

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ANÁLISE DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* E BUSCA DE TOXINAS EM ISOLADOS DE MATERIAL BIOLÓGICO EM PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAL PEDIÁTRICO PÚBLICO**

**MARIA APARECIDA MÜLLER TRISTÃO**

**VILA VELHA**  
**FEVEREIRO/2023**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ANÁLISE DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* E BUSCA DE TOXINAS EM ISOLADOS DE MATERIAL BIOLÓGICO EM PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAL PEDIÁTRICO PÚBLICO**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

**MARIA APARECIDA MÜLLER TRISTÃO**

**VILA VELHA**  
**FEVEREIRO/2023**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

T838r

Tristão, Maria Aparecida Müller

Análise da resistência antimicrobiana de *staphylococcus aureus* e busca de toxinas em isolados de material biológico em pacientes internados em hospital pediátrico público / Maria Aparecida Müller Tristão. – 2023.

41 f. : il.

Orientadora: Elisângela Flavia Pimentel.

Dissertação ( Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –  
Universidade Vila Velha 2023.

Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Pediatria – Infecções.  
I. Pimentel, Elisângela Flavia. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 615

**MARIA APARECIDA MÜLLER TRISTÃO**

**ANÁLISE DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS E BUSCA DE TOXINAS EM ISOLADOS  
DE MATERIAL BIOLÓGICO EM PACIENTES INTERNADOS EM  
HOSPITAL PEDIÁTRICO PÚBLICO**

Dissertação apresentada à Universidade  
Vila Velha, como pré-requisito do Programa  
de Ciências Farmacêuticas, para a  
obtenção do grau de Mestra em Ciências  
Farmacêuticas.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2023.

Banca examinadora:

*Carolina Frizzera Dias*

\_\_\_\_\_  
Profa Dra. Carolina Frizzera Dias - UFES

*Denise*  
\_\_\_\_\_  
Profa Dra. Denise Coutinho Endringer – UVV

*Elisângela Flávia Pimentel*

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Elisângela Flávia Pimentel – UVV

(Orientadora)

Para todos aqueles, que apesar da idade,  
ainda buscam aprender...

“O conhecimento torna a alma jovem e  
diminui a amargura da velhice. Colhe, pois, a  
sabedoria. Armazena suavidade para o amanhã”

Leonardo da Vinci

## **AGRADECIMENTOS**

Profa. Dra. Elisângela Flávia Pimentel - UVV

Profa. Dra. Denise Coutinho Endringer - UVV

Prof. Dr Ricardo Souza Dias - FUNED BH

Minhas colegas de mestrado – UVV:

Daniele Portes

Vanuza Solange Guasti Lopes

Alunas de iniciação científica do curso de medicina da UVV:

Beatriz Klippel Amancio Pereira

Emanuella Teixeira Tissianel

Vitória Caseira Altoé

Chefe do Setor de Microbiologia da Central Sorológica de Vitória (CSV):

Pryce Emery Brandão

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b>	Modelo segundo Food Research Institute (Madison, Wisconsin, EUA) utilizado para perfuração dos orifícios em ágar Noble (mm).	22
<b>FIGURA 2</b>	Laboratório de Enterotoxinas de Alimentos-FUNED-MG.	22
<b>FIGURA 3</b>	Descrição das características da lesão: Hiperemia, calor, dor e flutuação (pele subjacente se torna fina e com sensação de flutuação ao toque).	25
<b>FIGURA 4</b>	Formas de drenagem do abscesso	25
<b>FIGURA 5</b>	Descrição do estado geral do paciente no momento da admissão	26
<b>FIGURA 6</b>	Perfil de resistência a antibióticos de cepas de S.aureus isoladas no hospital. (1. Ciprofloxacina, 2. Clindamicina, 3. Eritromicina, 4. Gentamicina, 5. Levofloxacina, 6. Oxacilina, 7. Penicilina, 8. Sulfametoxazol, 9. Trimetoprima, 10. Vancomicina).	26
<b>FIGURA 7</b>	Identificação da toxina (Traços de toxinas = presença de toxinas porém sem nível considerável para causar intoxicação).	27

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b>	Descrição da idade, sexo e peso do paciente.	24
<b>TABELA 2</b>	Associação da identificação da toxina TSST-1 com outros fatores.	29

## LISTA DE ABREVIATURAS

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

Erc: Proteína-quinase direta

HIMABA: Hospital Infantil e Maternidade Alzir Bernadino Alves

Ig: Imunoglobulina

IL2: Interleucina 2

INF: Interferon

MHC: Complexo Principal de Histocompatibilidade

PBMCs: Células mononucleares do sangue periférico

*S.aureus: Staphylococcus aureus*

SAGS: Superantígenos

SE: Enterotoxinas estafilocócicas

SEA: Enterotoxina Estafilocócica A

SEC: Enterotoxina Estafilocócica C

Src: Proteínas-quinases

Stat: Transdutores de sinal e ativadores de transcrição

Th1 – Th2 – Th22: Células linfócitos

TNF: Fator de Necrose Tecidual

TRC: Receptor para reconhecimento de antígenos dos linfócitos

TSS: Síndrome Do Choque Tóxico

TSST-1: Toxina Da Síndrome Do Choque Tóxico

# SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1.INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
2.1. Critérios de inclusão.....	20
2.2 Critérios de exclusão .....	20
2.3 Coleta de dados.....	20
2.4 Identificação de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
2.5 Identificação cepas produtoras de enterotoxinas A, C E TSST-1.....	21
2.6 Teste de detecção de TSST-1.....	21
2.7 Teste de detecção de SE.....	21
2.8 Análise estatística.....	23
2.9 Resultados.....	24
3. DISCUSSÃO.....	32
4. CONCLUSÃO.....	36
5. PERSPECTIVAS.....	36
5. REFERÊNCIAS.....	39

## RESUMO

TRISTÃO, Maria Aparecida Müller, Universidade Vila Velha – ES, Fevereiro de 2023.

**Análise da resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* e busca de toxinas em isolados de material biológico em pacientes internados em hospital pediátrico público.** Orientadora: Professora Doutora Elisângela Flávia Pimentel.

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria oportunista, causadora de infecções humanas, produtora de toxinas, responsáveis por causar quadros clínicos graves. Neste estudo, investigamos o perfil de resistência antimicrobiana e a produção de superantígenos (TSST-1 e SE) por *S. aureus* isolados de material biológico de pacientes e o risco potencial de ocorrência da Síndrome do Choque Tóxico. Vinte e dois pacientes com idade entre 0 e 18 anos, internados entre junho de 2021 e julho de 2022, no Hospital Estadual Infantil e Maternidade Dr. Alzir Bernardino Alves, HIMABA de Vila Velha, ES, Brasil, participaram deste estudo após a assinatura, por aqueles responsável, do TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) e do TALE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para crianças, adolescentes ou incapazes). O perfil de resistência antimicrobiana foi obtido pelo método de disco-difusão. As cepas de *S. aureus* isoladas apresentaram resistência à penicilina (68%) e oxacilina (55%) seguidas de sulfametoxazol, gentamicina e trimetoprima (5%). O método Optimum Sensitive Plate foi usado para pesquisar cepas produtoras de TSST-1 e identificar as enterotoxinas produzidas, enquanto o método imunoenzimático VIDAS-STAPH 2 foi usado para detectar cepas produtoras de SE (A-E). Em apenas 2 pacientes foi isolado *S. aureus* produtor de TSST-1 e em 21 *S. aureus* produtores de enterotoxinas em concentrações estimadas entre 0,26 e 4,91 ng/ml de sobrenadante. O número de pacientes com *S. aureus* enterotoxigênico aumenta o risco de ocorrência da síndrome do choque tóxico devido à atividade superantígena das enterotoxinas produzidas pelos isolados. A oxacilina e a clindamicina foram as drogas administradas rotineiramente em pacientes com infecção grave por *S. aureus*. Entretanto, cepas isoladas foram mais sensíveis à gentamicina (95%) do que à oxacilina (55%). Pode-se sugerir que a gentamicina seja o antibiótico utilizado em associação com a clindamicina (sensibilidade de 82%). A busca por cepas de *S. aureus* produtoras de superantígenos em pacientes com infecções por *S. aureus* não é rotineira, porém a presença desse microrganismo pode contribuir para o aumento do tempo de internação.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus* - Síndrome do Choque Tóxico – superantígenos - enterotoxinas – infecções pediátricas

## ABSTRACT

TRISTÃO, Maria Aparecida Müller, Vila Velha University – ES, Fevereiro de 2023.

**Analysis of antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and search for toxins in isolates from biological material in patients admitted to a public pediatric hospital.** Advisor: Professora Doutora Elisângela Flávia Pimentel.

*Staphylococcus aureus* is an opportunistic bacterium, which causes tolerant humans, produces toxins, and is responsible for causing severe clinical conditions. In this study, we investigated the profile of antimicrobial resistance and the production of superantigens (TSST-1 and SE) by *S. aureus* isolated from biological material from patients and the potential risk of occurrence of Toxic Shock Syndrome. Twenty-two patients aged between 0 and 18 years old, hospitalized between June 2021 and July 2022, at Hospital Estadual Infantil e Maternidade Dr. Alzir Bernardino Alves, HIMABA from Vila Velha, ES, Brazil, participated in this study after the signature, by those responsible, of the TCLE (Free and Informed Consent Form) and the TALE (Free and Informed Consent Form for children, adolescents or people with disabilities). The antimicrobial resistance profile was obtained by the disk-diffusion method. The strains of *S. aureus* showed resistance to penicillin (68%) and oxacillin (55%) followed by sulfamethoxazole, gentamicin and trimethoprim (5%). The Optimum Sensitive Plate method was used to screen for TSST-1 producing strains and identify the enterotoxins produced, while the VIDAS-STAPH 2 enzyme immunoassay method was used to detect SE producing strains (A-E). In only 2 patients was isolated *S. aureus* producing TSST-1 and in 21 *S. aureus* producing enterotoxins at concentrations thought to be between 0.26 and 4.91 ng/ml of supernatant. The number of patients with enterotoxigenic *S. aureus* increases the risk of toxic shock syndrome due to the superantigen activity of the enterotoxins produced by the isolates. Oxacillin and clindamycin were the drugs routinely administered to patients with severe *S. aureus* infection. However, pediatric strains were more sensitive to gentamicin (95%) than oxacillin (55%). It can be suggested that gentamicin is the antibiotic used in association with clindamycin (82% sensitivity). The search for *S. aureus* strains that produce superantigens in infections for *S. aureus* patients is not frequent, but the presence of this microorganism may contribute to an increase in hospitalization time.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus* - Toxic Shock Syndrome - superantigens – enterotoxins- pediatric complications

# 1. INTRODUÇÃO

*Staphylococcus aureus* é um dos principais patógenos em infecções hospitalares e comunitárias e pode causar muitas doenças infecciosas, como infecções leves de pele e tecidos moles, endocardite infecciosa, osteomielite, bacteremia e pneumonia fatal (LOWY, 1998; HUMPHREY, 2012).

