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*. 2021;12(1):547–69.

Cheung GYC, Otto M. Understanding the significance of *Staphylococcus epidermidis* bacteremia in babies and children. *Curr Opin Infect Dis*. 2010;23(3):208–16.

Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, Aagaard KM. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat Med*. 2017;23(3):314–26.

Chuprom J, Kidsin K, Sangkanu S, Maneewan W, Mongkolthanasak W, Rujirawat T, et al. *Knema retusa* is antibacterial and antibiofilm against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* and *S. haemolyticus* isolated in bovine mastitis. *Vet Res Commun*. 2023;47(2):523–38. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09999-0>

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI; 2024. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>. Accessed: 2025 Feb 9.

Corey GR. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: definitions and treatment. *Clin Infect Dis*. 2009;48(Suppl 4):S254–9. doi:10.1086/598189

Couto N, Chlebowicz MA, Raangs EC, Friedrich AW, Rossen JW. Complete

genome sequences of two methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* isolates of multilocus sequence type 25, first detected by shotgun metagenomics. *Genome Announc.* 2018;6(14):e00036-18.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing - M100 [Internet]. Available from: [https://global.ihc.com/doc\\_detail.cfm?document\\_name=CLSI%20M100&item\\_s\\_k ey=00592954](https://global.ihc.com/doc_detail.cfm?document_name=CLSI%20M100&item_s_k ey=00592954). Accessed: 2022 Oct 19.

Curreli F, Victor SM, Ahmed S, Drelich A, Tong X, Pacheco B, et al. Stapled peptides based on human angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) potently inhibit SARS-CoV-2 infection in vitro. [Journal not specified]. 2020;11(6):13.

Czejak A, Pereira AMR, Costa MO, Martins J, Lima CR. *Staphylococcus aureus* e sua importância no âmbito das infecções hospitalares: revisão da literatura. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2015;27(3):276–82. Available from: <https://doi.org/10.5935/1679-4508.20150049>. Accessed: 2025 Feb 4.

David M, Reutter T. Fewer preterm births in the first COVID-19 pandemic year? An evaluation of the Berlin perinatal data for the years 2017 to 2020. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2023 Feb 3;83(2):184–91.

De Andrade CLT, Pereira CCA, Martins M, Lima SML, Portela MC. COVID-19 hospitalizations in Brazil's Unified Health System (SUS). *PLoS One.* 2020;15(12):e0243126. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243126>.

Decaleonne C, Dunyach-Remy C, Schuldiner S, et al. *Staphylococcal* species less frequently isolated from human clinical samples: phenotypic and genotypic characterization. *BMC Infect Dis.* 2020;20:949. doi:10.1186/s12879-020-4841-2.

Delauné A, Dubrang M, Peng Q, Ferrand A, Prévost N, Duigou F, et al. Repeated exposure of vancomycin to vancomycin-susceptible *Staphylococcus aureus* leads to the selection of vancomycin-intermediate resistant mutants. *J Microbiol.* 2012;50(6):927–35. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12275-012-2064-5>. Accessed: 2025 Feb 9.

De Mello Freitas FT, Viegas APB, Romero GAS. Neonatal healthcare-associated infections in Brazil: systematic review and meta-analysis. *Arch Public Health.* 2021;79(1):107.

Deurenberg RH, Stobberingh EE. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Mol Med.* 2009;9(2):100–15. doi:10.2174/156652409787581637.

Dier-Pereira AP, Trevizani Thihara IR, Duarte FC, da Silva RS, Santos JP, Tavares ER, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* displaying reduced susceptibility to vancomycin and high biofilm-forming ability. *Infect Disord Drug Targets.* 2021;21(7):e160921191517.

Dietzman DE, Fischer GW, Schoenknecht FD. Neonatal *Escherichia coli*

septicemia—bacterial counts in blood. *J Pediatr.* 1974;85:128–30. doi:10.1016/S0022-3476(74)80308-2

Dong W, Peng Q, Tang X, et al. Identification and characterization of a vancomycin intermediate-resistant *Staphylococcus haemolyticus* isolated from Guangzhou, China. *Infect Drug Resist.* 2023;16:3639–47.

Dong Y, Speer CP. Late-onset neonatal sepsis: recent developments. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2015;100(3):F257–63.

Dong Y, Speer CP. The role of *Staphylococcus epidermidis* in neonatal sepsis: guardian angel or pathogenic devil? *Int J Med Microbiol.* 2014;304(5–6):513–20.

Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(26):11971–5.

Dupin C, Cissé A, Lemoine V, Lecuit M, Rallu F, Quentin R, et al. Emergence and establishment of *Staphylococcus haemolyticus* ST29 in two Western France neonatal intensive care units. *J Hosp Infect.* 2025 Jan 17. doi:10.1016/j.jhin.2025.01.003.

Echeverría-Esnal D, Martín-Ontiyuelo C, Navarrete-Rouco ME, De-Antonio Cusco M, Ferrández O, Horcajada JP, et al. Azithromycin in the treatment of COVID-19: a review. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2021;19(2):147–63.

Elsaid M, Nasef MA, Huy NT. R0 of COVID-19 and its impact on vaccination coverage: compared with previous outbreaks. *Hum Vaccin Immunother.* 2021;17(11):3850–4.

Eltwisy HO, Samir R, Ali SS, Gohar MK, Mahmoud SF, Aboshanab KMA, et al. Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus* on primary human skin fibroblast cells. *Virulence.* 2020;11(1):1142–57.

Eltwisy HO, Aboshanab KMA, El-Mahallawy HS, Rizk DE, Ashour HM. Clinical infections, antibiotic resistance, and pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus*. *Microorganisms.* 2022;10(6):1130.

Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(11):7687–92. doi:10.1073/pnas.122108599.

Ertugrul S, Koksall N, Cekmez F, Canpolat FE, Aydemir G, Cetinkaya M. Risk factors for health care-associated bloodstream infections in a neonatal intensive care unit. *Iran J Pediatr.* 2016;26(5):e5213.

