

MARIA ISABELLA DE MENEZES MACEDO ASSUNÇÃO

Caracterização de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de pele e narinas de crianças com e sem dermatite atópica



Monografia apresentado ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como pré-requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
RIO DE JANEIRO
MARÇO/2022**

Trabalho realizado no Laboratório de Infecção Hospitalar do Departamento de Microbiologia Médica, do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a orientação da professora Kátia Regina Netto dos Santos e coorientação da doutoranda Lorryne Cardoso Guimarães.

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

MA851c Menezes Macedo Assunção, Maria Isabella
Caracterização de cepas de Staphylococcus spp.
isoladas de pele e narinas de crianças com e sem
dermatite atópica / Maria Isabella Menezes Macedo
Assunção. -- Rio de Janeiro, 2022.
71 f.

Orientadora: Kátia Regina Netto dos Santos.
Coorientadora: Lorryne Cardoso Guimarães.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto
de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia, 2022.

1. dermatite atópica. 2. Staphylococcus spp. . 3.
Staphylococcus aureus. 4. resistência à meticilina .
5. genes da PVL. I. Regina Netto dos Santos, Kátia,
orient. II. Cardoso Guimarães, Lorryne, coorient.
III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

FOLHA DE APROVAÇÃO

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO**
**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO NO
RCS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO, BACHARELADO
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA**
ALUNO: **Maria Isabella de Menezes Macedo Assunção**

DRE: 118040023

BANCA EXAMINADORA: Prof. Sergio Eduardo Longo Fracalanza (Presidente)
 Profa. Fernanda Sampaio Cavalcante
 M.Sc. Denise Braga Schimidt
 Profa. Eliane de Oliveira Ferreira (Suplente)

Título da Monografia: **“Caracterização de amostras de *Staphylococcus* spp.
 isoladas de pele e narinas de crianças com e sem dermatite atópica”**

Local: Sala virtual <https://meet.google.com/jjs-thvw-uzd>Data e hora de início: **08 de março de 2022 às 10:00h**

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 10,0 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelo presidente da banca examinadora, aluno, orientador (ou coorientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 08 de março de 2022.

NOTA

___ 10,0 ___
 ___ 10,0 ___
 ___ 10,0 ___

Banca Examinadora:

Prof. Sergio Eduardo Longo Fracalanza
 Profa. Fernanda Sampaio Cavalcante
 M.Sc. Denise Braga Schimidt
 Profa. Eliane de Oliveira Ferreira


Presidente da banca


 Sergio E.L. Fracalanza
 Prof. Sergio Eduardo Longo Fracalanza


Aluno:


 Maria Isabella de Menezes Macedo Assunção

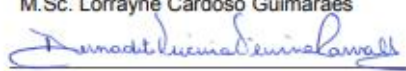
Orientador:


 Prof. Kátia Regina Netto dos Santos /

Coorientador:


 M.Sc. Lorraine Cardoso Guimarães

Coordenador
de TCC


 Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe e minha vó (*in memoriam*) por todo amor, carinho, amizade e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por mais essa oportunidade e conquista. Sua presença renovou minhas forças a cada dia nessa caminhada e por isso consegui chegar até aqui.

À professora Kátia, pela valiosa orientação, oportunidade e confiança que me auxiliaram na construção deste trabalho!

À Lorryne, minha coorientadora que vai muito além de uma “mãe científica” (parafrazeando Bruna e Carol), mas que se tornou uma amiga e fonte de inspiração. Agradeço por todo apoio durante esta jornada, toda confiança depositada em mim, por ter me ensinado a ser uma profissional melhor, por todos os puxões de orelha, os “vou te matar, Isabella” e, principalmente, por sua humanidade que a tornam um exemplo de profissional e ser humano para mim. Tenho certeza de que sem você eu não teria crescido e aprendido tanto. Muito obrigada!

À Bruna, pela parceria pessoal e científica, uma amiga que o LIH me presenteou. Eu agradeço a você imensamente por toda a ajuda, contribuição e incentivo. Além de uma profissional extremamente competente, você tem um coração de ouro. Nunca vou me esquecer das risadas aos choros que partilhamos em nosso tempo juntas. Você é parte desta conquista!

À Carol, uma cientista com futuro brilhante, muito compenetrada e dedicada aos seus objetivos, agradeço por tudo!

À Tamara, pela sua amizade, paciência e carinho nas fases mais difíceis que passei em minha jornada. Eu não consigo expressar em palavras o quão grata eu sou a você, bem como pelas valiosas contribuições durante a minha jornada científica!

À Ariane, pela amizade, carinho e palavras em momentos de desânimo. Muito obrigada!

Às amigas do grupo “seleção natural”: Angela, Hellen, Evely, Andressa, Julia Garcia, Natália, Giovanna, Rachel e Julia Motta pelo companheirismo que me permitiu dividir momentos de

frustações e alegrias. Muito obrigada por todos os momentos maravilhosos que tornaram essa jornada mais especial!

À Chrystal, uma amiga/irmã de longa data que sempre esteve ao meu lado. Obrigada pelo carinho, amor e amizade!

Ao meu namorado, Eduardo, pelo incentivo ininterrupto e companheirismo nas horas mais difíceis. Sua presença, amor e determinação me dão forças para continuar e me tornar uma pessoa melhor, sempre me estimulando a prosseguir e a alcançar voos maiores. Obrigado por sempre estar presente!

À minha mãe, por todo apoio, amor e carinho durante toda a minha vida. Você é uma fonte de inspiração, uma mulher guerreira que conquistou tudo que desejava sozinha com muita garra!

À minha vizinha, que Deus a tenha, que esteve comigo durante os meus anos finais da graduação, uma professora muito inteligente e dura na queda, um exemplo de mulher. Eu sei que o seu sonho era me ver formada, mesmo que tenha faltado tão pouco para isso, mas tenho certeza de que estará junto comigo em espírito nessa conquista.

À toda equipe do LIH: Mariana, Andryelle, Thais, Nathalia, Gabriel, Camila, Jefferson, Fernanda, Dennis. Muito obrigada pelo acolhimento, colaboração e carinho. A habilidade técnica de vocês está impressa em muitas dessas páginas. A todos, saudações!

Aos professores Sérgio Eduardo Longo Fracalanza, Fernanda Sampaio Cavalcante, Denise Braga Schmidt e Eliane de Oliveira Ferreira por terem aceitado gentilmente o convite para fazer parte da banca.