Uma ampla gama de fatores de virulência permite *S.aureus* causar vários tipos de infecções que podem envolver qualquer sistema orgânico. A invasão do sistema vascular por *S.aureus* leva a bacteriemia, resultando em endocardite, metástases e sepse (SETHI, CHAKRABORTY, 2011).

*S.aureus* é também uma bactéria comensal, os seres humanos são reservatórios naturais, colonizador da pele, períneo e mucosas como a oral e a nasofaríngea. Há uma elevada prevalência de portadores assintomáticos, sendo estes fontes de disseminação e, no caso dos trabalhadores na área de saúde um meio de vinculação de linhagens nosocomiais. Ainda que assintomáticos, alguns fatores podem facilitar a instalação de uma infecção, como a depressão da resposta imunológica ou procedimentos médicos invasivos (VIEIRA et al. 2017).

Estima-se que um terço da população humana, incluindo a população pediátrica, tenha colonização assintomática por *S. aureus*. Essa mesma colonização é um fator de risco para infecção, ou ocorre frequentemente com a mesma cepa que colonizou o indivíduo (ONDUSKO; NOLT, 2018).

Por ser um dos componentes normais da microbiota da pele, pacientes que fazem uso de cateteres endovenosos podem ser infectados pelo *S. aureus* por meio de sua invasão a partir do local de inserção do cateter. A bactéria é capaz de migrar pelo cateter até chegar à circulação sanguínea, podendo levar a quadros graves de bacteremia, principalmente se a microbiota abrigar cepas resistentes à meticilina, denominadas MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina) (GOLBEL, 2005).

*S. aureus* foi descoberto pela primeira vez em 1880 em Aberdeen, na Escócia, pelo cirurgião Alexander Ogston de pacientes com feridas ulceradas. *S.aureus* pertence ao gênero *Staphylococcus*, Firmicutes; é positivo para coloração de Gram, ~0,8 µm de diâmetro, disposto em um “colar de uvas” sob um microscópio, aeróbico ou anaeróbico; e cresce de forma ideal a 37°C e a pH 7,4 (EDWARDS E MASSEY, 2011; GARDETE E TOMASZ, 2014). As colônias na placa de ágar sangue são

espessas, brilhantes e redondas com um diâmetro de 1 a 2 mm (GONZALEZ-PEREZ et al., 2019 ; SATO et al., 2019). A maioria delas é hemolítica, formando um anel hemolítico transparente ao redor das colônias em placas de ágar sangue (SATO et al., 2019). Além disso, *S. aureus* não forma esporos ou flagelos, mas possui uma cápsula, pode produzir pigmento amarelo dourado e decompor o manitol (TAYEB-FLIGELMAN et al., 2017). Além disso, também foi descoberto que os testes de coagulase plasmática, fermentação da lactose e desoxirribonuclease são positivos em *S. aureus* (CHINO et al., 2017; TAYEB-FLIGELMAN et al., 2017).

O *S. aureus* é uma bactéria gram-positiva e catalase positiva e, ao contrário de outras espécies estafilocócicas, coagulase positiva (ONDUSKO; NOLT, 2018).

O descobrimento da penicilina, por Alexander Flemming, na década de 1920, foi um marco na história do tratamento de doenças infecciosas. Em 1941 foi realizado o primeiro teste clínico com a penicilina (betalatâmico, que impedem a formação da parede celular e resultam em lise bacteriana), determinando tratamento efetivo contra as infecções estafilocócicas. Porém, alguns anos depois, com o uso indiscriminado da penicilina, as primeiras cepas resistentes foram selecionadas. Essas bactérias eram capazes de hidrolisar o anel betalactâmico da penicilina, por meio da enzima betalactamase tornando-a inativa. No mesmo ano foi desenvolvido um betalactâmico semi-sintético, a meticilina. Em 1961, o primeiro caso de resistência foi relatado na Inglaterra e essas cepas ficaram conhecidas como MRSA (POTTINGER, 2013). No Brasil, a meticilina foi, posteriormente, substituída por uma congênere, a oxacilina (LOPES, 2005).

Sabe-se que a resistência estafilocócica aos antibióticos é um problema na clínica. A resistência do *Staphylococcus spp* à oxacilina é possível devido à produção de uma proteína de ligação à penicilina suplementar (PBP 2' ou PBP 2a) que possui baixa afinidade por penicilinas semissintéticas (PEREIRA; CUNHA, 2013). Uma taxa de 69 % de *S. aureus* coagulase negativo isolado de 100 pacientes recém-nascidos foi resistente à oxacilina, em estudo realizado no Hospital Universitário da Faculdade de Medicina (HC-FMB) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, Brasil (PEREIRA; CUNHA, 2013). A resistência dos beta-lactâmicos aos antibióticos tem um papel importante na clínica, e é mediada por uma b-lactamase que hidrolisa e inativa a droga ou alvo ou alvos alterados, ou seja, proteínas de ligação à penicilina (PBPs), que é característica encontrada quase exclusivamente em estafilococos (CHAMBERS, 1999). Portanto, o uso da penicilina tornou-se limitado no tratamento,

visto que a maioria das cepas estafilocócicas são capazes de tornar a penicilina inafetiva pela produção de b-lactamases (PALAVECINO, 2004).

Os antibióticos curam as infecções influenciando o crescimento ou a viabilidade bacteriana. Os antibióticos podem ser divididos em dois grupos com base em seu efeito nas células microbianas por meio de dois mecanismos principais, que são bactericidas ou bacteriostáticos. Os antibióticos bactericidas matam as bactérias e os antibióticos bacteriostáticos suprimem o crescimento das bactérias (mantêm-nas na fase estacionária de crescimento). Um dos muitos fatores para prever um resultado clínico favorável da ação potencial de produtos químicos antimicrobianos pode ser fornecido usando dados bactericidas/bacteriostáticos *in vitro* (por exemplo, concentrações inibitórias mínimas - MICs). Conseqüentemente, as MICs são usadas em situações clínicas principalmente para confirmar a resistência e determinar as atividades *in vitro* de novos antimicrobianos (BERNATOVÁ et al., 2013).

Os antibióticos bacteriostáticos inibem o crescimento celular, enquanto os antibióticos bactericidas induzem a morte celular. A classificação de um antibiótico como bacteriostático ou bactericida é baseada em um teste operacional *in vitro*, que oferece uma perspectiva limitada sobre a atividade fisiológica do antibiótico. Embora o valor clínico da atividade bactericida no tratamento da infecção seja um ponto de debate, as evidências apóiam a preferência por antibióticos bactericidas para certas infecções de alto risco. O uso de combinações de antibióticos para tratar infecções bacterianas é cada vez mais comum, mas a previsibilidade dessa abordagem é limitada. É bem conhecido que os tratamentos de combinação bacteriostático-bactericida resultam na atenuação da atividade bactericida *in vitro* em uma variedade de drogas e organismos. Clinicamente, esse efeito pode ter conseqüências negativas em infecções de alta morbidade, como meningite, ou efeitos positivos pela inibição da lise e liberação de exotoxinas em síndromes mediadas por toxinas (LOBRITZ et al., 2015).

*S. aureus* pode ser dividido em *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA) e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Nas últimas décadas, devido à evolução das bactérias e ao abuso de antibióticos, a resistência do *S. aureus* aos medicamentos aumentou gradualmente, a taxa de infecção por MRSA aumentou em todo o mundo e o tratamento anti-infeccioso clínico para MRSA tornou-se mais difícil (GUO et al., 2020).

Ele pode adquirir novos elementos genéticos (aquisição de dispositivos móveis, que transferem resistência e virulência de outras espécies bacterianas e cepas estafilocócicas). A patogenidade apresentada pelo *Staphylococcus aureus* está relacionada aos fatores de virulência e à alta resistência a diversos antimicrobianos que o microrganismo apresenta, como a oxacilina (MRSA- *S. aureus* resistente a oxacilina/meticilina) e a vancomicina (VISA- *S. aureus* resistente intermediário a vancomicina) ambos contribuindo efetivamente para a colonização bacteriana no foco da infecção. O *S. aureus* resistente à metilina MRSA é resistente não apenas à metilina e oxacilina, mas também a todos os  $\beta$ -lactâmicos, aminoglicosídeos, tetraciclina, cloranfenicol, lincosamidas, macrólidos, trimetoprima/sulfametoxazol e fluoroquinolona (CARVALHO; MAINIZUKA, 2010, PAWAR; YAO; LU, 2019).

As infecções nosocomiais manifestam-se durante o período de internação do paciente, podendo ou não estar relacionados a procedimentos hospitalares aos quais os pacientes são submetidos (ANVISA, 2012). Vários microrganismos estão relacionados às infecções hospitalares, porém, dentre eles, destacam-se as bactérias do gênero *Staphylococcus* (CAVALCANTI et al., 2005, LAMY et al., 2012).

Há um aumento de 20% na taxa de hospitalizações relacionadas a *S. aureus*, sendo 10% CA-MRSA (MRSA- *S. aureus* resistente a oxacilina/meticilina de origem comunitária); O *S. aureus* resistente à metilina é mais prevalente no final da primavera até o final do verão e pode ter uma propensão sazonal (ONDUSKO; NOLT, 2018). Embora as infecções invasivas por HA-MRSA (MRSA- *S. aureus* resistente a oxacilina/meticilina de origem hospitalar) sejam mais raras em crianças com mais de 1 ano de idade, essas taxas variam entre os hospitais infantis, com a cepa USA300 respondendo por mais de 70% desses isolados nos Estados Unidos (HULTÉN et al., 2010).

Da mesma forma, a prevalência de CA-MRSA também varia geograficamente, nos Estados Unidos e em outros países aumentou até aproximadamente 2010 e depois diminuiu em algumas populações (HULTÉN et al., 2010; LAMY et al., 2012). Surtos comunitários de infecção de pele e tecidos moles foram relatados em vários locais, incluindo comunidades nativas e aborígenes (BAGGETT et al., 2014), equipes esportivas (KASAKOVA, 2005), creches (SHAHIN et al., 1999), entre outros grupos.

A prevalência de HA-MRSA em crianças permaneceu relativamente estável desde 2005 (DANTES et al., 2013), representando nos Estados Unidos, 40 a 60% dos isolados de *S. aureus* de pacientes hospitalizados (WEINER et al., 2016).

Além da resistência a antibióticos, os fatores de virulência de *S. aureus* estão relacionados à produção de toxinas, moduladores imunológicos e fatores de adesão, entre outros, os quais contribuem coletivamente para o sucesso da colonização e persistência da doença (KRAKAUER, 2019).