European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2024.

Evans NJ, Rutter N. Development of the epidermis in the newborn. *Biol Neonate.* 1986;49(2):74–80.

Fang P, Gao K, Yang J, Li T, Gong W, Sun Q, Wang Y. Prevalence of multidrug-resistant pathogens causing neonatal early and late onset sepsis: a retrospective study from the tertiary referral children's hospital. *Infect Drug Resist.* 2023 Jun 29;16:4213–25. doi:10.2147/IDR.S416020.

Fortaleza CMCB, Padoveze MC, Kiffer CRV, Barth AL, Ribeiro J, Polido J, et al. Multi-state survey of healthcare-associated infections in acute care hospitals in Brazil. *J Hosp Infect.* 2017;96(2):139–44.

Fuchs A, Bielicki J, Mathur S, Sharland M, Van Den Anker JN. Reviewing the WHO guidelines for antibiotic use for sepsis in neonates and children. *Paediatr Int Child Health.* 2018 Nov;38(sup1):S3–15.

Gammon J, Hunt J, Rutter P, Garside J, Kelly M, Wilson B, et al. Infection prevention control and organisational patient safety culture within hospital settings: a systematic review. *BMC Health Serv Res.* 2019;19:156.

Gao YD, Ding M, Dong X, Zhang JJ, Kursat Azkur A, Azkur D, et al. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: a review. *Allergy.* 2021;76(2):428–55.

García-Álvarez L, Holden MTG, Lindsay H, Webb CR, Brown DFJ, Curran MD, et al. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2011;11(8):595–603.

Gardete S, Tomasz A. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* 2014;124(7):2836–40. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI68834>. Accessed: 2025 Feb 9.

Garrod LP, editor. Antibiotics in Medicine. *Br Med Bull.* 1960;16(1):xvii+88.

Gautam B, Ghimire P, Pokhrel BM. Changing epidemiology of coagulase-negative staphylococci in normal flora of skin. *Indian J Med Microbiol.* 2017;35(1):77–9.

GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet.* 2022;400(10369):618–31.

Giormezis N, Kolonitsiou F, Foka A, Papadimitriou-Olivgeris M, Drougka E, Koukos G, et al. Coagulase-negative staphylococcal bloodstream and prosthetic-device-associated infections: the role of biofilm formation and distribution of adhesin and toxin genes. *J Med Microbiol.* 2014;63(Pt 11):1500–8.

Golińska E, Koziem Ł, Tomusiak-Plebanek A, Kosecka-Strojek M, Kasproicz A, Stępień-Pyśniak D, et al. Epidemiology of neonatal sepsis in two neonatal intensive care units in Krakow, Poland in 2016–2017 years. *BMC Infect Dis.* 2023;23(1):827. doi:10.1186/s12879-023-08836-2.

Guerra FM, Bolotin S, Lim G, Heffernan J, Deeks SL, Li Y, et al. The basic reproduction number (R0) of measles: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(12):e420–8.

Hackbarth CJ, Chambers HF. blaI and blaR1 regulate  $\beta$ -lactamase and PBP 2a

production in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993;37(5):1144–9. doi:10.1128/AAC.37.5.1144.

Hamdy RF, Bhattarai S, Basu SK, Hay WW Jr, McCulloh R. Reducing vancomycin use in a Level IV NICU. *Pediatrics*. 2020;146(2):e20192963. Available from: <https://doi.org/10.1542/peds.2019-2963>.

Harbeson D, Ben-Othman R, Amenyogbe N, Kollmann TR. Outgrowing the immaturity myth: the cost of defending from neonatal infectious disease. *Front Immunol*. 2018;9:1077.

Harvey EM, McNeer E, McDonald MF, Peterson CE, Paria AS, Wright DL, et al. Association of preterm birth rate with COVID-19 statewide stay-at-home orders in Tennessee. *JAMA Pediatr*. 2021;175(6):635–7. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2020.6512>.

Haynes AS, Maples H, Parker S. Time for a change: considering vancomycin alternatives for pediatric methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2023;12(5):308–18. Available from: <https://doi.org/10.1093/jpids/piad032>. Accessed: 2025 Feb 9.

Hedermann G, Hedley PL, Bækvad-Hansen M, Hjalgrim H, Rostgaard K, Poorisrisak P, et al. Danish premature birth rates during the COVID-19 lockdown. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2021;106(1):93–5. Available from: <https://doi.org/10.1136/archdischild-2020-319990>.

Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*. 1997;40(1):135–6. Available from: <https://doi.org/10.1093/jac/40.1.135>. Accessed: 2025 Feb 9.

Holmes CL, Albin OR, Mobley HLT, Bachman MA. Bloodstream infections: mechanisms of pathogenesis and opportunities for intervention. *Nat Rev Microbiol*. 2025 Apr;23(4):210–24.

Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008;36(5):309–32.

Hosseinkhani F, Tammes Buirs M, Jabalameli F, Emaneini M, van Leeuwen WB. High diversity in SCCmec elements among multidrug-resistant *Staphylococcus haemolyticus* strains originating from paediatric patients; characterization of a new composite island. *J Med Microbiol*. 2018 Jul;67(7):915–21.

Howden BP, Peleg AY, Stinear TP. The evolution of vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous-VISA. *Infect Genet Evol*. 2014;21:575–82. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.03.047>. Accessed: 2025 Feb 9.

Hsieh PH, Lin CW, Wu CJ, Liao CH, Wu JJ. Oxacillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* as the most prevalent coagulase-negative staphylococci associated with bacteremia in neonates. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;80(3):218–23. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2014.01.010.

Huang C, Huang L, Wang Y, Li X, Ren L, Gu X, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet*. 2021;397(10270):220–32.

Huncikova Z, Stensvold HJ, Øymar KAA, Vatne A, Lang AM, Støen R, et al. Variation in antibiotic consumption in very preterm infants—a 10 year population-based study. *J Antimicrob Chemother*. 2024 Jan 3;79(1):143–50.