Às agências de fomento CNPq, FAPERJ e CAPES, pelo apoio financeiro que possibilitou a realização deste trabalho.

E a todos aqueles que porventura não foram mencionados, mas que contribuíram direta ou indiretamente em todas as etapas do meu trabalho. Muito obrigada!

RESUMO

MARIA ISABELLA DE MENEZES MACEDO ASSUNÇÃO

Caracterização de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de pele e narinas de crianças com e sem dermatite atópica

Orientadoras: Katia Regina Netto dos Santos e Lorraine Cardoso Guimarães

Resumo da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica que afeta principalmente pacientes pediátricos, sendo estes altamente colonizados por *S. aureus*, um patógeno de importância médica. SCN podem compor a microbiota de indivíduos saudáveis sem causar nenhum dano ao hospedeiro. Entretanto, SCN são considerados como reservatórios naturais de elementos de *SCCmec*. Amostras MRSA, por sua vez, representam um grande problema terapêutico e costumam ser associadas a casos mais graves da DA. A presença de cepas resistentes à meticilina e carreadoras de genes que codificam toxinas, como os da leucocidina de Panton-Valentine (PVL) pode agravar a doença. Este estudo teve como objetivo caracterizar amostras de *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCN) isoladas de pele com e sem lesão e narinas de 30 crianças com DA e 12 sem DA. As amostras foram avaliadas quanto ao seu perfil de susceptibilidade antimicrobiana por disco-difusão e à presença do gene *mecA* por PCR. Amostras de *S. aureus* foram também avaliadas quanto à presença dos genes da PVL por PCR. *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) de pacientes com DA tiveram seu tipo de *SCCmec* determinado por PCR-multiplex e sua diversidade clonal avaliada por PFGE. Foi observada uma alta prevalência de colonização por *S. aureus* em pacientes com DA (97% narinas, 80% sem lesão e 100% em pele com lesão). Em contrapartida, em crianças saudáveis esta colonização foi inferior (67% em narinas e 50% em pele; $p=0,018$ e $p=0,0002$, respectivamente). A maioria das amostras de *S. aureus* foi sensível à mupirocina, clindamicina e sulfametoxazol-trimetoprim. Contudo, 22 (23%) amostras foram caracterizadas como MRSA/*SCCmec* IV, colonizando nove (30%) crianças com DA e uma (8%) sem DA. Os genes da PVL foram identificados em 25 (26%) amostras, sendo 19 de crianças com DA e seis sem DA. Entre as 179 amostras de SCN (120 com DA; 59 sem DA), no grupo com DA, 60% das crianças tinham colonização nasal por *S. epidermidis*, 6,7% por *S. hominis* e nenhuma por *S. saprophyticus*; enquanto, no grupo sem DA, 91,7% tinham *S. epidermidis*, 50% *S. hominis* ($p=0,004$) e 25% *S. saprophyticus* ($p=0,019$). Em pele com lesão, 63,3% das crianças com DA tinham *S. epidermidis*, 20% *S. hominis* e 6,7% *S. saprophyticus*; e no grupo sem DA, 66,7% estavam colonizadas na pele por *S. epidermidis*, 91,7% por *S. hominis* ($p< 0,0001$) e 33,3% por *S. saprophyticus* ($p=0,046$). A resistência à meticilina foi detectada em 105 (58,6%) amostras de SCN. Cinco (55%) crianças com DA tinham amostras MRSA de narinas e pele com o mesmo perfil clonal. Um alto número de crianças com DA colonizadas por *S. aureus*, incluindo cepas MRSA e carreadoras dos genes da PVL foi detectado. Crianças com DA tenderam a ser menos colonizadas por *S. hominis* em suas narinas e pele, uma espécie apontada com ação inibitória contra *S. aureus*. A maioria dos SCN foi resistente à meticilina, um risco para transmissão de genes de resistência para *S.*

aureus. Portanto, estratégias que visem um melhor entendimento sobre a DA são necessárias, ressaltando a importância da vigilância contínua e preventiva nesta população.

Palavras-chave: dermatite atópica; *Staphylococcus* spp.; *Staphylococcus aureus*; resistência à metilina, genes da PVL, padrão de PFGE

ABSTRACT

MARIA ISABELLA DE MENEZES MACEDO ASSUNÇÃO

Characterization of *Staphylococcus* spp. isolates from skin and nares of children with and without atopic dermatitis

Orientadoras: Katia Regina Netto dos Santos e Lorryne Cardoso Guimarães

Abstract da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory disease that mainly affects pediatric patients, who are highly colonized by *S. aureus*, a pathogen of medical importance. SCN can compose the microbiota of healthy individuals without causing any harm to the host. However, SCN are considered to be natural reservoirs of SCCmec elements. The presence of this microorganism, mainly methicillin-resistant isolates that carry toxin genes, such as those of Panton-Valentine's leucocidin (PVL), can contribute to the worsening of the disease. This study aimed to characterize *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolates from skin with and without lesion and nostrils of children with 30 AD and 12 without AD. The isolates were evaluated for their antimicrobial susceptibility by disk diffusion and the presence of the *mecA* gene by PCR. *S. aureus* isolates were also evaluated for the presence of PVL genes by PCR. In addition, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) had their SCCmec type determined by multiplex-PCR and their clonal diversity was evaluated by PFGE in isolates from AD patients. A high prevalence of colonization by *S. aureus* was found in patients with AD (97% nostrils, 80% without lesion and 100% in lesioned skin). In contrast, this colonization was lower in healthy children (67% in nostrils and 50% in skin; $p=0.018$ and $p=0.0002$, respectively). Most *S. aureus* isolates were sensitive to mupirocin, clindamycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole. However, 22 (23%) isolates were characterized as MRSA/SCCmec IV, colonizing nine (30%) AD children and one (8%) without AD. PVL genes were identified in 25 isolates, 19 from AD children and six without AD. Among 179 CoNS isolates (120 from AD and 59 in the non-AD group), in the AD group, 60% had *S. epidermidis* in their nostrils, 6.7% presented *S. hominis* and none had *S. saprophyticus*; while in the group without AD, 91.7% were colonized by *S. epidermidis*, 50% by *S. hominis* ($p=0.004$) and 25% by *S. saprophyticus* ($p=0.019$). On skin with lesions, 63.3% of DA children presented *S. epidermidis*, 20% *S. hominis* and 6.7% *S. saprophyticus*; whereas, in the group without AD, 66.7% had *S. epidermidis* on the skin, 91.7% had *S. hominis* ($p<0.0001$) and 33.3% presented *S. saprophyticus* ($p=0.046$). Methicillin resistance was detected in 105 (58.6%) CoNS isolates. Five (55%) AD children had MRSA isolates from nostrils and skin with the same clonal profile. A high number of AD children colonized by *S. aureus*, including MRSA strains and carriers of the PVL genes was detected. Children with AD tended to be less colonized by *S. hominis* in their nostrils, a species shown to have an inhibitory action against *S. aureus*. Most CoNS isolates were resistant to methicillin, which could be a risk for transmission of resistance genes for *S. aureus*. Therefore, strategies that aim at a better