Os fatores de virulência do *S. aureus* podem ser divididos nas seguintes categorias: (1) fatores de virulência secretados, incluindo toxinas e superantígenos, cuja principal função é romper as membranas das células hospedeiras e induzir a lise e inflamação das células-alvo; (2) enzimas extracelulares, cuja função principal é quebrar as moléculas do hospedeiro para nutrição, promover a sobrevivência e disseminação bacteriana (TAM, 2019); (3) proteínas de superfície de *S. aureus*, cujas principais funções são adesão, invasão e escape imune (FOSTER et al., 2016), e (4) padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que promovem respostas inflamatórias (ASCARIAN et al., 2018).

As exotoxinas estafilocócicas, as enterotoxinas estafilocócicas SEA e a toxina da síndrome do choque tóxico (TSST-1) são potentes ativadores do sistema imunológico e causam uma variedade de doenças em humanos, variando de intoxicação alimentar a choque. Essas toxinas são chamadas de superantígenos (SAGs) devido a sua capacidade de ativar células T policlonalmente em concentrações picomolares. Os Sags se ligam tanto as moléculas do MHC de classe II quanto as regiões Vbeta do receptor de células T, levando a ativação tanto de células apresentadoras de antígenos quanto dos linfócitos T. Essas interações levam a produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias e proliferação de células T, causando sintomas clínicos que incluem febre, hipotensão e choque (KRAKAUER, 1999).

Atualmente, existem 25 enterotoxinas identificadas (ETTER et al., 2020). O *S. aureus* pode secretar uma variedade de toxinas para desencadear respostas inflamatórias e ativar células inflamatórias, como queratinócitos, células T auxiliares, células linfoides inatas, macrófagos, células dendríticas, mastócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos. As células inflamatórias ativadas podem expressar várias citocinas e induzir uma resposta inflamatória, podem também induzir a morte da célula hospedeira através da piroptose, apoptose, necroptose e autofagia (CHEN et al., 2022).

Sags (superantígenos) são uma classe de substâncias antigênicas compostas por exotoxinas bacterianas e proteínas retrovirais. Eles se ligam a maioria das células

T e fornecem sinais para a ativação das células T. Sags são mitógenos de células T altamente eficientes e manipulam o sistema imunológico do hospedeiro. Eles podem ativar diretamente os linfócitos T, desencadeando a liberação de um grande número de citocinas pró-inflamatórias, como INF (interferon), IL2 (interleucina 2) e TNF (fator de necrose tecidual). Sags incluem enterotoxinas estafilocócicas e (SEs) e toxina 1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1) (CHEG et al., 2018). São considerados superantígenos porque promovem a amplificação da resposta imune e estimulam uma grande população de células T (FERREIRA-DUARTE et al., 2017; PINCHUK; BESWICK; REYES, 2010).

Entre as as toxinas estafilocócicas (SEs), destacam-se a toxina A, C (SEA, SEC) e TSST-1 (PINCHUK; BESWICK; REYES, 2010; ELAHI, 2020; BANASZKIEWICZ et al., 2022). Estas toxinas estão muito bem caracterizadas e se ligam a moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II. SEs podem se ligar como moléculas inteiras diretamente à maioria das principais moléculas de histocompatibilidade classe II do MHC e do complexo TCR do receptor de células T juntamente com o receptor coestimulador CD28 e seus coligantes B7 (POPUGAILO et al., 2019, MUJTABA et al., 2021).

A SEA desempenha um papel em células Th1, Th2 e Th22 (linfócitos T) e induz a apoptose, também serve como um potente estimulante de PBMCs (linfócitos T, linfócitos b, células natural killer, monócitos e células dendríticas), e induz a liberação de grandes quantidades de citocinas e quimiocinas através das vias Src, ERK e STAT (vias de cadeias de interações entre proteínas em uma célula). A SEC é uma toxina supercarcinogênica e emética, mas sem atividade diarreica. TSST-1 É UM SAg bacteriano produzido e secretado pelo *S.aureus*. O TSST-1 pode ativar células T CD4 para produzir grandes quantidades de citocinas e levar a uma resposta tóxica sistêmica (CHEG et al, 2018).

Ainda dentre os fatores de virulência, destaca-se a Toxina da Síndrome do Choque Tóxico (TSST-1), considerade de rara ocorrência. Ainda pouco se sabe sobre essa toxina, responsável por uma doença grave de caráter multissistêmico (KRAKAUER, 2019; TUFS et al., 2019).

Embora a patogênese das infecções por *S. aureus* esteja no centro da pesquisa atual, muitas questões permanecem sobre os mecanismos subjacentes à síndrome do choque tóxico estafilocócico (TSS) e à imunossupressão adaptativa associada. Ambas as condições são mediadas por toxinas estafilocócicas secretadas

por superantígenos estafilocócicos (SAGs) que são os principais fatores de virulência do *S. aureus* (KULHANKOVA, KING, SALGADO, 2014).

A TSST-1 foi descrita pela primeira vez por Todd, em 1978 em sete (07) crianças que apresentavam eritema generalizado, febre, hipotensão, diarreia e falência de múltiplos órgãos (TODD, 1988). Em 1980, muitos casos foram relatados em mulheres jovens que usaram certos tipos de absorvente interno (BROOME et al., 1982). TSS é devido à produção de uma toxina por *S. aureus*, TSST-1. Em um estudo de 130 TSS (REINGOLD et al., 1982) encontraram infecção de pele em 30% dos casos, foco genital em 27% (após parto ou aborto), foco pós operatório em 18% e em 13% a fonte não foi identificada.

A patogênese da TSST-1 está ligada às propriedades dos superantígenos em Toxinas de *S. aureus*, ou seja, ativação de maior número de linfócitos T resultando na produção de altos níveis de citocinas (DAUM et al., 2017). Alguns antibióticos que atuam como inibidores da síntese de proteínas com propriedades anti-toxêmicas podem oferecer benefícios terapêuticos adicionais, associações de antibióticos direcionados para a síntese de inibir a síntese de parede de células bacterianas (oxacilina ou vancomicina) e antibióticos que inibem a síntese de proteínas (clindamicina) (STEVENS et al., 2007).

Bebês com menos de 6 meses de idade são protegidos do TSS devido ao alto nível de anticorpo materno TSST-1. Usando um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), os títulos de anticorpos IgG séricos para TSST-1 no Japão foram determinados. A percentagem de bebês (< 6 meses) com títulos de anticorpos TSST-1 positivos foi de 78,6%. Apenas 21% dos lactentes (6 a 12 meses) apresentaram títulos positivos. Os títulos começaram a aumentar novamente após a idade de 3 anos; os títulos aumentaram novamente provavelmente devido a colonização nasal com TSST-1 *S.aureus* via imunização ativa e natural da cepa colonizadora (QUAN, MORITA, KAWAKAMI, 2010).

No Japão, Takahashi et al. (1988) relataram neonatos que desenvolveram eritema generalizado e trombocitopenia na primeira semana de vida associados ao TSST-1 de produtor de MRSA. Eles propõem a doença exantemática semelhante à síndrome do choque neonatal (NTED).

De acordo com o Centers for Disease Control (CDC, 2011), a síndrome do choque tóxico é caracterizada por sinais e sintomas como febre (38,9°C ou superior), dermatose eritematosa difusa e descamação (1 a 2 semanas após o início), erupção

cutânea), hipotensão (pressão arterial sistólica <90 mmHg) e envolvimento de três ou mais órgãos e sistemas.

A falência de múltiplos órgãos e sistemas causada pelo TSST-1 se deve a uma reação exacerbada causada pela presença de citocinas pró-inflamatórias liberadas por ativação inespecífica de células T em concentrações picomolares (KRAKAUER, 2019; TUFFS et al., 2019). O TSST-1 é um Super-Antígeno produzido e secretado por *S. aureus* que pode ativar células TCD4 para produzir grandes quantidades de citocinas (mediadores do processo inflamatório) e levar a uma resposta tóxica sistêmica (CHEN et al., 2022).

Embora os casos relatados na literatura sobre a síndrome do choque tóxico sejam raros, todos são clinicamente relevantes, como no caso da doença envolvendo crianças que tiveram complicações da gripe, ou apresentaram sintomas semelhantes aos da gripe, e que tiveram, como consequência, o desenvolvimento de choque tóxico. Essas crianças apresentavam, no diagnóstico post-Morten, a presença de *Staphylococcus aureus* produtor de TSST-1 (MACDONALD et al., 1987).

Além disso, as cepas de *S. aureus*, circulam em populações humanas em intervalos de aproximadamente 10 anos, possivelmente dependentes do estado imunológico. As bactérias *S. aureus* produtoras de TSST-1 parecem estar ressurgindo, sugerindo que a conscientização do médico sobre esse surgimento e o histórico de TSS devem ser intensificados (SCHLIEVERT et al., 2020).

A hipótese desse trabalho é que existem cepas produtoras de toxinas que podem agravar o quadro dos pacientes acometidos por *S. aureus*. Este estudo pretendeu verificar a incidência de cepas produtoras de toxinas estafilocócicas A, C, TSST-1 de material biológico obtidos de pacientes pediátricos e caracterizar o perfil de resistência antimicrobiana. Com o objetivo geral de conscientização da existência de cepas produtoras de toxinas, e fornecer informações que possam subsidiar a equipe médica nas medidas e estratégias de tratamento de quadros mais graves que possam surgir pela presença das toxinas.

Como objetivo específico, caracterizar o perfil de resistência antimicrobiana das cepas produtoras de toxinas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no serviço de pediatria do Hospital Estadual Infantil e Maternidade Dr. Alzir Bernardino Alves, HIMABA de Vila Velha, Espírito Santo, no período de junho de 2021 a julho de 2022, em pacientes de 0 a 18 anos. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Estadual Infantil e Maternidade Dr. Alzir Bernardino Alves, HIMABA. O recrutamento por amostragem por conveniência, à medida que os casos ocorriam.

### 2.1 Critérios de inclusão

Pacientes com lesões de peles incluindo abscessos, furúnculos, hidradenite, foliculite crônica, piomiosite, síndrome da pele escaldada. Além de pneumonias, endocardite, osteomielite, piodartrite e sepse.

### 2.2 Critérios de exclusão

Pacientes com queimaduras, com alergia a antibióticos, úlceras crônicas, infecções de pele por pressão ou decúbito e úlceras isquêmicas.

### 2.3 Coleta de dados

A coleta de amostras biológicas foi realizada de acordo com a necessidade do quadro clínico de cada paciente, dentro de protocolos de rotina já existentes. A coleta de sangue foi realizada de acordo com as Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial. Todos os participantes foram totalmente informados sobre o estudo e assinaram os termos de consentimento informado. Um questionário foi preenchido por um médico credenciado para cada caso, coletando dados como idade, sexo, peso, doença de base, características da lesão, uso de antibióticos e estado geral do paciente. Dados de registros eletrônicos de saúde (EHR) como estado de saúde do paciente, cuidados de saúde e registro foram utilizados para apoiar este estudo.