Hu Q, Cheng H, Yuan W, Zhu Y, Deng J, Hu Z, et al. Molecular events for promotion of vancomycin resistance in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol*. 2016;7:1601. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01601>. Accessed: 2025 Feb 9.

Huseby M, Brown CK, Digre J, Mengistu F, Seo KS, Iandolo JJ. Structure and biological activities of beta toxin from *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*. 2007;189(24):8716–23. Available from: <https://doi.org/10.1128/JB.00741-07>. Accessed: 2025 Feb 5.

Hygienes. En direct du Centre National de Référence (CNR) des Staphylocoques. Available from: <https://www.hygienes.net/actualite/en-direct/en-direct-du-centre-national-de-reference-cnr-des-staphylocoques>. Accessed: 2025 Feb 6.

Ikeda-Dantsuji Y, Hanaki H, Nakae T, Takesue Y, Tomono K, Honda J, et al. Emergence of linezolid-resistant mutants in a susceptible-cell population of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 May;55(5):2466–8.

International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(12):4961–7. doi:10.1128/AAC.00579-09.

Iwase T, Uehara Y, Shinji H, Tajima A, Seo H, Takada K, et al. *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature*. 2010;465(7296):346–9.

Jamieson DJ, Rasmussen SA. An update on COVID-19 and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2022;226(2):177–86. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.08.054>.

Jefferies AL. Management of term infants at increased risk for early-onset bacterial sepsis. *Paediatr Child Health*. 2017 Jul;22(4):223–8.

Joglekar G, Chiu L, Rynearson K, Deering R, Lee A, Dabdoub S, et al. Integrated genomic and functional analyses of human skin-associated *Staphylococcus* reveals extensive inter- and intra-species diversity. *mBio*. 2023;14(1):e02820-22. Available from: <https://doi.org/10.1128/mbio.02820-22>. Accessed: 2025 Feb 4.

Kalbermatter C, Breuille D, Lavelle EC, Ganai-Vonarburg SC, Macpherson AJ. Maternal microbiota, early life colonization and breast milk drive immune development in the newborn. *Front Immunol*. 2021;12:683022.

Karami H, Sadeghi K, Zadheidar S, Saadatmand F, Mirsalehi N, Ardestani NH, et

al. Surveillance of endemic coronaviruses during the COVID-19 pandemic in Iran, 2021–2022. *Influenza Other Respir Viruses*. 2023 Mar 24;17(3):e13128.

Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(6):1549–55. doi:10.1128/AAC.44.6.1549-1555.2000.

Keim LS, Torres-Filho SR, Silva PV, Teixeira LA. Prevalence, aetiology and antibiotic resistance profiles of coagulase negative staphylococci isolated in a teaching hospital. *Braz J Microbiol*. 2011 Jan;42(1):248–55.

Kenny JG, Moran J, Kolar SL, Ulanov A, Li Z, Shaw LN, et al. Mannitol utilisation is required for protection of *Staphylococcus aureus* from human skin antimicrobial fatty acids. *PLoS One*. 2013 Jul 4;8(7):e67698.

Kilpper-Bälz R, Schleifer KH. Transfer of *Peptococcus saccharolyticus* Foubert and Douglas to the genus *Staphylococcus*: *Staphylococcus saccharolyticus* (Foubert and Douglas) comb. nov. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [Orig C]*. 1981;2(4):324–31.

Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2025 update. *Nucleic Acids Res*. 2025;53(D1):D1516–25. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1059>. Accessed: 2025 Feb 9.

Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 1994;7(1):117–40.

Kloos WE, Schleifer KH. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *J Clin Microbiol*. 1975;1(1):82–8. Available from: <https://doi.org/10.1128/jcm.1.1.82-88.1975>. Accessed: 2024 Feb 4.

Kloos WE, Schleifer KH, Smith RF. Characterization of *Staphylococcus sciuri* sp. nov. and its subspecies. *Int J Syst Bacteriol*. 1976;26(1):22–37. doi:10.1099/00207713-26-1-22.

Koh KS, Lee SY, Kim JY, Cho HJ, Lee H, Shin JG, et al. Vancomycin pharmacokinetics throughout life: results from a pooled population analysis. *Clin Pharmacokinet*. 2016;55(7):767–76. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40262-016-0367-5>. Accessed: 2025 Feb 9.

Kung YH, Hsieh YF, Weng YH, Lien RI, Luo J, Wang Y, et al. Risk factors of late-onset neonatal sepsis in Taiwan: a matched case-control study. *J Microbiol Immunol Infect*. 2016;49(3):430–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.10.001>.

Kutlubay Z, Tanakol A, Engin B, Onel C, Simsek E, Serdaroglu S, et al. Newborn skin: common skin problems. *Maedica (Bucur)*. 2017 Jan;12(1):42–7.

Lai CC, Chen SY, Ko WC, Hsueh PR. Increased antimicrobial resistance during the COVID-19 pandemic. *Int J Antimicrob Agents*. 2021;57(4):106324.

Lai S, Ruktanonchai NW, Zhou L, Prosper O, Luo W, Floyd JR, et al. Assessing spread risk of Wuhan novel coronavirus within and beyond China, January–April

2020: a travel network-based modelling study. medRxiv. 2020 Mar 9:2020.02.04.20020479.

Langford BJ, So M, Raybardhan S, Leung V, Westwood D, MacFadden DR, et al. Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2021;27(4):520–31.

Lee BV, Dulhaney MM, Cho SK, Brown J, Kays MB, Kane-Gill SL, Smithburger PL. Análise de custo-benefício comparando dosagem baseada em concentração no vale, AUC de dois níveis e AUC Bayesiana para vancomicina. Clin Microbiol Infect. 2019;25(10):1286.e1–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.04.027>. Accessed: 2025 Feb 9.