understanding of the AD are necessary, emphasizing the importance of continuous and preventive surveillance in this population.

Keywords: atopic dermatitis; *Staphylococcus* spp.; *Staphylococcus aureus*; methicillin resistance, PVL genes, PFGE pattern

RESUMO PARA LEIGOS

MARIA ISABELLA DE MENEZES MACEDO ASSUNÇÃO

Caracterização de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de pele e narinas de crianças com e sem dermatite atópica

Orientadoras: Katia Regina Netto dos Santos e Lorryne Cardoso Guimarães

Resumo para leigos da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

A dermatite atópica (DA) é uma doença de caráter alérgico que afeta principalmente crianças. Os indivíduos com DA são altamente colonizados por bactérias do gênero *Staphylococcus* spp., com destaque para *S. aureus*, um microrganismo que causa infecções recorrentes nestes pacientes. É importante destacar que a resistência aos antimicrobianos, em especial a resistência à meticilina, é preocupante nesse grupo bacteriano uma vez que dificulta o tratamento. Além disso, a presença de bactérias capazes de secretar uma toxina denominada leucocidina de Panton-Valentine (PVL) pode contribuir para a piora do quadro clínico do paciente. Portanto, este estudo caracterizou amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas da pele e narinas de crianças com e sem DA. Todas as amostras foram avaliadas para verificar sua susceptibilidade à meticilina. Em amostras identificadas como *S. aureus* foi avaliada também a presença dos genes da PVL e a relação clonal das amostras que se mostraram resistentes à meticilina (MRSA). Os resultados revelaram uma colonização expressiva por *S. aureus* em todos os sítios investigados nas crianças com DA em comparação com as crianças sem DA, ressaltando a alta prevalência deste patógeno em pacientes com a doença. A maioria dessas amostras foi sensível aos antimicrobianos testados (mupirocina, clindamicina e sulfametoxazol-trimetoprim). Contudo, muitas amostras foram caracterizadas como MRSA (23%), sendo a maioria delas (91%) de crianças com DA. Este fato demonstra a importância do monitoramento contínuo dessas crianças, uma vez que são suscetíveis a infecções de repetição. Os genes da PVL foram identificados em parcela significativa das amostras, colonizando crianças com e sem DA. Na análise clonal foi possível observar que amostras MRSA de pele com lesão e narinas isoladas de uma mesma criança apresentaram padrões genotípicos similares, evidenciando a auto transmissão de amostras entre diferentes sítios. A presença de outras espécies estafilocócicas também foi avaliada quanto a colonização de narinas e pele nessas crianças. Os resultados mostraram que crianças com DA são mais colonizadas em pele por *S. aureus* e *S. epidermidis*, enquanto, no grupo sem DA, há colonização principalmente por *S. epidermidis*, *S. hominis* e *S. saprophyticus*. Isso pode ocorrer, pois, a pele e narinas de crianças com DA sofrem perda substancial da diversidade microbiana, principalmente em locais onde há lesões típicas da doença. Mais da metade das amostras dessas espécies foi resistente à meticilina nos grupos com e sem DA. Portanto, esse estudo reforça a importância de se saber mais acerca da colonização em pacientes com DA que podem apresentar amostras estafilocócicas resistentes e virulentas, a fim de se entender melhor a epidemiologia da doença e o manejo terapêutico dos pacientes.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fluxograma da metodologia utilizada no presente estudo a fim de caracterizar amostras de *S. aureus* e SCN.....14
- Figura 2.** Distribuição dos 30 pacientes com DA quanto ao sexo.....25
- Figura 3.** Distribuição dos 30 pacientes com DA quanto ao SCORAD.....25
- Figura 4.** Distribuição das amostras de *Staphylococcus coagulase-negativo* selecionadas para o estudo entre os grupos com e sem DA.....28
- Figura 5.** Dendrograma dos perfis clonais e características gerais de 14 amostras MRSA representativas isoladas de pele com lesão e narinas de nove crinaças com DA.....34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição das estirpes de <i>Staphylococcus aureus</i> utilizadas como controles nos testes fenotípicos e moleculares.....	15
Tabela 2. Descrição das estirpes de <i>Staphylococcus aureus</i> utilizadas como controles nos testes fenotípicos e moleculares.....	17
Tabela 3. Descrição dos oligonucleotídeos utilizados e tamanho dos amplicons obtidos na PCR-multiplex para tipificação do <i>SCCmec</i>	21
Tabela 4. Análise comparativa da colonização por <i>Staphylococcus aureus</i> em crianças com e sem DA de acordo com o sítio de isolamento.....	26
Tabela 5. Distribuição do número de amostras de <i>Staphylococcus aureus</i> selecionadas para avaliação neste estudo de acordo com sítio de isolamento nos grupos com e sem DA.....	27
Tabela 6. Análise comparativa da colonização por <i>Staphylococcus</i> spp. em narinas e pele com e sem lesão de crianças com e sem DA.....	29
Tabela 7. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 97 amostras de <i>Staphylococcus aureus</i> isoladas de pele com lesão, pele sem lesão e narinas de crianças com e sem DA.....	30
Tabela 8. Análise comparativa da presença do gene <i>mecA</i> em amostras de <i>Staphylococcus aureus</i> isoladas de crianças com e sem DA de acordo com o sítio de isolamento.....	31
Tabela 9. Análise comparativa da presença do gene <i>mecA</i> em amostras de <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativo isoladas de crianças com e sem DA de acordo com o sítio de isolamento.....	32
Tabela 10. Análise comparativa da presença dos genes da PVL em amostras de <i>Staphylococcus aureus</i> isoladas de crianças com e sem DA.....	33