### 2.4 Identificação de *Staphylococcus spp.*

O isolamento e identificação fenotípica de *Staphylococcus aureus* foi realizado por meio de um sistema automatizado, com o auxílio de cartões do sistema Vitek®

(BioMérieux™). Essa identificação é bioquímica e o sistema automatizado também foi utilizado para determinar a resistência a antimicrobianos dos isolados.

## **2.5 Identificação de cepas produtoras de enterotoxinas**

A detecção de toxinas superantígenas foi realizada no sobrenadante da cultura de *S. aureus* obtido pela técnica de membrana sobre ágar (HALLENDER, 1965). Para a obtenção do sobrenadante, após obter uma cultura de 24h em Caldo Infuso Cérebro Coração (BHI) 0,5mL foram transferidos para a superfície de uma placa de Petri preparada com 20 mL de ágar BHI simples, acrescidas de 1% de extrato de levedura e fosfato de potássio recoberta com uma membrana de diálise estéril (Spectra/por@ membrane MWCO 6-8.000) com igual diâmetro e submetida à incubação por 24 horas a 35-37°C.

Após o período de incubação o crescimento foi recolhido com auxílio de uma alça de Drigalski lavando a superfície da membrana com 2,5 mL de tampão PBS (0,02M e pH 7.4). A suspensão de células resultante foi centrifugada sob refrigeração a 4°C a 10.000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido e adicionadas 2 gotas de Timerossol (1:10.000) como conservante e, em seguida analisado para a presença SE e de TSST-1 (ROBBINS et al., 1974). O controle positivo para a toxina testada e seu respectivo antissoro foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Enterotoxinas Estafilocócicas da Fundação Ezequiel Dias (Laboratório de Saúde Pública-MG).

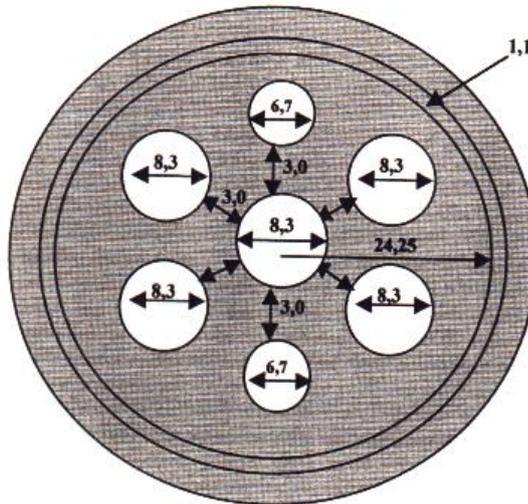
## **2.6 Teste de detecção de TSST-1**

### **2.6.1 Preparo das placas de OSP**

No método de OSP (“Optimum Sensivity Plate”) foram utilizadas placas de Petri de dimensões de 50 x 12 mm contendo 3mL de ágar Noble (DIFCO). Após solidificação do ágar sete orifícios foram preparados utilizando modelo para a perfuração do ágar (Food Research Institute - Madison, Wisconsin, EUA) (Figuras 1 e 2). O antissoro padrão específico para a TSST-1 foi inoculado no orifício central (orifício 7), as toxinas padrão correspondentes nos dois orifícios menores (orifício 1 e 4) e o sobrenadante da cultura e suas respectivas diluições (1:2, 1:4, 1:8) inoculadas nos demais orifícios (orifícios 2, 3 5 e 6). As placas foram incubadas em câmara úmida por 24 h a 35-37°C.

## 2.6.2 Leitura

Reações positivas são determinadas pela formação de linhas de precipitina entre os orifícios contendo sobrenadante da cultura e o orifício central contendo o anti-soro.



**Figura 1.** Modelo segundo Food Research Institute (Madison, Wisconsin, EUA) utilizado para perfuração dos orifícios em ágar Noble (mm).



**Figura 2.** Laboratório de Enterotoxinas de Alimentos-FUNED-MG.

## **2.7 Teste de detecção de SE**

Cada sobrenadante obtido como acima descrito foi inoculado (500 microlitros) nas barretes do sistema automatizado VIDAS-STAPH 2, e aplicado no aparelho. O método imunoenzimático VIDAS-STAPH 2, devido à sua elevada sensibilidade, foi o método automatizado de escolha para determinar o potencial enterotoxigênico das cepas isoladas e, para a identificação das enterotoxinas produzidas pelo microrganismo foi utilizado como descrito acima o método Optimum Sensitive Plate para as enterotoxinas SEA, SEB, SEC e SED (enterotoxinas A/B/C/D) segundo Robbins et al. (1974).

O método VIDAS-STAPH 2 é destinado à detecção de SE clássicas (A-E) em matrizes alimentícias, e na avaliação do potencial enterotoxigênico do microrganismo. Trata-se de um método qualitativo (presença/ausência) para uma sensibilidade de 0,25ng/g e quando positivo não discrimina o tipo de enterotoxina presente.

### **2.7.1 Princípio do método:**

A enzima do conjugado catalisa a reação de hidrólise do substrato resultando num produto (4 metil-umbeliferona) cuja fluorescência emitida é medida a 450nm. Esta fluorescência gera um valor para cada amostra testada. O valor da fluorescência relativa (RFV) da amostra dividida pelo valor da fluorescência relativa (RFV) do calibrador dará um valor de Teste (VT). Este valor é comparado com o valor limiar do aparelho (0,13 que corresponde ao limite de detecção do método - 0,25ng/g). A curva de calibração do aparelho gerada pelos padrões do kit apresenta uma regressão linear onde quanto maior o valor de VT maior é a quantidade de toxina presente na matriz analisada

## **2.8 Análise Estatística**

A análise da descrição dos dados foi realizada pela frequência observada, porcentagem, valores mínimos e máximos, medidas de tendência central e variabilidade. O programa utilizado na análise foi o IBM SPSS Statistics versão 24. O teste Exato de Fisher avaliou a associação da identificação da toxina TSST-1 com possíveis fatores de risco. Regressão logística múltipla com o método de seleção de variáveis retrógradas associado à identificação da toxina TSST-1 com possíveis fatores de risco. O nível alfa de significância utilizado em todas as análises foi de 5%.

## 2.9 Resultados

Os dados relativos aos pacientes tornam-se uma ferramenta útil para avaliar o estado de saúde e/ou prestação de cuidados de rotina (EHRENSTEIN. et al., 2019, KNEVEL; LIAO, 2022, FDA, 2022). Foram avaliados amostras biológicas analisadas de vinte e dois (22) pacientes que participaram do estudo, seus dados estão resumidos na Tabela 1.

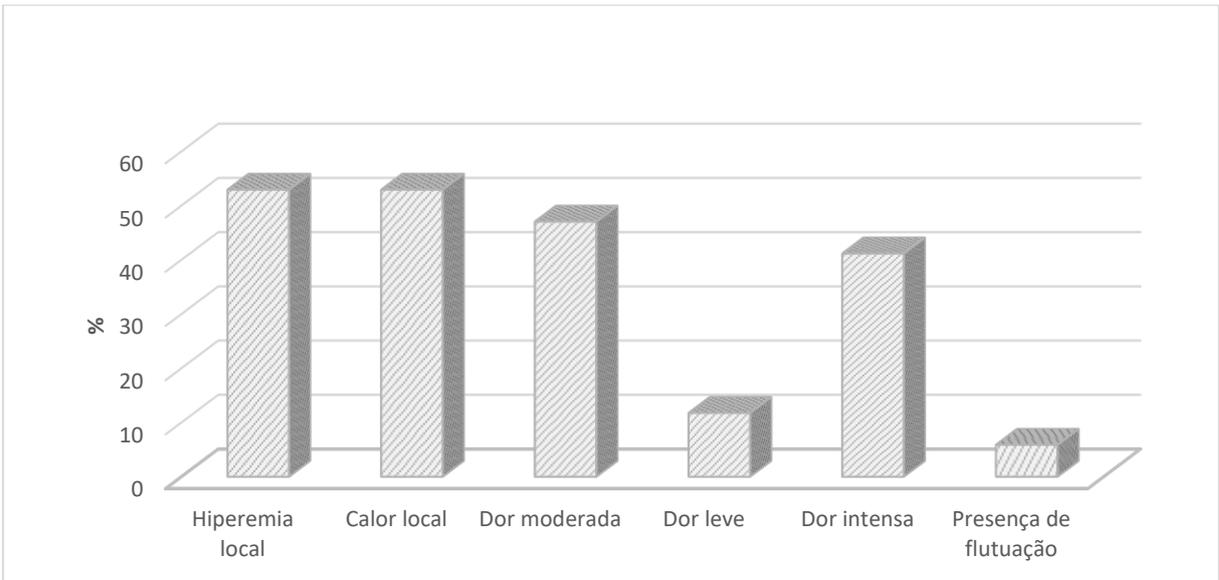
A faixa etária do paciente mais incidente foi de onze anos ou mais (com 36,36%). A porcentagem de 68,18% dos pacientes era do sexo masculino e o peso médio de 22,73kg (DP 20,92kg). (Tabela 1)

**Tabela 1.** Descrição da idade, sexo e peso do paciente

		n	%
Faixa etária	1 ano ou menos	5	22,73
	2 a 5 anos	6	27,27
	6 a 10 anos	3	13,64
	11 anos ou mais	8	36,36
Sexo	Feminino	07	31,82
	Masculino	15	68,18
	Mínimo Máximo	Mediana	Média ( $\pm$ DP)
Peso	4,00-6,00	15,00	22,73 ( $\pm$ 20,92)

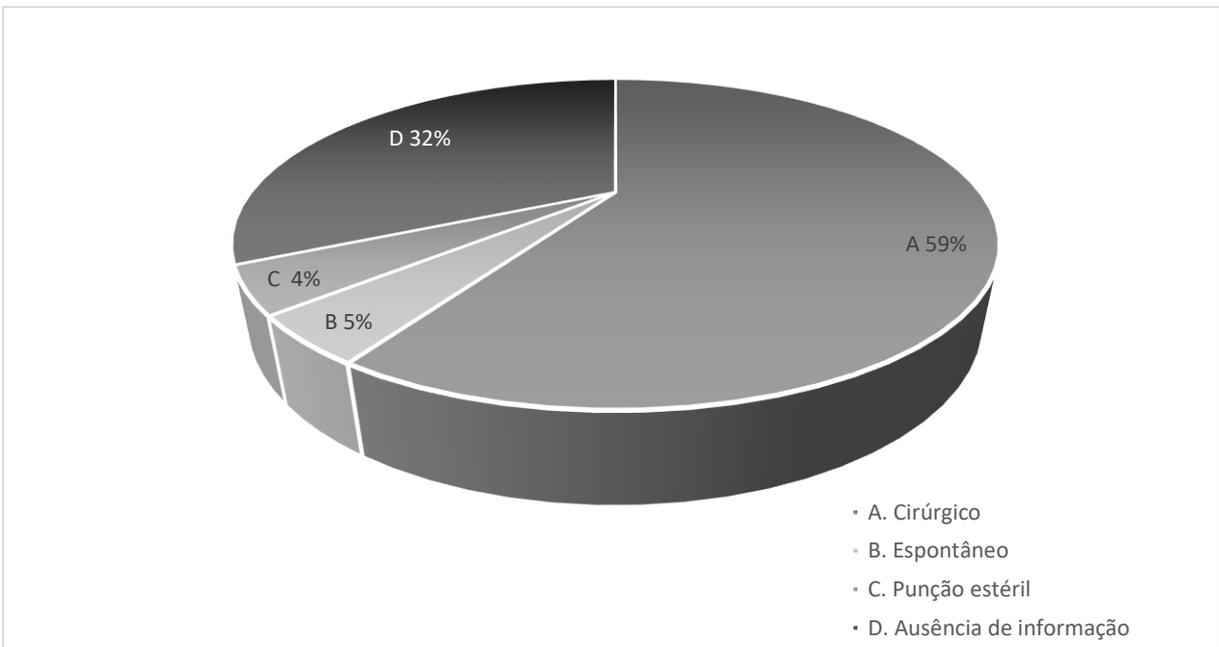
68,18% dos pacientes não apresentaram nenhuma doença de base.