Lee DC, Gong W, Chan GJ, Liu J, Rose DA, Lee HC, et al. Bacterial colonization of the hospitalized newborn: competition between *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Pediatr Infect Dis J. 2019;38(7):682–6.

Leroy F, Van Coillie E, Braem G, Heylen D, Van Weyenberg S, De Vliegher S. Short communication: Subtyping of *Staphylococcus haemolyticus* isolates from milk and corresponding teat apices to verify the potential teat-skin origin of intramammary infections in dairy cows. J Dairy Sci. 2015;98(11):7893–8. doi:10.3168/jds.2015-9415.

Li G, Walker MJ, De Oliveira DMP. Vancomycin resistance in *Enterococcus* and *Staphylococcus aureus*. Microorganisms. 2022;11(1):24. Available from: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010024>. Accessed: 2025 Feb 9.

Lin LC, Chen YS, Lin TY, Hsueh PR, Lu PL. Characterization of new *Staphylococcus haemolyticus* ST42 populations in Northern Taiwan. Microb Drug Resist. 2022;28(1):56–62.

Li S, Du L, Wang Y, Lu Y, Liu Q, Wang C, et al. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in neonates on admission to a Chinese neonatal intensive care unit. PLoS One. 2019;14(2):e0211845. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211845>.

Li T, Hu J, Xu B, Xu T, Ren J, Wang G, et al. Underrated *Staphylococcus* species and their role in antimicrobial resistance spreading. Genet Mol Biol. 2020;43(Suppl 2):e20190065. Available from: <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0065>. [Accessed: insert actual access date].

Liu Q, Xu K, Wang X, Wang W. From SARS to COVID-19: What lessons have we learned? J Infect Public Health. 2020;13(11):1611–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.08.001>.

Liu Y, Santos FP, Almeida LRM, et al. A incidência da *Staphylococcus aureus* em hospitais: revisão de obra. Rev Bras Ter Intensiva. 2024;36(1):45–52.

Li W, Jie L, Yu R, Jin Q, Jiang S, Yin Q, et al. Branched-chain fatty acids in the vernix caseosa and meconium of infants born at different gestational ages. Food Sci Nutr. 2021 May 6;9(7):3549–55.

Parte AC. LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature.

Available from: <https://www.bacterio.net/>. Accessed: 2022 Oct 20.

Luan J, Lu Y, Jin X, Zhang L, Wang Y, Zhang L. SARS-CoV-2 spike protein favors ACE2 from Bovidae and Cricetidae. *J Med Virol*. 2020;92(9):1649–56.

Madhaiyan M, Wirth JS, Saravanan VS. Phylogenomic analyses of the *Staphylococcaceae* family suggest the reclassification of five species within the genus *Staphylococcus* as heterotypic synonyms, the promotion of five subspecies to novel species, the taxonomic reassignment of five *Staphylococcus* species to *Mammaliicoccus* gen. nov., and the formal assignment of *Nosocomiicoccus* to the family *Staphylococcaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020;70(11):5926–36. doi:10.1099/ijsem.0.004498.

Maeda Y, Nakamura M, Ninomiya H, Ogawa K, Sago H, Miyawaki A. Trends in intensive neonatal care during the COVID-19 outbreak in Japan. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2021;106(3):327–9. Available from: <https://doi.org/10.1136/archdischild-2020-320521>.

Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med*. 2014;370(13):1198–208.

Magnan C, Lemoine J, Debray FX, Bosc V, Karam G, Jacquot A, et al. Emergence of multidrug-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in neonatal intensive care unit in Southern France, a genomic study. *Emerg Microbes Infect*. 2024;13(1):2353291.

Manoharan M, Sistla S, Ray P. Prevalence and molecular determinants of antimicrobial resistance in clinical isolates of *Staphylococcus haemolyticus* from India. *Microb Drug Resist*. 2021 Apr;27(4):501–8.

Martins-Filho PR, Santos VS, Souza TML, Oliveira CR, Lima CA, Barreto IDC, et al. Vigilância de eventos adversos associados a 145.000 doses de vacinas contra a COVID-19 em Aracaju, Brasil. *Rev Panam Salud Publica*. 2023;46:e90. Available from: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/56252>. Accessed: 2025 Feb 9.

Martins-Silva P, Dias CP, Vilar LC, de Queiroz Silva S, Rossi CC, Giambiagi-deMarval M. Dispersion and persistence of antimicrobial resistance genes among *Staphylococcus* spp. and *Mammaliicoccus* spp. isolated along a swine manure treatment plant. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2023;30(12):34709–19. doi:10.1007/s11356-022-24725-8.

Martins Simões P, Van Der Mee-Marquet N, Youenou B, Kearns A, Canard I, Pons JL, et al. Epidemiology of *Staphylococcus haemolyticus* nosocomial bacteraemia in neonatal intensive care units, France, 2019 to 2023: predominance of the ST29 (CC3) multidrug-resistant lineage. *Euro Surveill*. 2025;30(11):2400309. Available from: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2025.30.11.2400309>.

Matrat L, Plaisant F, Barreto C, Claris O, Butin M. Increasing use of linezolid in a tertiary NICU during a 10-year period: reasons and concerns for the future. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2020 Sep 23;9(1):156.

Matsuo M, Hishinuma T, Katayama Y, Cui L, Kapi M, Hiramatsu K. Mutation of RNA polymerase beta subunit (*rpoB*) promotes hVISA-to-VISA phenotypic conversion of

strain Mu3. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(9):4188–95.

McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. *J Clin Microbiol.* 2003;41(11):5113–20.

McGovern A, Wright H, Levy I, Ramirez J, Keller MJ, Dubberke ER, et al. SER-109, an investigational microbiome drug to reduce recurrence after *Clostridioides difficile* infection. *Clin Infect Dis.* 2020;72(12):2141–9.