INDÍCE

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Dermatite atópica.....	1
1.1.1. Características gerais	1
1.1.2. Patogênese	2
1.2. <i>Staphylococcus</i> spp.....	3
1.2.1. Características gerais do gênero	3
1.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	4
1.2.3. <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativo	5
1.2.4. Resistência à meticilina em <i>Staphylococcus</i> spp.....	5
1.2.5 Linhagens de MRSA	7
1.3 <i>Staphylococcus</i> spp. na DA	8
1.3.1 Tratamento de infecções estafilocócicas na DA e descolonização por mupirocina	9
2. JUSTIFICATIVA	11
3. OBJETIVO	12
3.1 Objetivos Específicos	12
4. MATERIAL E MÉTODO	13
4.1 Características do estudo e amostragem.....	13
4.2 Determinação da susceptibilidade à meticilina e a outros antimicrobianos	16
4.3. Detecção do gene <i>mecA</i>	17
4.3.1. Extração do DNA bacteriano por Chelex-100 e proteinase K.....	17
4.3.2. PCR para o gene <i>mecA</i>	18
4.4. Determinação do tipo de <i>SCCmec</i> em amostras MRSA	18
4.4.1. Extração de DNA por lise de guanidina.....	18
4.4.2. Determinação do tipo de <i>SCCmec</i> por PCR-multiplex.....	19
4.5. Detecção dos genes para PVL.....	21
4.6. Técnica de PFGE.....	22
4.7. Análise estatística.....	24
5. RESULTADOS.....	25
5.1. População do estudo.....	25
5.2 Perfil de colonização por <i>Staphylococcus</i> spp.....	26
5.3 Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos em amostras de <i>Staphylococcus</i> spp....	29
.....	29
5.4 Detecção dos genes da PVL em amostras de <i>S. aureus</i>	32

5.5 Relação clonal das amostras MRSA.....	33
6. DISCUSSÃO.....	34
7. CONCLUSÃO.....	42
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
9. ANEXO1.....	55

1. INTRODUÇÃO

1.1. Dermatite atópica

1.1.1. Características gerais

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica e de caráter alérgico que afeta principalmente pacientes pediátricos (Novak-Bilić *et al.*, 2018). Sua fisiopatologia é complexa e multifatorial, envolvendo elementos de disfunção da barreira epitelial, alterações nas respostas imunológicas, disbiose, fatores genéticos e ambientais (Park *et al.*, 2013; Boothe *et al.*, 2017). A DA é caracterizada por xerose cutânea e lesões eczematosas, eritematosas e exsudativas (Aoki *et al.*, 2019). Geralmente, tem início na infância com o eczema ocorrendo de maneira cíclica, podendo perdurar até a fase adulta (Blome *et al.*, 2016; Bieber *et al.*, 2017). As lesões apresentam morfologia e distribuição típicas, situando-se em locais como mãos, pescoço, fossas poplíteas e antecubitais, dependendo da idade do indivíduo (Akdis *et al.*, 2006).

O estabelecimento de diretrizes para o diagnóstico é essencial para a identificação da DA na população (Wollenberg *et al.*, 2018; Aoki *et al.*, 2019). Os critérios de diagnóstico para DA foram inicialmente propostos por Hanifin e Rajka (1980), considerados como padrão, e levam em consideração a presença de três ou mais critérios maiores e menores. Para os critérios maiores são adotados os seguintes sinais: prurido, morfologia e distribuição típicas das lesões, dermatite crônica ou recidivante crônica, histórico pessoal ou familiar de atopia (asma, rinite alérgica, dermatite atópica), entre outros. Para os critérios menores, os seguintes sinais são adotados como referência: xerose cutânea, ictiose/queratose pilar, imunoglobulina E (IgE) sérica elevada, idade precoce de início, tendência para infecções cutâneas (principalmente por *Staphylococcus aureus*), entre outros (Hanifin e Rajka, 1980)

O *Scoring Atopic Dermatitis* (SCORAD), por sua vez, é um índice utilizado para determinar a gravidade da doença e se tornou uma ferramenta útil para o acompanhamento e avaliação desta patologia (Holm *et al.*, 2019). Os pacientes podem ser alocados em três diferentes grupos de acordo com a gravidade da doença: leve (<25), moderada (25 - 50) e grave (> 50), sendo estabelecido um valor máximo para gravidade da doença igual a 103 (*European Task Force on Atopic Dermatitis*, 1993). Essa demarcação é realizada com base na

avaliação de parâmetros objetivos, a superfície afetada e a intensidade das lesões (eritema, edema, escoriações, liquenificações, entre outros) e de parâmetros subjetivos, como prurido e perda de sono (Sacotte e Silverberg, 2018).

A terapia básica da DA é focada no tratamento tópico de hidratação e na prevenção de fatores específicos e inespecíficos que possam vir a agravar a DA, tais como: uso de sabonetes e roupas de tecidos sintéticos, contato com produtos químicos abrasivos, banhos muito quentes, entre outros (Eichenfield *et al.*, 2017). Vale ressaltar que o acompanhamento psicológico e nutricional de pacientes com DA é essencial, uma vez que a doença também engloba um contexto psicossocial (Sibbald e Drucker, 2017). No tratamento, os emolientes formam uma camada protetora sobre a pele, auxiliando na redução do prurido e do aparecimento de lesões, uma vez que devolvem o equilíbrio osmótico do local (Uhlemann *et al.*, 2014). O uso de agentes anti-inflamatórios e corticosteroides tópicos ou sistêmicos também favorecem a manutenção da integridade da barreira epitelial e levam à diminuição de infecções cutâneas por *S. aureus* (Bride *et al.*, 2019). Sendo assim, esses agentes costumam ser utilizados no tratamento da DA com o intuito de amenizar as manifestações clínicas da doença e as infecções recorrentes (Bennet e Thomsen, 2020).