Pela característica da lesão (Figura 3), pôde-se observar que a maioria apresentou hiperemia local (53%) e calor local (53%), já a presença de flutuação foi de menor incidência (6%).



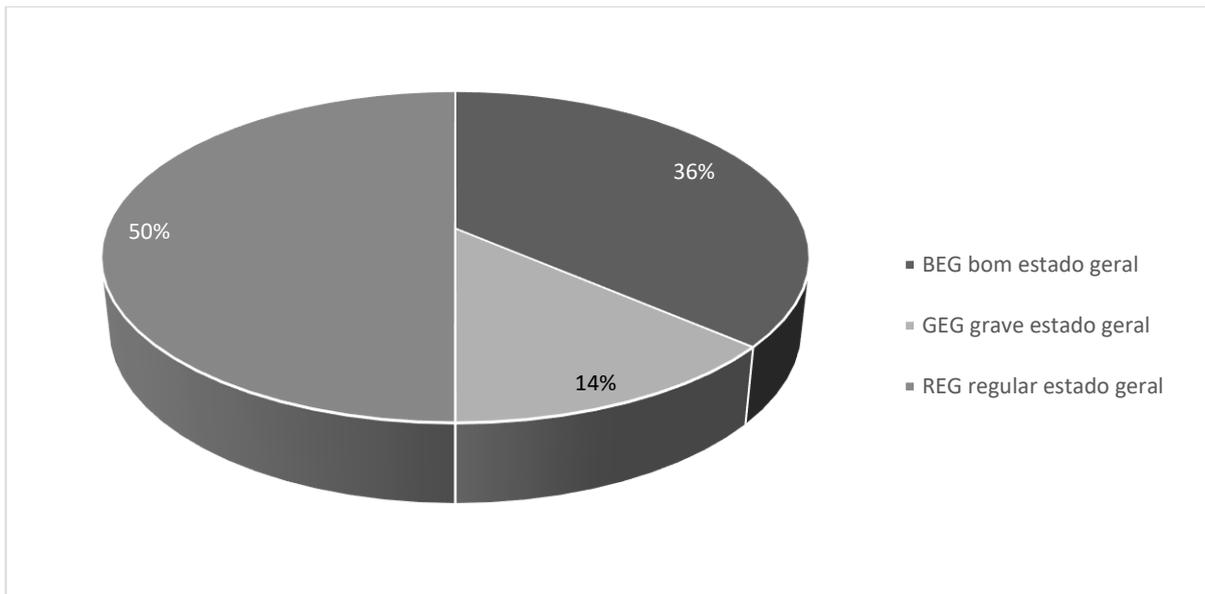
**Figura 3.** Descrição das características da lesão: Hiperemia, calor, dor e flutuação (pele subjacente se torna fina e com sensação de flutuação ao toque).

Houve necessidade de drenagem cirúrgica do abscesso (Figura 4) em 68% dos pacientes que apresentaram abscesso, com drenagem cirúrgica do abscesso correspondeu a 59% da amostra total.



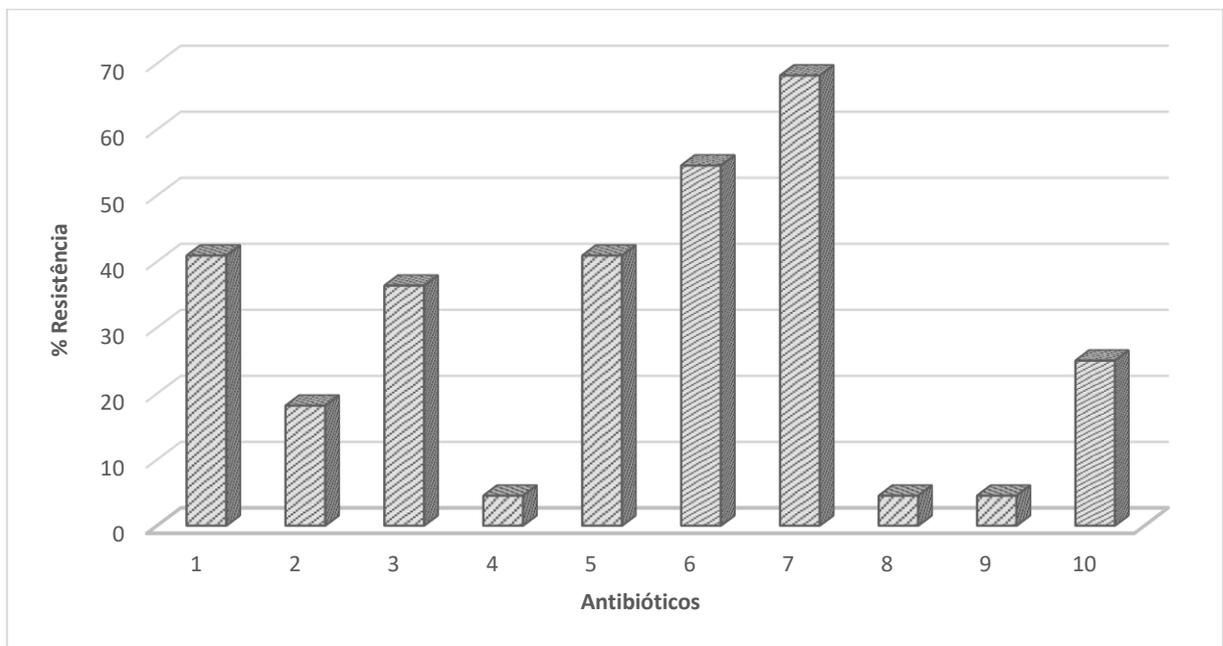
**Figura 4.** Formas de drenagem do abscesso.

Considerou-se que 50% dos pacientes apresentavam estado geral regular no momento da admissão (Figura 5).



**Figura 5.** Descrição do estado geral do paciente no momento da admissão.

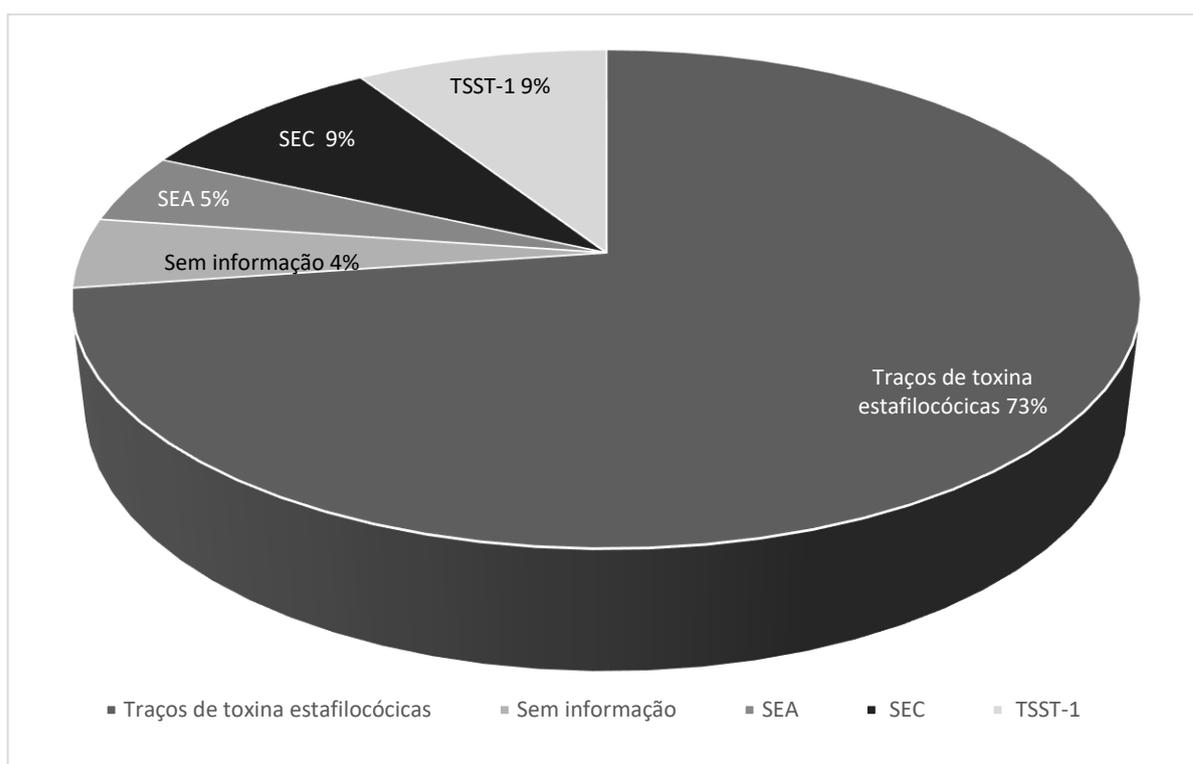
Avaliando as cepas isoladas do hospital, pode-se observar que o *Staphylococcus aureus* foi mais resistente aos antibióticos penicilina (68%) e a oxacilina (54,55%) e menos resistente aos antibióticos Gentamicina e a Sulfametoxazol (4,55%). (Figura 6).



**Figura 6.** Perfil de resistência a antibióticos de cepas de *S.aureus* isoladas no hospital. (1. Ciprofloxacina, 2. Clindamicina, 3. Eritromicina, 4. Gentamicina, 5. Levofloxacina, 6. Oxacilina, 7. Penicilina, 8. Sulfametoxazol, 9. Trimetoprima, 10. Vancomicina)

O antibiótico de rotina hospitalar no HIMABA para o tratamento da infecção cutânea por *S.aureus* foi a clindamicina (82% de sensibilidade).