McGuinness WA, Malachowski AN, Waters EM, Kotowski IK, Hatzios SK, Palmer KL, et al. Alternativas terapêuticas no tratamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina: foco em infecções pulmonares. *J Clin Lab Sci.* 2017;7(2):123–30. Available from: <https://ojs.revistacontribuciones.com/ojs/index.php/clcs/article/download/14099/8211/40585>. Accessed: 2025 Feb 9.

Meehl M, Herbert S, Grollmus S, Götz F. Interaction of the GraRS two-component system with the VraFG ABC transporter to support vancomycin-intermediate resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(8):2679–89. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.00249-07>. Accessed: 2025 Feb 9.

Mello-Freitas J, Oliveira L, Silva R, et al. Infecções neonatais associadas à assistência à saúde no Brasil: revisão sistemática. *Arq Bras Cardiol.* 2021;117(6):1021–9. Available from: <https://archpublichealth.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s13690-021-00611-6.pdf>. Accessed: 2025 Feb 4.

Menezes RP, Melo SGO, Oliveira MB, et al. Healthcare-associated infections in high-risk neonates: temporal trends in a national surveillance system. *Early Hum Dev.* 2021;158:105394. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2021.105394>.

Michels R, Last K, Becker SL, Papan C. Update on coagulase-negative staphylococci—what the clinician should know. *Microorganisms.* 2021;9(4):830. doi:10.3390/microorganisms9040830.

Miragaia M. Factors contributing to the evolution of mecA-mediated  $\beta$ -lactam resistance in staphylococci: update and new insights from whole genome sequencing (WGS). *Front Microbiol.* 2018;9:2723. doi:10.3389/fmicb.2018.02723.

Miragaia M, Thomas JC, Couto I, Enright MC, de Lencastre H. Population structure of *Staphylococcus epidermidis* based on multilocus sequence typing and analysis of mec element diversity. *J Bacteriol.* 2007;189(6):2540–52.

Moradi S, Najafpour Z, Cheraghian B, Keliddar I, Mombeyni R. The extra length of stay, costs, and mortality associated with healthcare-associated infections: a case-control study. *Health Sci Rep.* 2024;7(11):e70168. Available from: <https://doi.org/10.1002/hsr2.70168>.

Morgado S, Freitas F, Caldart R, Fonseca E, Vicente AC. In-silico genomic characterization of *Staphylococcus haemolyticus* on a global scale: lineages, resistome, and virulome. *J Infect Public Health*. 2024;17(1):18–24.

Moyo SJ, Manyama F, Malek FA, Matee MI, Mshana SE. Molecular characterizations of the coagulase-negative staphylococci species causing urinary tract infection in Tanzania: a laboratory-based cross-sectional study. *Pathogens*. 2023;12(2):180.

Murray PD, Swanson JR. Visitation restrictions: is it right and how do we support families in the NICU during COVID-19? *J Perinatol*. 2020;40(10):1576–81.

Nagarajan R. Atividades antibacterianas e modos de ação da vancomicina e glicopeptídeos relacionados. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991;35(4):605–9. Available from: <https://doi.org/10.1128/aac.35.4.605>. Accessed: 2025 Feb 9.

Nguyen T, Kim T, Ta HM, Yeo WS, Choi J, Mizar P, et al. Targeting mannitol metabolism as an alternative antimicrobial strategy based on the structure-function study of mannitol-1-phosphate dehydrogenase in *Staphylococcus aureus*. *mBio*. 2019 Jul 9;10(4):e02660-18.

Nori P, Cowman K, Chen V, Bartash R, Szymczak W, Madaline T, et al. Bacterial and fungal coinfections in COVID-19 patients hospitalized during the New York City pandemic surge. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2021;42(1):84–8.

Noshak MA, Ahangarzadeh Rezaee M, Hasani A, et al. Molecular detection and characterization of the *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus* isolated from hospitalized patients and healthcare workers in Iran. *Biomed Res Int*. 2023;2023:3775142. doi:10.1155/2023/3775142.

Novick RP, Geisinger E. Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. *J Bacteriol*. 2007;189(23):8746–50. Available from: <https://doi.org/10.1128/JB.00784-07>. Accessed: 2025 Feb 5.

Ocloo R, Newton-Foot M, Ziebuhr W, Whitelaw AC. Molecular epidemiology and antibiotic resistance of staphylococci other than *Staphylococcus aureus* in children in Cape Town, South Africa. *Front Microbiol*. 2023 Aug 2;14:1239666.

Opere-Asamoah K, Vicar EK, Acquah SE, Quaye L, Alhassan AM, Majeed SF, et al. Bacteriological profile and antibiotic susceptibility patterns of sepsis-causing bacteria at the neonatal intensive care unit of a tertiary health care facility in Ghana. *Microbiol Insights*. 2023 Dec 11;16:11786361231218169.

Osme SF, Farias RN, Paiva EF, et al. Costs of healthcare-associated infections to the Brazilian public Unified Health System in a tertiary-care teaching hospital: a matched case-control study. *J Hosp Infect*. 2020;106(2):303–10.

Otto M. Staphylococcal biofilms. *Microbiol Spectr*. 2018;6(4):eGPP3-0023-2018.

Pakzad R, Malekifar P, Shateri Z, Zandi M, Akhavan Rezayat S, Soleymani M, et al. Worldwide prevalence of microbial agents' coinfection among COVID-19 patients: A comprehensive updated systematic review and meta-analysis. *J Clin Lab Anal*. 2022 Jan;36(1):e24151.

Pammi M, Weisman LE. Late-onset sepsis in preterm infants: update on strategies for therapy and prevention. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2015;13(4):487–504.

Panda S, Ray R, Thakuria B, et al. Identification of novel sequence types among *Staphylococcus haemolyticus* isolated from variety of infections in India. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166193.

Patil G, Agarwala P, Das P, Pathak S. Rise in the pathogenic status of coagulase-negative staphylococci causing bloodstream infection. *Cureus*. 2024;16(3):e57250. doi:10.7759/cureus.57250.