1.1.2. Patogênese

Muitos genes têm sido associados à patogênese da DA, particularmente os que codificam proteínas estruturais da epiderme e os que codificam elementos-chave do sistema imunológico (Garg *et al.*, 2015; Eichenfield *et al.*, 2017). Um dos principais fatores genéticos apontados na DA é a ocorrência de mutações no gene responsável por codificar a filagrina, resultando na perda da integridade da barreira da pele e no aumento do risco da doença (Carbo *et al.*, 2015; Amat *et al.*, 2018). A filagrina é responsável por agregar a queratina e outras proteínas nas camadas mais superficiais da epiderme para a formação do estrato córneo (McClanahan *et al.*, 2019). Mutações no gene dessa proteína resultam em diversas modificações funcionais, como alterações no perfil de distribuição de lipídios, aumento do pH cutâneo, perda de água transepitelial, entre outras. Desta forma, a disfunção do gene da filagrina e as ocasionais alterações físicas na pele tornam a pele mais suscetível à penetração de microrganismos, em especial, de *S. aureus*, e de alérgenos que, por sua vez, estimulam a

resposta imunológica com um perfil Th2 (linfócitos T auxiliares 2) (Guttman-Yassky e Krueger, 2017).

Além de mutações no gene da filagrina, mutações em genes que codificam citocinas envolvidas na síntese de IgE (imunoglobulina E) podem desencadear picos da doença (Homey *et al.*, 2006; Peng e Novak, 2015). A patogênese da DA inclui ativação de linfócitos Th2, e aumento na produção de interleucinas 4, 5, 13, e 31, particularmente nas fases iniciais e picos da doença (Guttman-Yassky e Krueger, 2017). A resposta de linfócitos Th1 também tem sido identificada nas fases crônicas em conjunto com a resposta Th2 (Zaniboni *et al.*, 2016). Sabe-se que a inflamação crônica tem papel importante em desencadear os sinais e sintomas característicos da doença, incluindo prurido e lesões cutâneas, e em promover alterações na barreira cutânea (Carson *et al.*, 2012).

A interação entre a pele e bactérias comensais é a chave para o desenvolvimento da imunidade cutânea e promoção de uma barreira cutânea mais eficiente (Salava e Lauerma, 2014). A microbiota da pele possui múltiplas ações essenciais para manter a homeostase, e algumas bactérias comensais podem ser consideradas como células imunes, atuando em coordenação com as células do hospedeiro (Williams e Gallo, 2018). No entanto, pacientes com DA apresentam uma disbiose cutânea, onde microrganismos comensais potencialmente patogênicos tornam-se abundantes, favorecendo o agravamento da doença (Kobayashi *et al.*, 2015; Nakatsuji *et al.*, 2016; Meylan *et al.*, 2017). De fato, os períodos de crise da DA geralmente estão associados a uma microbiota cutânea de baixa diversidade, principalmente nas lesões de pele, com a predominância de *S. aureus*, um patógeno de grande relevância clínica (Kong *et al.*, 2012; Byrd *et al.*, 2018).

1.2. *Staphylococcus* spp.

1.2.1. Características gerais do gênero

O gênero *Staphylococcus* agrupa mais de 60 espécies (*List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*, 2021). São caracterizados por espécies que se apresentam como cocos Gram-positivos dispostos em cachos irregulares, anaeróbias facultativas, imóveis, não produtoras de esporos, halotolerantes (toleram até 10% de NaCl), catalase-positivas e resistentes à 0,04 U de bacitracina (Bessa *et al.*, 2016). As espécies desse gênero podem ser divididas em dois grandes grupos: *Staphylococcus* coagulase-positivo (SCP) e *Staphylococcus*

coagulase-negativo (SCN). Essa divisão é baseada na detecção da presença da proteína coagulase que ativa a protrombina (fator II da coagulação) do sangue, convertendo o fibrinogênio em fibrina, e, como resultado há formação de um coágulo (Boerlin *et al.*, 2003; Herman *et al.*, 2018). Embora possam colonizar indivíduos saudáveis, algumas espécies de *Staphylococcus* spp. (principalmente *S. aureus*) são altamente virulentas e responsáveis por ocasionar diversas infecções, desde abscessos a infecções sistêmicas, tais como pneumonia e endocardite, entre outras (Jenkins *et al.*, 2015).

1.2.2. *Staphylococcus aureus*

É observado que 20 a 40% da população é colonizada por essa espécie nas narinas (Becker *et al.*, 2017), enquanto outros apresentam colonização transitória ou persistente (Brown *et al.*, 2014). Sabe-se que a narina é considerada um reservatório natural para esse microrganismo. No entanto, pode colonizar outros sítios como a pele e mucosas, principalmente em locais úmidos como axilas, conjuntiva, fossa antecubital, fossa poplítea, entre outras (Aoki *et al.*, 2019; O'Sullivan *et al.*, 2019; Edslev *et al.*, 2021).

A elevada patogenicidade de *S. aureus* está relacionada à capacidade da bactéria expressar uma variedade de fatores de virulência que facilitam sua colonização, infecção e persistência no hospedeiro (Bartlett e Hulten *et al.*, 2010; Parlet, Brown e Horswill, 2019), tais como: enzimas hidrolíticas (nucleases, proteases, lipases, entre outras), toxinas (toxina da síndrome do choque tóxico, enterotoxinas, entre outras), adesinas (como as proteínas ligadoras de fibronectina A e B), entre outros (Jenul, e Horswill, 2019). Dentre os fatores de virulência, destaca-se a leucocidina de *Panton-Valentine* (PVL), uma citotoxina que pode ser secretada por cepas de *S. aureus* e que tem sido detectada em grande parte das amostras que causam lesões cutâneas necróticas e pneumonia necrosante (Brown *et al.*, 2012; Becker *et al.*, 2017; Ruffing *et al.*, 2017; Darboe *et al.*, 2019; Turner *et al.*, 2019). A PVL é uma leucocidina que gera destruição de leucócitos e dano tecidual. Consequentemente, afeta a resposta imunológica do indivíduo e induz processos inflamatórios pela destruição de células do hospedeiro. (Shallcross *et al.*, 2013; Roesner *et al.*, 2019).

1.2.3. *Staphylococcus* coagulase-negativo

Um indivíduo saudável tem seu microbioma composto por espécies variadas de microrganismos, incluindo SCNs, que acabam por auxiliar na manutenção da homeostase e na integridade da barreira epitelial. Todavia, os SCNs são microrganismos oportunistas que representam, atualmente, patógenos nosocomiais de importância clínica (Gautam *et al.*, 2017). Dentre as espécies de SCN podem ser citadas: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii*, entre outros.