A toxina TSST-1 (Figura 7) foi detectada em dois (2) pacientes (9%, 0,56 e 0,38 ng/ml). Outros dois (2) pacientes tiveram cepas com detecção positiva de SEC (9%, 4,71 e, 4,91 ng/ml), enquanto SEA foi detectado em um (1) paciente (4,55%, 4,58 ng/ml).



**Figura 7.** Identificação da toxina (Traços de toxinas = presença de toxinas porém sem nível considerável para causar intoxicação).

### 2.9.1 Descrição dos quadros clínicos dos pacientes que foram detectados *S.aureus* com produção de TSST-1, SEA E SEC.

Um dos pacientes com a identificação da toxina TSST-1 apresentava estado geral regular, artrite piogênica localizada no quadril esquerdo com secreção purulenta, hiperemia local, calor local, dor intensa no momento da internação. Como procedimento para o tratamento do paciente, foi necessária a drenagem do abscesso, e o paciente recebeu uma combinação dos antibióticos oxacilina e clindamicina. Este paciente precisou de 15 dias de internação (Tabela 2).

O segundo paciente identificado com estirpe produtora de TSST-1 tinha uma doença subjacente, aumento da dilatação pielocalicinal da pelve renal, dermatite atópica, convulsão febril e crise epiléptica. Além disso, como secundário a um quadro infeccioso, o paciente foi positivo para COVID-19. Neste caso, foi administrado cefalexina para profilaxia de infecção urinária devido ao menor ter má formação aparelho urinário (o *S. aureus* foi um achado de hemocultura), permanecendo 19 dias internado. As cepas isoladas apresentaram sensibilidade de 80% a clindamicina.

No caso da estirpe produtora de SEA, o paciente apresentou secreção purulenta na lesão, estado geral regular, recebeu drenagem cirúrgica do abscesso e clindamicina, permanecendo internado por 10 dias.

Para os dois casos de SEC, o primeiro paciente apresentou estado geral regular, paciente com histórico de trauma no tornozelo direito atendido 05 dias antes e liberado e retornou com queixa de alergia, dor persistente de grande intensidade no pé, edema calcâneo medial e lateral da face, calor local e limitação de carga no membro. A paciente recebeu drenagem cirúrgica do abscesso e associação dos antibióticos oxacilina e clindamicina, permanecendo internada por 6 dias.

No segundo caso de SEC, o paciente apresentou trauma no pé esquerdo com presença de derrame articular leve. Aumento da ecogenicidade e espessura da pele e tecido subcutâneo associado a áreas mínimas de permeabilidade anecóide na região lateral do joelho direito - processo inflamatório/infeccioso local. Além disso, derrame pleural laminar bilateral, sinais leves de ascite de nefropatia aguda subaguda, insuficiência valvular pulmonar, positivo para COVID-19. Recebeu tratamento com diferentes antibióticos, observando a evolução do paciente: oxacilina, depois ceftriaxona e gentamicina e depois meropenem. O paciente permaneceu internado por 2 meses e 4 dias.

Para o tratamento da infecção por *S.aureus*, o hospital utilizava de rotina clindamicina ou oxacilina.

A relação positiva entre doença de base e identificação de TSST-1 pode ser vista na tabela 2:

**Tabela 1.** Associação da identificação da toxina TSST-1 com outros fatores.

		Identificação de toxina TSST-1				Valor p*	
		Não		Sim			
		n	%	n	%		
Pacientes que possuem alguma doença de base (ex: obesidade, hipertensão arterial, diabetes...)	Não	11	73,33	3	60,00	0,613	
	Sim	4	26,67	2	40,00		
Características da lesão	Hiperemia local	Não	8	57,14	0	0,00	0,206
		Sim	6	42,86	3	100,00	
	Calor local	Não	7	50,00	1	33,33	0,999
		Sim	7	50,00	2	66,67	
	Dor moderada	Não	7	50,00	2	66,67	0,999
		Sim	7	50,00	1	33,33	
	Dor leve	Não	12	85,71	3	100,00	0,999
		Sim	2	14,29	0	0,00	
	Dor intensa	Não	9	64,29	1	33,33	0,537
		Sim	5	35,71	2	66,67	
	Presença de flutuação	Não	13	92,86	3	100,00	0,999
		Sim	1	7,14	0	0,00	
	Presença de abscesso	Não	5	31,25	2	40,00	0,999
		Sim	11	68,75	3	60,00	
Pacientes que fizeram uso anterior de antibióticos	Não	12	92,31	5	100,00	0,999	
	Sim	1	7,69	0	0,00		
Alergia a uso de antibióticos	Não	14	93,33	5	100,00	0,999	
	Sim	1	6,67	0	0,00		
Pacientes que foram submetidos a drenagem do abscesso	Não	4	25,00	2	40,00	0,598	
	Sim	12	75,00	3	60,00		
Formas de drenagem do abscesso:	Cirúrgica	10	83,33	3	100,00	0,999	
	Espontânea	1	8,33	0	0,00		
	Punção estéril	1	8,33	0	0,00		
	Não	11	73,33	3	60,00	0,513	

Pacientes que precisaram do dreno de penrose após drenagem do abscesso		Sim	4	26,67	2	40,00	
		BEG bom estado geral	7	43,75	1	20,00	
Estado geral do paciente no momento da internação		GEG grave estado geral	2	12,50	1	20,00	0,649
		REG regular estado geral	7	43,75	3	60,00	
Staphylococcus aureus resistente a qual antibiótico no CSV	Ciprofloxacina	Não	8	50,00	4	80,00	0,338
		Sim	8	50,00	1	20,00	
	Clindamicina	Não	13	81,25	4	80,00	0,999
		Sim	3	18,75	1	20,00	
	Eritromicina	Não	8	50,00	5	100,00	0,111
		Sim	8	50,00	0	0,00	
	Gentamicina	Não	15	93,75	5	100,00	0,999
		Sim	1	6,25	0	0,00	
	Levofloxacina	Não	8	50,00	4	80,00	0,338
		Sim	8	50,00	1	20,00	
	Oxacilina	Não	7	43,75	2	40,00	0,999
		Sim	9	56,25	3	60,00	
	Penicilina	Não	5	31,25	2	40,00	0,999
		Sim	11	68,75	3	60,00	
Sulfametoxazol	Não	16	100,00	4	80,00	0,238	
	Sim	0	0,00	1	20,00		
Trimetropim	Não	16	100,00	4	80,00	0,238	
	Sim	0	0,00	1	20,00		
Staphylococcus aureus	Benzilpenicilina	Não	13	86,67	3	60,00	0,249
		Sim	2	13,33	2	40,00	

resistente a qual antibiótico na FUNED	Clindamicina	Não	11	73,33	3	60,00	0,613
		Sim	4	26,67	2	40,00	
	Daptomicina	Não	0	0,00	0	0,00	-
		Sim	15	100,00	5	100,00	
	Eritromicina	Não	7	46,67	5	100,00	0,045
		Sim	8	53,33	0	0,00	
	Gentamicina	Não	14	93,33	5	100,00	0,999
		Sim	1	6,67	0	0,00	
	Levofloxacina	Não	8	53,33	4	80,00	0,603
		Sim	7	46,67	1	20,00	
	Oxacilina	Não	3	20,00	1	20,00	0,999
		Sim	12	80,00	4	80,00	
	Penicilina	Não	5	33,33	3	60,00	0,347
		Sim	10	66,67	2	40,00	
	Teicoplamina	Não	10	66,67	2	40,00	0,347
		Sim	5	33,33	3	60,00	
	Vancomicina	Não	11	73,33	3	60,00	0,613
		Sim	4	26,67	2	40,00	

(\*) Teste Exato de Fisher; significativo se  $p < 0,050$

### 3. DISCUSSÃO

Sabe-se que exotoxinas estafilocócicas como TSST-1 e enterotoxinas estafilocócicas (SEs) A a E e G, enterotoxinas semelhantes a estafilococos (SEI) H a X, estimulam o sistema imunológico pela ativação de células T e inflamação em vários órgãos. Tem um papel significativo na patogênese de alguns distúrbios pediátricos principalmente no que diz respeito à apresentação clínica de sepse e choque séptico (MEMPEL et al., 2003, KRAKAUER, 2019, POPUGAILO et al., 2019, SCHLIEVERT et al., 2021).

Os superantígenos como os produzidos pelo *S. aureus* geram uma produção exagerada de citocinas inflamatórias, maior que as produzidas por outros antígenos, provocando choque tóxico (MEMPEL et al., 2003, KRAKAUER, 2019, POPUGAILO et al., 2019). As toxinas estafilocócicas A e B, TSST-1, superestimulam o sistema imunológico, além disso, superantígenos (SEA e SEB, respectivamente) podem produzir efeitos colaterais graves. Por exemplo, os superantígenos estimulam 20 a 30% das células T produzindo, como resultado, a ativação de diferentes citocinas. Além disso, diferentemente de outros antígenos, as toxinas estafilocócicas (SEs) podem se ligar como moléculas inteiras diretamente à maioria das principais moléculas de histocompatibilidade classe II do MHC e do complexo TCR do receptor de células T juntamente com o receptor coestimulador CD28 e seus coligantes B7 (POPUGAILO et al., 2019, MUJTABA et al., 2021), que tem efeito de ativação predominantemente de células T CD4+, e células T CD8+, o que resulta em proliferação celular e liberação de citocinas (KRAKAUER, 2019, POPUGAILO et al., 2019). Isso resulta em indução excessiva de sinais inflamatórios e liberação de citocinas, incluindo interleucina 2, interferon- $\gamma$  e fator de necrose tumoral que mediará o choque tóxico (KRAKAUER, 2019, POPUGAILO et al., 2019).

Comumente as infecções por *S. aureus* são iniciadas a partir de superfícies mucosas, onde as células epiteliais dominam essas barreiras (SCHLIEVERT et al., 2019). No entanto, os queratinócitos humanos também são estimulados para a produção de quimiocina inflamatória na presença de toxinas estafilocócicas. TSST-1 e SEB estimulam interleucina-8 (IL-8), MIP-3 e IL-33. SPEA e SPEC induzem a expressão de IL-8 corroborando a inflamação (SCHLIEVERT et al., 2020). Lamy et al. (2012), estudaram 235 cepas estafilocócicas isoladas de infecção de ferida: 51%, abscesso: 21%, panarício: 8%, pé diabético: 7% e furunculose: 3% de pacientes

adultos para genes que codificam enterotoxina estafilocócica A (mar), toxina da síndrome do choque tóxico 1 TTST-1, com identificação 22,1% de SEA, 13,2 % TTST-1 Maina et al., (2012) demonstraram que SEA e SEC são potentes toxinas superantigênicas e eméticas.