Pereira PMA, Teixeira LM, Siqueira I, et al. *Staphylococcus haemolyticus* disseminated among neonates with bacteremia in a neonatal intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;78(1):85–92.

Pereira PM, Binatti VB, Sued BP, Ramos JN, Peixoto RS, Simões C, et al. *Staphylococcus haemolyticus* disseminated among neonates with bacteremia in a neonatal intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014 Jan;78(1):85–92.

Pereira VC, Cunha Mde L. Coagulase-negative staphylococci strains resistant to oxacillin isolated from neonatal blood cultures. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013 Nov;108(7):939–42.

Pérez-Losada M, Browne EB, Madsen A, Wirth T, Viscidi RP, Crandall KA. Population genetics of microbial pathogens estimated from multilocus sequence typing (MLST) data. *Infect Genet Evol*. 2006;6(2):97–112. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2005.02.003>.

Peterson JM, White K, Muehling E, Ebert SC, Lambi L, Thieman C, et al. Trends in antibiotic use before and during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic across an integrated health system with different antimicrobial stewardship program models. *Antimicrob Steward Healthc Epidemiol*. 2022 Apr 8;2(1):e55.

Phumthanakorn N, Prapasarakul N, Yindee J, Gronsang D. Mupirocin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from canine and feline clinical samples. *Vet Res Commun*. 2023;47(1):73–86. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09947-2>. Accessed: 2025 Feb 5.

Pinheiro L, Brito CI, Oliveira A, Pereira VC, Cunha ML. *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus*: detection of biofilm genes and biofilm formation in blood culture isolates from patients in a Brazilian teaching hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016 Sep;86(1):11–4.

Pinheiro L, Brito CI, Pereira VC, et al. *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus*: molecular detection of cytotoxin and enterotoxin genes. *Toxins (Basel)*. 2015;7(9):3688–99.

Porchera BR, da Silva CM, Miranda RP, Gomes ARQ, Fernandes PHDS, de Menezes CGO, et al. Linezolid and vancomycin for nosocomial infections in pediatric patients: a systematic review. *J Pediatr (Rio J)*. 2024 May-

Jun;100(3):242–9.

Posfay-Barbe KM, Zerr DM, Pittet D. Infection control in paediatrics. *Lancet Infect Dis.* 2008;8(1):19–31.

Pouly E, Biguenet A, Cholley P, Hoquet D, Bertrand X. Outbreak of multidrug-resistant *Staphylococcus haemolyticus* ST29 in a French neonatal unit. *J Hosp Infect.* 2025;156:17–20. doi:10.1016/j.jhin.2024.11.017.

Procianoy RS, Silveira RC. The challenges of neonatal sepsis management. *J Pediatr (Rio J).* 2020;96(Suppl 1):80–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2019.10.004>.

Prusakov P, Goff DA, Wozniak PS, Cassim A, Scipion CEA, Urzúa S, et al. A global point prevalence survey of antimicrobial use in neonatal intensive care units: The NO-MAS-R study. *EClinicalMedicine.* 2021 Jan 29;32:100727.

Puspita M, Wasito EB, Alimsardjono L. Association of blood isolate's multi antibiotic resistance-index on laboratory-confirmed bloodstream infection: a cross-sectional study. *Ann Med Surg (Lond).* 2021;72:103086. doi:10.1016/j.amsu.2021.103086.

Qin M, Li P, Zhou Y, et al. The emergence of a multidrug-resistant and pathogenic ST42 lineage of *Staphylococcus haemolyticus* from a hospital in China. *Microbiol Spectr.* 2022;10(3):e0234221.

Rampadarath S, Puchooa D, Bal S. Repetitive element palindromic PCR (rep-PCR) as a genetic tool to study interspecific diversity in Euphorbiaceae family. *Electron J Biotechnol.* 2015;18(6):412–7. doi:10.1016/j.ejbt.2015.09.002.

Rand DG, Kraft-Todd G, Yoeli E. Cooperation, fast and slow: meta-analytic evidence for social heuristics and self-interested deliberation. *Psychol Sci.* 2016;27(11):1192–206.

Rangelova V, Nikolova M, Alexandrova A, et al. Surveillance of nosocomial infections in a Bulgarian neonatal intensive care unit. *Folia Med (Plovdiv).* 2020;62(4):753–61.

Rao SN, Rhodes NJ, Lee BJ, et al. Treatment outcomes with cefazolin versus oxacillin for deep-seated methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(9):5232–8. doi:10.1128/AAC.00510-15.

Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, et al. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: a rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. *Clin Infect Dis.* 2020;71(9):2459–68.

Rolo J, de Lencastre H, Miragaia M. Strategies of adaptation of *Staphylococcus epidermidis* to hospital and community: amplification and diversification of SCCmec. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(6):1333–41. doi:10.1093/jac/dks068.

Rossi CC, Ferreira NC, Coelho ML, et al. Transfer of mupirocin resistance from *Staphylococcus haemolyticus* clinical strains to *Staphylococcus aureus* through conjugative and mobilizable plasmids. *FEMS Microbiol Lett.* 2016;363(14).

Rusic D, Vilovic M, Bukic J, Leskur D, Seselja Perisin A, Kumric M, et al. Implications of COVID-19 pandemic on the emergence of antimicrobial resistance: adjusting the response to future outbreaks. *Life (Basel)*. 2021 Mar 10;11(3):220.

Ruzauskas M, Couto N, Siugzdiniene R, et al. Prevalence, species distribution, and antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus* in Lithuanian pet animals. *Acta Vet Scand*. 2015;57:27. Available from: <https://europepmc.org/article/MED/26032539>. Accessed: 2025 Feb 5.

Rybak MJ, Le J, Lodise TP, et al. Monitorização terapêutica da vancomicina para infecções graves por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina: uma diretriz de consenso revisada e revisão pela American Society of Health-System Pharmacists, Infectious Diseases Society of America, Pediatric Infectious Diseases Society e Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Am J Health Syst Pharm*. 2020;77(11):835–64. Available from: <https://academic.oup.com/ajhp/article/77/11/835/5810200>. Accessed: 2025 Feb 9.