Geralmente, SCN têm uma relação benigna com o seu hospedeiro, fazendo parte da microbiota comensal. Contudo, seu perfil de comensal à patógeno pode se modificar após algum estímulo externo ou interno (Morgenstern *et al.*, 2016). A quebra da barreira cutânea é um exemplo de estímulo responsável por modificar o perfil de espécies SCNs em patogênicas (Bier e Schitteck, 2021). Infecções por *Staphylococcus* spp. podem afetar pessoas de qualquer idade, com ou sem comorbidades. Grupos particulares de maior risco incluem aqueles que usam antimicrobianos intravenosos ou têm dispositivos intravenosos (por exemplo, linhas de acesso para diálise ou cateteres de longa permanência), diabéticos, pacientes imunossuprimidos, idosos e recém-nascidos (França *et al.*, 2021). O potencial patogênico de SCNs está principalmente associado à sua capacidade de formar biofilmes em dispositivos médicos (Oliveira *et al.*, 2018).

1.2.4. Resistência à metilina em *Staphylococcus* spp.

S. aureus resistente à metilina (MRSA) é um grave problema de saúde pública, causando infecções hospitalares e infecções associadas à comunidade em todo o mundo (Grace *et al.*, 2019). A análise de diversas amostras de *S. aureus* indica uma grande plasticidade em seu genoma, possibilitando a disseminação e adequação deste microrganismo de forma rápida e eficaz, incluindo a capacidade de adaptação frente a novos quimioterápicos (Cabral, Wuster e Belenky, 2018; Shopsin e Copin, 2018). Logo, existe uma crescente preocupação associada, principalmente, com amostras MRSA que, tradicionalmente estavam limitadas a hospitais (HA-MRSA, *hospital-acquired* MRSA) e com o passar das últimas décadas têm sido emergentes na comunidade (CA-MRSA, *community-acquired* MRSA). Além disso, mudanças na epidemiologia desde o surgimento de cepas CA-MRSA têm tornado

a distinção entre CA-MRSA e HA-MRSA menos clara e mais laboriosa (Álvarez *et al.*, 2019). A resistência antimicrobiana em SCN também é de importância, pois uma grande parcela das espécies clínicas é resistente à meticilina e, conseqüentemente, resistente à maioria dos antimicrobianos β -lactâmicos, tornando o tratamento de infecções difícil e oneroso (Morgenstern *et al.*, 2016).

A evolução de amostras de *Staphylococcus* spp. suscetíveis à meticilina para resistentes ocorre, principalmente, devido à aquisição de um elemento genético móvel denominado de cassete cromossômico estafilocócico (*SCCmec*) que contém o gene *mecA* (Hanssen, Kjeldsen e Sollid, 2004) (Katayana, Ito e Hiramatsu, 2000; Hiramatsu *et al.*, 2002). O gene *mecA* codifica uma proteína ligadora de penicilina alterada, a PBP2a, conferindo baixa afinidade aos β -lactâmicos (Hartman e Tomasz, 2021). Neste sentido, sabe-se que o *SCCmec* é altamente diverso em sua organização estrutural e conteúdo genético (principalmente para SCN), sendo classificado em tipos e subtipos baseado em seus complexos de genes *mec* e *ccr* (Partridge *et al.*, 2018).

Até o momento, foram descritos 15 tipos de *SCCmec* que variam de acordo com o complexo *mec* e genes *ccr* (Wang *et al.*, 2022). Sabe-se que as cepas de MRSA tipicamente associadas a ambientes hospitalares carregam os elementos *SCCmec* dos tipos I, II, III, VI e VIII, sendo geralmente multirresistentes. Por outro lado, observa-se que cepas disseminadas na comunidade frequentemente carregam elementos *SCCmec* do tipo IV, V e VII (Moosavian *et al.*, 2020). Contudo, nota-se que o *SCCmec* do tipo IV prevalece em ambientes comunitários e hospitalares, principalmente no Brasil (Chamon *et al.*, 2017; Junie *et al.*, 2018). Cepas MRSA com *SCCmec* IV não costumam apresentar multirresistência, porém são consideradas mais virulentas que cepas carregando *SCCmec* tipos II ou III (Lee *et al.*, 2018).

Ademais, os SCNs são reservatórios naturais de elementos *SCCmec*. Nesse sentido, a aquisição do *SCCmec* pode ter ocorrido a partir de *S. sciuri* (Saber *et al.*, 2017). A grande diversidade genética dentro dos elementos *SCCmec* apresentadas por SCN torna a sua identificação um desafio, refletindo uma grande flexibilidade genética das espécies (Rolo *et al.*, 2014; Rolo *et al.*, 2017). É proposto que a aquisição do *SCCmec* por *S. aureus* tenha sido de algum membro do grupo dos SCN, que poderia ser um reservatório para esse elemento genético móvel, embora o mecanismo de transferência entre as espécies permaneça desconhecido (Garza-González *et al.*, 2010; Gómez-Sanz *et al.*, 2019).

1.2.5 Linhagens de MRSA

Há múltiplos métodos de tipagem molecular utilizados rotineiramente na caracterização de clones de MRSA, tais como: a tipificação do *SCCmec* por meio de PCR *multiplex*, eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), tipificação de sequências multilocus (MLST), tipificação do gene *spa* (*spa typing*), entre outros (Enright e colaboradores 2000; McDougal *et al.*, 2003; Milheiriço, Oliveira e De Lencastre, 2007). A técnica de PFGE provou-se exitosa na investigação de surtos nosocomiais, bem como na identificação de clones de MRSA aptos à disseminação célere (clones de MRSA epidêmicos) (Valadan *et al.*, 2019). Assim como o PFGE, MLST é um método altamente discriminatório capaz de caracterizar cepas de *S. aureus* com base nas sequências de fragmentos internos de sete genes conservados (*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* e *yqiL*) e designar a estas amostras, com base na combinação de alelos, a sequência tipo (ST) (Enright *et al.*, 2000). Com base no resultado fornecido pela técnica de MLST, a análise das sequências ST possibilita que as amostras sejam alocadas em complexos clonais (CC). Sabe-se que existe uma grande variedade de CCs (1, 2, 3, 22, 30, entre outros). Para que uma amostra seja agrupada em um mesmo CC, estas devem possuir relação evolutiva. Caso apresentem divergência em mais de dois alelos são alocadas em diferentes complexos clonais (Enright *et al.*, 2000).