Neste estudo, 2 pacientes (9%) com cepas isoladas de *S aureus* de abscessos cutâneos foram positivos para SEC (4,71 e 4,91 ng/ml); 1 paciente (4,5%) de cepa isolada de abscesso cutâneo foi positivo para SEA (4,58 ng/ml) ; 2 pacientes (9%) com cepas positivas para TSST-1 foram isoladas de 1 caso de abscesso cutâneo (TSST-1 0,38 ng/ml) e outra um achado de hemocultura de um paciente com dermatite atópica (TSST-1 0,56 ng/ml).

Quanto à identificação da toxina superantígena, TSST-1 (9,09%) ambos os pacientes permaneceram por longo tempo internados por 15 e 19 dias, respectivamente.

Vu et. al. (2015) demonstraram experimentalmente usando coelhos brancos da Nova Zelândia, que existe uma diminuição da tolerância à glicose estimulada pela toxina TSST1, com uma relação positiva entre diabetes tipo II, obesidade, inflamação sistêmica aumentada e níveis elevados de endotoxinas na corrente sanguínea.

Neste estudo uma relação positiva entre a doença subjacente como diabetes, obesidade e hipertensão arterial e a identificação de TSST-1 pode ser observada na tabela 2 (associação da identificação da toxina TSST-1 com outros fatores)

Noorbakhsh et al. (2021) avaliaram a incidência de TSST-1 ao longo de 2 anos, estudando 44 crianças internadas em dois hospitais de referência nos hospitais Rasoul Akram e Bahrami, em Teerã, Irã. Eles detectaram em 2 pacientes TSST-1 positivo, a partir de uma hemocultura positiva para *S. aureus*. Outros 6 pacientes (14%) com hemoculturas negativas para *S. aureus*, também foram positivas para este superantígeno. No trabalho do Hospital Estadual Infantil e Maternidade Dr. Alzir Bernardino Alves, HIMABA de Vila Velha, Espírito Santo, no período de junho de 2021 a julho de 2022 (1 ano), em pacientes de 0 a 18 anos, em 22 pacientes (metade dos pacientes de Noorbakhsh), em 2 hemoculturas positivas para *S.aureus* foram detectadas TSST-1. Essa comparação demonstra uma maior incidência no serviço do HIMABA.

Miller et al. (2015), avaliaram o efeito da clindamicina versus trimetoprima-sulfametoxazol para o tratamento de infecções cutâneas não complicadas. Eles não

encontraram diferenças significativas, nem na eficácia nem nos efeitos colaterais desses antibióticos. Neste trabalho as cepas isoladas apresentaram maior sensibilidade para gentamicina ao invés de oxacilina, podendo sugerir que o antibiótico gentamicina (95%) pode ser outra opção a ser utilizado em associação com clindamicina. Além disso, a eritromicina poderia ser o antibiótico prescrito para cuidados domiciliares, para abscessos cutâneos sem envolvimento sistêmico, pois as cepas isoladas foram 100% sensíveis a esse antibiótico. Como também o sulfametoxazol e trimetoprim 95% de sensibilidade, e apresenta melhor tolerância a ingestão oral do que a eritromicina e uma posologia com intervalos de oferta de 12/12 horas para manter os níveis sanguíneos em relação a eritromicina que deve ser ofertada de 6/6 horas

Das 22 cepas de *S. aureus* recuperadas, 2 (9%) produziram a toxina TSST-1 sendo mais sensíveis a gentamicina, sulfametoxazol trimetoprima e clindamicina. Além disso, 2 (9%) pacientes detectaram *S. aureus* com produção de SEC (4,71 e 4,91 ng/ml), enquanto SEA (4,58 ng/ml) foi observado em 1 paciente (4,55%). Sendo ambas as cepas produtoras dessas toxinas SEA E SEC também apresentarem melhor sensibilidade a gentamicina, sulfametoxazol trimetoprima e clindamicina.

Neste trabalho podemos sugerir que a associação entre um antibiótico bactericida (oxacilina ou gentamicina) com um antibiótico bacteriostático (clindamicina), possa ser uma boa escolha para o tratamento parenteral dos pacientes internados (atuando na lise da bactéria quanto na produção de toxinas), ao invés de uma terapia com apenas um antibiótico. E na alta desses pacientes, para complementação do tratamento quando se fizer necessário, o uso enteral de eritromicina pode ser sugerido como escolha nos pacientes com alergia a sulfametoxazol trimetoprima, pois ambos apresentam mesma sensibilidade in vitro.

Enquanto um antígeno peptídico convencional estimula apenas 1 a cada 105 linfócitos circulantes capazes de reconhecer cada epítipo estrutural exclusivo, um superantígeno (p.ex., toxina as síndrome do choque-tóxico-d1 de *Staphylococcus aureus*, que se liga à região V-beta-2 das células T), consegue estimular até 10 a 20% de toda a população de linfócitos como de macrófagos que, por sua vez, leva a síntese e liberação descontrolada de citocinas inflamatórias. A imunoativação induzida pelo superantígeno pode terminar em choque séptico, se o processo não for controlado (LAROSA, OPAL, 2011).

Uma melhor compreensão do papel das toxinas, durante os diferentes estágios da infecção pode nos permitir planejar com precisão medicamentos, vacinas anti

toxinas ou intervenções terapêuticas na regulação bacteriana (L.BETTIN, LORENA, 2021).

A identificação da toxina estafilocócica não faz parte da rotina do hospital HIMABA. No entanto, pode-se observar que a identificação desses superantígenos aumenta o tempo de internação do paciente. Podendo ser mais patogênica em pacientes com doenças de base associadas. E tivemos em comparação a outro serviço uma percentagem maior de presença da TSST-1, que pode levar a quadros graves como a síndrome da resposta inflamatória sistêmica, choque e falência de múltiplos órgãos. Por esse mesmo motivo, é interessante a proposta de associação de antibióticos bacteriostáticos (inibem produção proteínas) e bactericidas. (levando a lesão da bactéria).

## 4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados “in vitro” neste trabalho, para adequação da prescrição antibiótica deve-se utilizar uma associação de antibióticos bacteriostáticos (inibem produção proteínas) e bactericidas (levando a lesão da bactéria). A associação da clindamicina – bacteriostático – (82% sensibilidade) com a gentamicina – bactericida - (95,45% sensibilidade) in vitro, pode se mostrar melhor escolha a associação com a oxacilina – bactericida – ( 55% sensibilidade).

## 5. PERSPECTIVAS

Atualmente o tratamento do choque séptico na maioria dos serviços é realizado pelo uso de antibióticos, terapia de suporte com a administração de expansores de soluções de cristaloides e em alguns casos com plasma e albumina, agentes vasopressores e ocasionalmente esteroides (lesão de supra-renal), hormônios da tireoide (lesão de tireóide). No passado realizava-se também exsanguíneo- transfusão nesses pacientes, e hoje em determinados quadros a plasmaferese, e nos casos que evoluem com insuficiência renal a hemodiálise e hoje principalmente a hemodiálise contínua através do sistema Prismaflex, que retira também marcadores inflamatórios que pioram a condição do paciente.

Recentemente, os tratamentos anti-virulência, que neutraliza direta ou indiretamente as toxinas de *S.aureus* mostraram-se promissores. As toxinas são estruturas proteicas extra-celulares que aumentam a patogenicidade. Curiosamente, algumas dessas toxinas foram detectadas em infecções por MRSA com mais frequência do que em casos não MRSA (MANSUR et al., 2021).

Tratamentos alternativos representam um campo promissor de investigação devido a falta de novas classes de antibióticos. Drogas com análogos sintéticos que poderiam inibir os fatores de virulência. Novas opções estão agora em estudo com foco em moléculas ou compostos biológicos para interferir com toxinas, constituindo uma nova geração de tratamentos anti-estafilocócicos promissores: Anticorpos (imunização passiva, forneceria tratamento imediato para pacientes infectados, reduzindo assim a gravidade das infecções por *S.aureus* ); Nanopartículas (imitam membranas celulares, como lipossomos, no sequestro de toxinas bacterianas);

Peptídeos inibidores de RNA III (reduzem a expressão da toxina, bem como outros fatores de virulência); Peptídeos antimicrobianos (AMPs) (Fazem parte da imunidade nata de praticamente todos os organismos vivos, possuem um amplo espectro de atividade bacteriana, mas também podem exibir atividades antitoxinas); Compostos naturais (ciclodextrina modificado = IB201; aloe emodina; apigenina (composto salsa); hidrato de morina flavanóide da *Maclura pomifera* (laranja Osage), folhas de *Psidium guajava* (goiaba comum) e outras) (MANSUR et al., 2021).

Apesar de inúmeras tentativas, atualmente não há vacinação contra *S.aureus*. Durante a colonização e infecção do hospedeiro o *S.aureus* secreta uma ampla gama de toxinas, o que representa um desafio para a produção de vacinas. Ainda em pesquisa encontramos: IBT-V02: vacina multivalente (heptavalente = alfa hemolisina, PVL (leucocidina Panton-Valentine), enterotoxinas A e B, TSST-1 entre outras), gera uma resposta de anticorpos que apresenta reação cruzada com 12 a 15 toxinas de *S.aureus* (Karauzun H., et al, 2013); Penta Staph da Glaxo Smith Kline (antígeno PVL); STEBVax (SEB), impede a interação da toxina com o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II (CHEN et al., 2016); Também em pesquisa uma variante TSST-1 recombinante (ROETZER et.al, 2017).

Antibióticos bacteriostáticos limitam o crescimento de bactérias por interferirem com a produção de proteína, a replicação do DNA ou outros aspectos do metabolismo celular (impede a multiplicação bacteriana). Os agentes bacteriostáticos são frequentemente inibidores de síntese proteica e atuam por ligação aos ribossomos, sendo assim também inibindo a síntese de toxinas, que são proteínas. Antibióticos bactericidas são aqueles capazes de matar ou lesar irreversivelmente a bactéria, como a penicilina que interfere na síntese da parede da bactéria. A adequação da prescrição de antibióticos não é apenas essencial para o cuidado do paciente, mas também contribui para o controle para limitar a propagação microbiana.

O problema da resistência aos antibióticos, requerem o desenvolvimento de novas drogas terapêuticas que funcionem em princípios distintos daqueles atualmente disponíveis para os antibióticos. As terapias antitoxinas visam doenças que são mais perigosas para o paciente, pneumonias, osteomielite, sepse, endocardite e tem a capacidade de aumentar as chances de sobrevivência. Um dos benefícios desses tratamentos anti-toxina é seu uso em conjunto com antibióticos para combater as infecções mais graves. No entanto, o potencial dos tratamentos com antitoxinas para

combater a resistência aos antibióticos sem exercer pressão seletiva severa sobre a população bacteriana precisa de mais investigação (SILVEIRA, PERES, 2017).