Salgueiro VC, Pinto TD, Carvalho T, et al. High rate of neonates colonized by methicillin-resistant *Staphylococcus* species in an Intensive Care Unit. *J Infect Dev Ctries*. 2019;13(9):810–6.

Sands K, Carvalho MJ, Spiller OB, et al. Characterisation of *Staphylococci* species from neonatal blood cultures in low- and middle-income countries. *BMC Infect Dis*. 2022;22(1):593. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07541-w>.

Scamardo MS, Zoppi G, Castagnola E, et al. Trends, risk factors and outcomes of healthcare-associated infections in a neonatal intensive care unit in Italy during 2013–2017. *Ital J Pediatr*. 2020;46(1):34.

Scharschmidt TC, Fischbach MA. What lives on our skin: ecology, genomics and therapeutic opportunities of the skin microbiome. *Drug Discov Today Dis Mech*. 2013;10(3-4):e83–9.

Schoch JJ, Younge NE, Ayers T, et al. The infantile cutaneous microbiome: a review. *Pediatr Dermatol*. 2019;36(5):574–80.

Severn CE, Ahmad B, Cech NB, et al. Inhibition of interspecies quorum sensing in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* by cyclic autoinducing peptides from *Staphylococcus hominis*. *mBio*. 2019;10(5):e01320-19. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.01320-19>. Accessed: 2025 Feb 4.

Severn MM, Williams MR, Shahbandi A, et al. The ubiquitous human skin commensal *Staphylococcus hominis* protects against opportunistic pathogens. *mBio*. 2022;13(3):e00930-22. Available from: <https://doi.org/10.1128/mbio.00930-22>. Accessed: [insira a data de acesso].

Shalish W, Lakshminrusimha S, Manzoni P, et al. COVID-19 and neonatal respiratory care: current evidence and practical approach. *Am J Perinatol*. 2020;37(8):780–91.

Shin JI, Ha JH, Kim KM, et al. A novel repeat sequence-based PCR (rep-PCR) using

specific repeat sequences of *Mycobacterium intracellulare* as a DNA fingerprinting. *Front Microbiol.* 2023;14:1161194. doi:10.3389/fmicb.2023.1161194.

Sigudu TT, Oguttu JW, Qekwana DN. Prevalence of *Staphylococcus* spp. from human specimens submitted to diagnostic laboratories in South Africa, 2012–2017. *S Afr J Infect Dis.* 2023;38(1):477.

Silva-de-Jesus C, Rossi CC, Pereira-Ribeiro PM, Guaraldi AL, Giambiagi-Demarval M. Unusual carriage of virulence genes *sasX/sesI/shsA* by nosocomial *Staphylococcus haemolyticus* from Brazil. *Future Microbiol.* 2023;18:407–14.

Silva TSM, Ferreira LB, Pacheco FJ, et al. Disseminação da resistência aos antimicrobianos no contexto de saúde única: uma breve revisão. *Rev Bras Anál Clin.* 2022;54(1):1–7.

Singhal R, Dhawan B, Mohanty S, et al. Species distribution & antimicrobial susceptibility of coagulase negative *Staphylococci* in a tertiary care hospital. *Indian J Med Res.* 2006;123(4):569–70.

Soeorg H, Metsvaht H, Naaber P, et al. Mother's own breast milk is a source of *mecA*-positive *Staphylococcus epidermidis* colonizing preterm neonates' gut. In: *European Society for Paediatric Infectious Diseases (ESPID) 2017 Conference*; 2017.

Soeorg H, Metsvaht H, Naaber P, et al. Molecular epidemiology of *Staphylococcus epidermidis* in neonatal intensive care units. *APMIS.* 2017;125(1):63–73.

Soeorg H, Metsvaht H, Keränen EE, et al. Genetic relatedness of *Staphylococcus haemolyticus* in gut and skin of preterm neonates and breast milk of their mothers. *Pediatr Infect Dis J.* 2019;38(3):308–13. doi:10.1097/INF.0000000000002056.

Stark A, Smith PB, Hornik CP, Zimmerman KO, Hornik CD, Pradeep S, et al. Medication use in the neonatal intensive care unit and changes from 2010 to 2018. *J Pediatr.* 2022 Jan;240:66–71.e4.

Suetens C, Latour K, Kärki T, et al.; Healthcare-Associated Infections Prevalence Study Group. Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Euro Surveill.* 2018;23(46):1800516. Available from: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.46.1800516>.

Sultana J, Cutroneo P, Crisafulli S, et al. Azithromycin in COVID-19 patients: pharmacological mechanism, clinical evidence and prescribing guidelines. *Drug Saf.* 2020;43(8):691–8.

Svec P, Pantůček R, Petráš P, Sedláček I, Nováková D. Identification of *Staphylococcus* spp. using (GTG)<sub>5</sub>-PCR fingerprinting. *Syst Appl Microbiol.* 2010;33(8):451–6. doi:10.1016/j.syapm.2010.09.004.

Szczuka E, Krajewska M, Lijewska D, Bosacka K, Kaznowski A. Diversity of staphylococcal cassette chromosome *mec* elements in nosocomial multiresistant *Staphylococcus haemolyticus* isolates. *J Appl Genet.* 2016 Nov;57(4):543–7.

Takeuchi F, Watanabe S, Baba T, Yuzawa H, Ito T, Morimoto Y, et al. Whole-genome sequencing of *Staphylococcus haemolyticus* uncovers the extreme plasticity of its genome and the evolution of human-colonizing staphylococcal species. *J Bacteriol.* 2005 Nov;187(21):7292–308.

Ta LDH, Yap GC, Tay CJX, et al. Establishment of the nasal microbiota in the first 18 months of life: correlation with early onset rhinitis and wheezing. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;142(1):86–95.