As principais linhagens clonais de origem comunitária e hospitalar ao redor do mundo são: USA400/*SCCmecIV*/ST1, USA1000/*SCCmecIV*/ST5 (Taiwan), USA1100 *SCCmecIV*/ST30 (clone Sudoeste do Pacífico), *SCCmecI*/ST250 (clone Arcaico), E-MRSA-15 *SCCmecIV*/ST22, USA100/*SCCmecII*/ST5 (clone Nova Iorque/Japão), USA200/*SCCmecII*/ST36, USA300/*SCCmecIV*/ST8, USA500/*SCCmecIV*/ST8, USA600/*SCCmecIV*/ST45 (clone Berlim), USA800/*SCCmecIV*/ST5 (clone Pediátrico) (Lee *et al.*, 2018). No Brasil, entre 1990 e 1992 o clone endêmico Brasileiro (CEB), ST239-III, foi correspondente a mais de 50% das amostras de *S. aureus* circulantes em ambientes nosocomiais (Gordon e Lowy, 2008; Rodriguez-Noriega *et al.*, 2010). No entanto, nos últimos anos, outras linhagens como USA400/ST1/*SCCmecIV* e o clone pediátrico USA800/ST5/*SCCmecIV* vêm sendo mais detectadas nos ambientes de assistência à saúde, indicando mudança no perfil epidemiológico das infecções estafilocócicas hospitalares brasileiras (Chamon *et al.*, 2017).

1.3 *Staphylococcus* spp. na DA

O papel de SCN na DA não está totalmente elucidado. Entretanto, observa-se diminuição na diversidade de espécies em pacientes atópicos nos primeiros anos de vida, principalmente entre *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. hominis* e *S. capitis* (Kennedy *et al.*, 2017; Blicharz *et al.*, 2020). Alguns estudos relacionam a presença de cepas de SCN com a proteção natural da microbiota, pois possuem atividade antimicrobiana na pele saudável contra *S. aureus* (Edslev *et al.*, 2021). Em estudo de Nakatsuji e colaboradores (2017), os autores descreveram que algumas cepas de SCN se mostraram capazes de produzir substâncias que inibem o crescimento de *S. aureus*, principalmente cepas de *S. epidermidis* e *S. hominis*. Curiosamente, essas cepas produtoras de antimicrobianos estavam em menor quantidade em pacientes com DA (Nakatsuji *et al.*, 2017). No entanto, a proteção cutânea induzida por SCNs é dependente da integridade da barreira epitelial, o que não é visto em pacientes atópicos (Smeden *et al.*, 2016; Weidinger *et al.*, 2016).

Estudos sugerem que as adesinas de *S. aureus* possuem mais avidéz na ligação com a pele de pacientes com DA, além disso, a pele destes pacientes aparenta deficiência em sua capacidade de gerar peptídeos antimicrobianos necessários na erradicação de agentes infecciosos, o que permitiria uma colonização mais efetiva por este patógeno (Towell *et al.*, 2021). Desta forma, no âmbito da DA, a percentagem de indivíduos com colonização nasal é de cerca de 60%, enquanto na pele com lesão pode chegar a 70% (Totté *et al.*, 2016). Tendo em vista que a pele de pacientes com DA apresenta uma notável suscetibilidade à colonização e infecção por *S. aureus*, a presença deste patógeno em alta quantidade na pele é tida como um fator relevante relacionado com o aumento da gravidade da doença (Kwon *et al.*, 2019). Neste sentido, é observado que pacientes com DA apresentando SCORAD mais elevado podem carrear cepas capazes de codificar toxinas estafilocócicas, como a PVL e superantígenos, que poderiam ser fatores agravantes do quadro clínico do paciente visto que induzem eventos inflamatórios (Cavalcante *et al.*, 2015; Blicharz *et al.*, 2019; Cavalcante *et al.*, 2021).

Além disso, a presença de cepas resistentes à meticilina dificulta o tratamento de infecções estafilocócicas nesses pacientes (Park *et al.*, 2015). Entretanto, poucos estudos brasileiros investigam a presença de cepas MRSA colonizando crianças com DA (Petry *et al.*, 2014; Abad *et al.*, 2020; Cavalcante *et al.*, 2021). No Brasil, por exemplo, estudos conduzidos

na região Sul observaram uma taxa de pacientes colonizados por MRSA extremamente baixa quando comparada com outras regiões do país (Silveira *et al.*, 2015). Entretanto, Cavalcante e colaboradores (2015) conduziram um estudo em uma clínica do município do Rio de Janeiro em que foi relatada uma alta prevalência de colonização por MRSA carreando o *SCCmec IV* e os genes da PVL. Dentre os 106 pacientes avaliados, 85% apresentaram colonização de pele por *S. aureus* e 26,6% por MRSA, sendo 23,3% das amostras carreadoras dos genes da PVL (Cavalcante *et al.*, 2015). A presença de cepas MRSA pode ser um fator agravante para a doença, sendo relacionada com redução da diversidade microbiana da pele quando comparada com cepas MSSA (Shi *et al.*, 2018). Além disso, pode ser mais frequente em indivíduos com DA moderada à grave (Abad *et al.*, 2020).

Quando se observa a clonalidade de amostras de *S. aureus* em pacientes com DA, vários estudos apontam que exista prevalência de algumas linhagens clonais na dermatite atópica (Graber *et al.*, 2011; Geoghegan, 2018). Neste sentido, alguns estudos apontam que o CC1 está intimamente relacionado com a maioria das cepas que colonizam estes indivíduos, principalmente em casos graves, ao contrário do CC30, que coloniza majoritariamente pacientes saudáveis (Alsterholm *et al.*, 2017; Hwang e Thompson, 2021). Por outro lado, em 2021, um estudo conduzido por Cavalcante e colaboradores no Rio de Janeiro relatou que pacientes com DA com infecção de pele por *S. aureus* apresentavam majoritariamente amostras pertencentes ao CC30. Esse resultado contrastante poderia estar atrelado às características da região geográfica de cada estudo. Por esse motivo, é importante a contínua vigilância da disseminação desses clones, com intuito de prever, controlar e entender um pouco mais a respeito da epidemiologia de amostras MRSA (Lakhundi e Zhang, 2018; Lee *et al.*, 2018).