## 6. REFERÊNCIAS

- AHMAD-MANSOUR, N. et al. *Staphylococcus aureus* toxins: An update on their pathogenic properties and potential treatments. *Toxins*, v. 13, n. 10, p. 677, 2021.
- ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria 930/92 do Ministério da Saúde. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2012/prt0930\\_10\\_05\\_2012.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2012/prt0930_10_05_2012.html)>. Acesso em: 24 out. 2021.
- ASKARIAN F., WAGNER T., JOHANNESSEN M., NIZET V.. *Staphylococcus aureus* modulação de respostas imunes inatas através de receptores tipo Toll (TLR), tipo (NOD) (NLR) e lectina tipo C (CLR). *FEMS Microbiol. N.* 42: 656–671, 2018.
- AZEREDO DA SILVEIRA, S.; PEREZ, A.. Improving the fate of severely infected patients: the promise of anti-toxin treatments and superiority trials. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, v. 15, n. 11, p. 973-975, 2017.
- BAGGETT, H.C. et al. Um surto de infecções cutâneas por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina de início na comunidade, 2014.
- BERNATOVÁ, S. et al. Following the mechanisms of bacteriostatic versus bactericidal action using Raman spectroscopy. **Molecules**, v. 18, n. 11, p. 13188-13199, 2013.
- CARVALHO S. S., MAINIZUKA E. M., F. P. P. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina/oxacilina como ameaça hospitalar e à saúde pública no Brasil. *Journal of Infectious Diseases*, The, p. 71–76, 2010.
- CDC. Centros de Controle e Prevenção de Doenças. Síndrome do choque tóxico (exceto estreptocócica) (TSS) 2011 definição de caso. Disponível em: <<https://wwwn.cdc.gov/nndss/conditions/toxic-shock-syndrome-other-than-streptococcal/case-definition/2011/>>. Acesso em 23 de janeiro de 2022.
- CAVALCANTI, S. M. D. M. et al. Prevalência de *Staphylococcus aureus* introduzido em unidades de terapia intensiva de um hospital universitário. *Revista Brasileira de Infectologia*, v. 9, n. 1, pág. 56–63, 2005.
- CÂMARAS H.F. Resistência mediada por proteína de ligação à penicilina em pneumococos e estafilococos. *J Infect Dis.* 1999. 179 Supl 2:S353-9.
- CHEN, W. H. et al. Safety and immunogenicity of a parenterally administered, structure-based rationally modified recombinant staphylococcal enterotoxin B protein vaccine, STEBVax. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 23, n. 12, p. 918-925, 2016.

CHEN, H. et al. Exploring the Role of *Staphylococcus aureus* in Inflammatory Diseases. *Toxins*, v. 14, n. 7, p. 464, 2022.

DANTES, R. et al.. Carga nacional de infecções invasivas por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina, Estados Unidos. *JAMA Medicina Interna*, v. 173, n. 21, pág. 1970–1979, 2013.

EDWARDS, A. M.; MASSEY, R. C.. How does *Staphylococcus aureus* escape the bloodstream?. *Trends in microbiology*, n.19, v.4, p. 184–190, 2011.

ELAHI S, FUJIKAWA, H. Produção e Inativação da Enterotoxina A Estafilocócica em Pães Durante os Processos de Produção. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. n.61,v.4, p.138-142., 2020.

FERREIRA-DUARTE, A. P. et al. MHC class II activation and interferon- $\gamma$  mediate the inhibition of neutrophils and eosinophils by staphylococcal enterotoxin type A (SEA). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 7, p. 518, 2017.

FOSTER, T. J. et al. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature reviews microbiology*, v. 12, n. 1, p. 49-62, 2014.

GONZÁLEZ-PÉREZ, C. J. et al. Morphometric parameters of foodborne related-pathogens estimated by transmission electron microscopy and their relation to optical density and colony forming units. *Journal of microbiological methods*, v. 165, p. 105691, 2019.

GOSBELL, I. B. Diagnosis and management of catheter-related bloodstream infections due to *Staphylococcus aureus*. *Internal medicine journal*, v. 35, p. S45-62, 2005.

GUO, Y. et al. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, v. 10, p. 107, 2020.

HULTÉN, K. G. et al. Infecções por *Staphylococcus aureus* Adquiridas em Hospital no Hospital Infantil do Texas, 2001–2007. *Infectar. Hospital de Controle. Epidemiol.*, v. 31, n. 2, pág. 183–190, 2010.

JOHNSON, H. M.; RUSSELL, J. K.; PONTZER, C. H. Staphylococcal enterotoxin superantigens. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, v. 198, n. 3, p. 765-771, 1991.

KARAUZUM, H. et al. Structurally designed attenuated subunit vaccines for *S. aureus* LukS-PV and LukF-PV confer protection in a mouse bacteremia model. *PLoS One*, v. 8, n. 6, p. e65384, 2013.

KAZAKOVA, S.; HAGEMAN, J.; MATAVA, M. Um Clone de Resistente à Meticilina. *N Engl J Med*. v. 352, pág. 468–475, 2005.

KRAKAUER, T. Superantígenos estafilocócicos: Toxinas pirogênicas induzem choque tóxico. *Toxinas*, v. 11, n. 3, pág. 1–19, 2019.

KRAKAUER, T. Immune response to staphylococcal superantigens. *Immunologic research*, v. 20, n. 3, p. 163-173, 1999.

KULHANKOVA, K; KING, J.; SALGADO-PABÓN, W.. Staphylococcal toxic shock syndrome: superantigen-mediated enhancement of endotoxin shock and adaptive immune suppression. *Immunologic research*, v. 59, n. 1, p. 182-187, 2014.

LAMY, B. et al. Antibacterial resistance, genes encoding toxins and genetic background among *Staphylococcus aureus* isolated from community-acquired skin and soft tissue infections in France: a national prospective survey. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, v. 31, n. 6, p. 1279-1284, 2012.

LAROSA S, OPAL SM. Sepsis. *ACP Medicine*. n.1, v.15, 2007.

LI, Z. et al. Respostas prejudicadas dos linfócitos T durante a infecção por *Staphylococcus aureus* na infância. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 225, n. 1, pág. 177–185, 2022.

LOBRITZ, M. A. et al. Antibiotic efficacy is linked to bacterial cellular respiration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 112, n. 27, p. 8173-8180, 2015.

LOPES, H. V.. CA-MRSA: um novo problema para o infectologista. *Rev. panam. infectol*, p. 34-36, 2005.

LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* infections. *New England journal of medicine*, v. 339, n. 8, p. 520-532, 1998.

MACDONALD, K. L. et al. Síndrome do Choque Tóxico Influenza e Doença Gripal. *Jama*, v. 257, n. 8, pág. 1053–8, 1987.

MAINA, E. K. et al. A enterotoxina A estafilocócica tem atividades superantigênicas e eméticas potentes, mas não atividade diarreica. *Jornal Internacional de Microbiologia Médica*, v. 302, n. 2, pág. 88–95, 2012.

MEMPEL, M. et al. High prevalence of superantigens associated with the *egc* locus in *Staphylococcus aureus* isolates from patients with atopic eczema. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 22, n. 5, p. 306-309, 2003.

NOORBAKHS S, RABIEI A.A, RAHBARIMANESH A.A, HAGHIGHI M, ASHOURI, S. Pesquisando a toxina -1 da síndrome do choque tóxico estafilocócico em crianças

sépticas com culturas negativas: um estudo comparativo em Teerã, Irã. *Infectar alvos de drogas de desordem*. n. 21, v. 2, p. 187-192, 2021.

ONDUSKO, D. S.; NOLT, D. Staphylococcus aureus. *Pediatrics in Review*, v. 39, n. 6, pág. 287–298, 2018.

PALAVECINO, E. Infecções por Staphylococcus aureus resistentes à meticilina adquiridas na comunidade, *Clin. Laboratório. Med.*, V. 24, Ed. 2, 403-418, 2004.

PEREIRA, V. C.; CUNHA, M. L. R.. Coagulase-negative staphylococci strains resistant to oxacillin isolated from neonatal blood cultures. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 108, p. 939-942, 2013.

PAWAR, S.; YAO, X.; LU, C. D. Resposta ao estresse de espermina e oxacilina na síntese da parede celular e análise da expressão gênica global em *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina. *Genes and Genomics*, v. 41, n. 1, pág. 43–59, 2019.

PINCHUK, I., BESWICK, E., REYES, V. Staphylococcal Enterotoxins. *Toxinas*. 2. 2177-97, 2010.

POPUGAILO A, ROTFOGEL Z, SUPPER E, HILLMAN D, KAEMPFER R. Superantígenos estafilocócicos e estreptocócicos Gatilho B7/CD28 Envolvimento do receptor coestimulatório para hiperinduzir citocinas inflamatórias. *Front Immunol*. n. 10, p. 942, 2019.

POTTINGER, Paul S. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. *Medical Clinics*, v. 97, n. 4, p. 601-619, 2013.

QUAN, L.; MORITA, R.; KAWAKAMI, S.. Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) antibody levels in Japanese children. *Burns*, v. 36, n. 5, p. 716-721, 2010.

ROCHA, B. D. O. et al. Infecções bacterianas da pele e tecido celular subcutâneo em recém-nascidos. v. 4, n. 1, pág. 2–7, 2020.

ROETZER, A.; JILMA, B.; EIBL, M. M. Vaccine against toxic shock syndrome in a first-in-man clinical trial. *Expert review of vaccines*, v. 16, n. 2, p. 81-83, 2017.

SATO A., YAMAGUCHI T., HAMADA M., ONO D., SONODA S., OSHIRO T., et al.. Características morfológicas e biológicas do biofilme de Staphylococcus aureus formado na presença de plasma . *Microb. Medicamento. Resistir*. 25 , 668-676, 2019.

SETHI, S.; CHAKRABORTY, T. Role of TLR-/NLR-signaling and the associated cytokines involved in recruitment of neutrophils in murine models of *Staphylococcus aureus* infection. *Virulence*, v. 2, n. 4, p. 316-328, 2011.

SCHLIEVERT, P. M. et al. Staphylococcal superantigens stimulate epithelial cells through CD40 to produce chemokines. *MBio*, v. 10, n. 2, p. e00214-19, 2019.

SHAHIN, R. et al. Transporte de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em uma creche após um caso de doença. v. 153, pág. 864–868, 1999.

TAM, K.; TORRES, V. J. *Staphylococcus aureus* secreted toxins and extracellular enzymes. *Microbiology spectrum*, v. 7, n. 2, 2019.

TAYEB-FLIGELMAN, E. et al. The cytotoxic *Staphylococcus aureus* PSM $\alpha$ 3 reveals a cross- $\alpha$  amyloid-like fibril. *Science*, v. 355, n. 6327, p. 831-833, 2017.

VIEIRA, M.C; GONTIJO, A.P.; FONTES, S.M et al.. Susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados em acadêmicos de enfermagem e medicina. *Salus Journal of Health Science*. Janeiro, 2017.