Talebi M, Shafiee M, Sadeghi J, et al. Genotypic diversity of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from inpatients and outpatients. *Microb Drug Resist.* 2016;22(2):147–54. doi:10.1089/mdr.2014.0195.

Ternes YMF. Epidemiologia molecular de *Staphylococcus* coagulase negativa (SCoN) isolados da cavidade nasal de neonatos internados em uma unidade de tratamento intensivo de Goiânia [dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2010.

Ternes YM, Lamaro-Cardoso J, André MC, et al. Molecular epidemiology of coagulase-negative *Staphylococcus* carriage in neonates admitted to an intensive care unit in Brazil. *BMC Infect Dis.* 2013;13:572. Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-572>.

Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(3):603–61.

Troccaz M, Gaïa N, Beccucci S, et al. Mapping axillary microbiota responsible for body odours using a culture-independent approach. *Microbiome.* 2015;3(1):3. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40168-014-0064-3>. Accessed: 2025 Feb 4.

Urushibara N, Aung MS, Kawaguchiya M, Kobayashi N. Novel staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) type XIV (5A) and a truncated SCC*mec* element in SCC composite islands carrying *speG* in ST5 MRSA in Japan. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(1):46–50. doi:10.1093/jac/dkz406.

Vaughn VM, Gandhi TN, Petty LA, Patel PK, Prescott HC, Malani AN, et al. Empiric antibacterial therapy and community-onset bacterial coinfection in patients hospitalized with coronavirus disease 2019 (COVID-19): a multi-hospital cohort study. *Clin Infect Dis.* 2021 May 18;72(10):e533–41.

Vermont CL, van Dijk H, Dijkhuizen B, et al. Persistence of clones of coagulase-negative staphylococci among premature neonates in neonatal intensive care units: two-center study of bacterial genotyping and patient risk factors. *J Clin Microbiol.* 1998;36(9):2485–90.

De Voes P, Garrity G, Jones D, et al., eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3: The Firmicutes. 2nd ed. New York: Springer-Verlag; 2009. ISBN: 978-0-387-95041-9.

Yagupsky P, Nolte FS. Quantitative aspects of septicemia. *Clin Microbiol Rev.*

1990;3:269–79.

Younge NE, Newberry D, Arabella S, et al. Early-life skin microbiota in hospitalized preterm and full-term infants. *Microbiome*. 2018;6(1):98.

Youssef W, Wickett RR, Hoath SB. Surface free energy characterization of vernix caseosa. Potential role in waterproofing the newborn infant. *Skin Res Technol*. 2001 Feb;7(1):10–7.

Wang B, Song CR, Zhang QY, et al. The fusaric acid derivative qy17 inhibits *Staphylococcus haemolyticus* by disrupting biofilm formation and the stress response via altered gene expression. *Front Microbiol*. 2022;13:822148. doi:10.3389/fmicb.2022.822148.

Weinberger B, Divers J, Campbell D, Ham S, Juliano C, Kurepa D, et al. Impact of the COVID-19 pandemic on the incidence of prematurity: critical role of gestational age and environment. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Jun;226(6):864–6

Westberg R, Stegger M, Söderquist B. Molecular epidemiology of neonatal-associated *Staphylococcus haemolyticus* reveals endemic outbreak. *Microbiol Spectr*. 2022;10(6):e02452-22.

World Health Organization. Advice for the public on COVID-19 [Internet]. Geneva: WHO; [cited 2022 Oct 20]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>

Widaty S, Surachmiati L, Legiawati L, et al. Scalp microbiome of healthy women wearing hijab compared to those not wearing hijab: a cross-sectional study. *Sci Rep*. 2023;13(1):11797. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38903-2>. Accessed: 2024 Feb 4.

Wu Z, Li F, Liu D, Xue H, Zhao X. Novel type XII staphylococcal cassette chromosome *mec* harboring a new cassette chromosome recombinase, CcrC2. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(12):7597–601. doi:10.1128/AAC.01692-15.

Zervou FN, Zacharioudakis IM, Ziakas PD, Mylonakis E. Prevalence of and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in HIV infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2014;59(9):1302–11.

Zhang D, Lu X, Feng X, et al. Vancomycin-loaded silk fibroin microspheres in an injectable silk hydrogel system for the treatment of chronic osteomyelitis. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;11:1163933. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2023.1163933/full>. Accessed: 2025 Feb 9.

Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270–3.

Zhydetski A, Głowacka-Grzyb Z, Bukowski M, et al. Agents targeting the bacterial cell wall as tools to combat Gram-positive pathogens. *Molecules*. 2024;29(17):4065.

Zipperer A, Konnerth MC, Laux C, et al. Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*. 2016;535(7613):511–6.

# ANEXOS

Você está em: Público > Buscar Pesquisas Aprovadas > Detalhar Projeto de Pesquisa

## DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

### - DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título Público: Vigilância de Staphylococcus multiresistentes em uma unidade de terapia intensiva neonatal e pediátrica de Macaé/RJ  
Pesquisador Responsável: FERNANDA SAMPAIO CAVALCANTE  
Contato Público: FERNANDA SAMPAIO CAVALCANTE  
Condições de saúde ou problemas estudados:  
Descritores CID - Gerais:  
Descritores CID - Específicos:  
Descritores CID - da Intervenção:  
Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP: 09/12/2020



### - DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE

Nome da Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro Campus Macaé  
Cidade: MACAÉ

### - DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Comitê de Ética Responsável: 5699 - UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro - Campus Macaé  
Endereço: Av. Aluizio da Silva Gomes, 50 - Prédio da UFRJ - Campus Macaé, sala 205, 2º andar do bloco B.  
Telefone: (22)2141-4033  
E-mail: cepufrjmacae@macae.ufrj.br

### - CENTRO(S) PARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

\_\_\_\_\_

### - CENTRO(S) COPARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

\_\_\_\_\_

[Voltar](#)