1.3.1 Tratamento de infecções estafilocócicas na DA e descolonização por mupirocina

Pacientes com DA estão mais suscetíveis a infecções, principalmente por *S. aureus*, havendo necessidade da utilização de antimicrobianos para tratamento das frequentes infecções (Paller *et al.*, 2019). Essas infecções, geralmente, ocorrem na pele, possuindo como características edema, exsudato purulento, eritema, formação de crostas, sangramento, aumento da temperatura cutânea local, entre outras (Alexander *et al.*, 2020). Sendo assim, a cefalexina costuma ser o antimicrobiano de escolha para tratamento de infecções de pele por

S. aureus na DA (Petry *et al.*, 2014). Esse antimicrobiano é um β -lactâmico dentro da classe da primeira geração das cefalosporinas, que possui ação direta na parede do microrganismo (Stryjewski e Corey, 2014). Entretanto, quando a infecção é causada por cepas MRSA, esse tratamento se torna ineficaz devido à resistência aos β -lactâmicos, em geral. Portanto, como forma alternativa recorre-se à utilização de antimicrobianos como a clindamicina (lincosamidas), sulfametoxazol-trimetoprima (sulfonamidas) ou ainda ao uso sistêmico da vancomicina em infecções invasivas graves (VanEperen e Segreti, 2016). Estudos têm observado que amostras de *S. aureus* e MRSA em pacientes com DA tendem a apresentar alta susceptibilidade a esses antimicrobianos (Lee *et al.*, 2018). No entanto, o monitoramento contínuo deve ser realizado para evitar falhas terapêuticas (Hassoun *et al.*, 2017).

A mupirocina, por sua vez, é um antimicrobiano de uso tópico recomendado para descolonização da mucosa nasal e lesões cutâneas de pacientes ou profissionais da saúde colonizados por MRSA (Cavalcante *et al.*, 2015; Hakimi *et al.*, 2020). A estratégia de descolonização por aplicação tópica desse antimicrobiano, de forma individual ou em conjunto a outros antimicrobianos tópicos é realizada com intuito de limitar a disseminação deste patógeno, e assim, reduzir o grande impacto clínico (Chaudhry *et al.*, 2019). Apesar da associação entre *Staphylococcus* spp. e a DA estar bem consolidada, a orientação sobre antibióticos empíricos para infecções de pele em pacientes com DA é limitada (Briscoe *et al.*, 2019). Uma compreensão da dinâmica de colonização, rotas de transmissão, fatores de risco para progressão da infecção e condições que promovem o surgimento de resistência podem permitir a otimização de estratégias para controlar eficazmente a disseminação de cepas de *S. aureus* e MRSA (Alvarez *et al.*, 2010; Lakhud e Zhang, 2018; Kotloff *et al.*, 2019).

2. JUSTIFICATIVA

A DA é um doença que afeta principalmente pacientes pediátricos que são altamente colonizados por *S. aureus*. Amostras MRSA, por sua vez, representam um grande problema terapêutico e costumam ser associadas a casos mais graves da DA. Além disso, a presença de SCN resistentes à meticilina colonizando pacientes atópicos é preocupante visto que existe o risco de transferência destes genes de resistência para cepas de *S. aureus*. Portanto, devido ao alto número de crianças com DA colonizadas por *S. aureus* e a presença de cepas resistentes que colonizam naturalmente a pele de indivíduos saudáveis, estratégias que visem um melhor entendimento sobre esta patologia através da caracterização de amostras e de sua resistência podem contribuir para epidemiologia e terapêutica da DA, ressaltando a importância da vigilância contínua e preventiva nesta população.

3. OBJETIVO

O presente estudo visa caracterizar cepas de *Staphylococcus* spp. que colonizam pele e narinas de crianças com e sem dermatite atópica (DA).

3.1 Objetivos Específicos

- Detectar a colonização nasal e de pele (com e sem lesão) por cepas de *Staphylococcus* spp. em crianças com e sem DA;
- Detectar fenotipicamente amostras de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina e o gene *mecA*;
- Avaliar o perfil de susceptibilidade a outros antimicrobianos em amostras de *S. aureus* e o tipo de *SCCmec* em amostras resistentes à meticilina;
- Detectar os genes da PVL nas amostras de *S. aureus*;
- Determinar a clonalidade das amostras de *S. aureus* resistentes à meticilina;
- Relacionar os achados microbiológicos entre amostras de pacientes com e sem DA.
- Relacionar os achados microbiológicos com os dados clínicos dos pacientes com DA;

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Características do estudo e amostragem

Todas as amostras utilizadas foram provenientes de um estudo envolvendo crianças atendidas no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IPPMG-UFRJ). As amostras fazem parte da coleção do Laboratório de Infecção Hospitalar (LIH), localizado no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes (IMPG) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Esse trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) do IPPMG-UFRJ, sob o número CAAE: 55087616.0.0000.5264 (Anexo 1). Para este estudo, foram utilizadas amostras de *Staphylococcus* isoladas de pele e narinas de 30 pacientes com diagnóstico de DA e de 12 irmãos de crianças com DA sem a doença. As crianças sem DA não eram necessariamente irmãs das crianças com DA deste estudo, mas convivem com crianças com DA. Todas as crianças incluídas no estudo tinham idade entre dois e dez anos e a coleta foi realizada no período de junho de 2018 a novembro de 2019.

As amostras de *Staphylococcus* spp. foram previamente identificadas através de MALDI-TOF-MS (*matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry*) e PCR (aquelas que apresentaram *score* < 2) para as espécies *S. capitis* (Hirotaki *et al.*, 2011), *S. epidermidis* (Iorio *et al.*, 2011), *S. haemolyticus* (Schuenck *et al.*, 2008), *S. hominis* (Hirotaki *et al.*, 2011), *S. saprophyticus* (Paiva-Santos *et al.*, 2016) e *S. aureus* (Martineau *et al.*, 1998). As amostras se encontram estocadas a -20 °C em caldo TSB (*Trypticase Soy Broth*, BD, Becton, Dickinson and Company; Sparks, MD, EUA) acrescido de 20% (v/v) glicerol (Proquimios Comércio e Indústria Ltda; Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (Sambrock, Fritsch e Maniatis, 1989). A figura 1 apresenta o fluxograma da metodologia, enquanto a tabela 1 apresenta as características dos controles que foram usados no estudo.

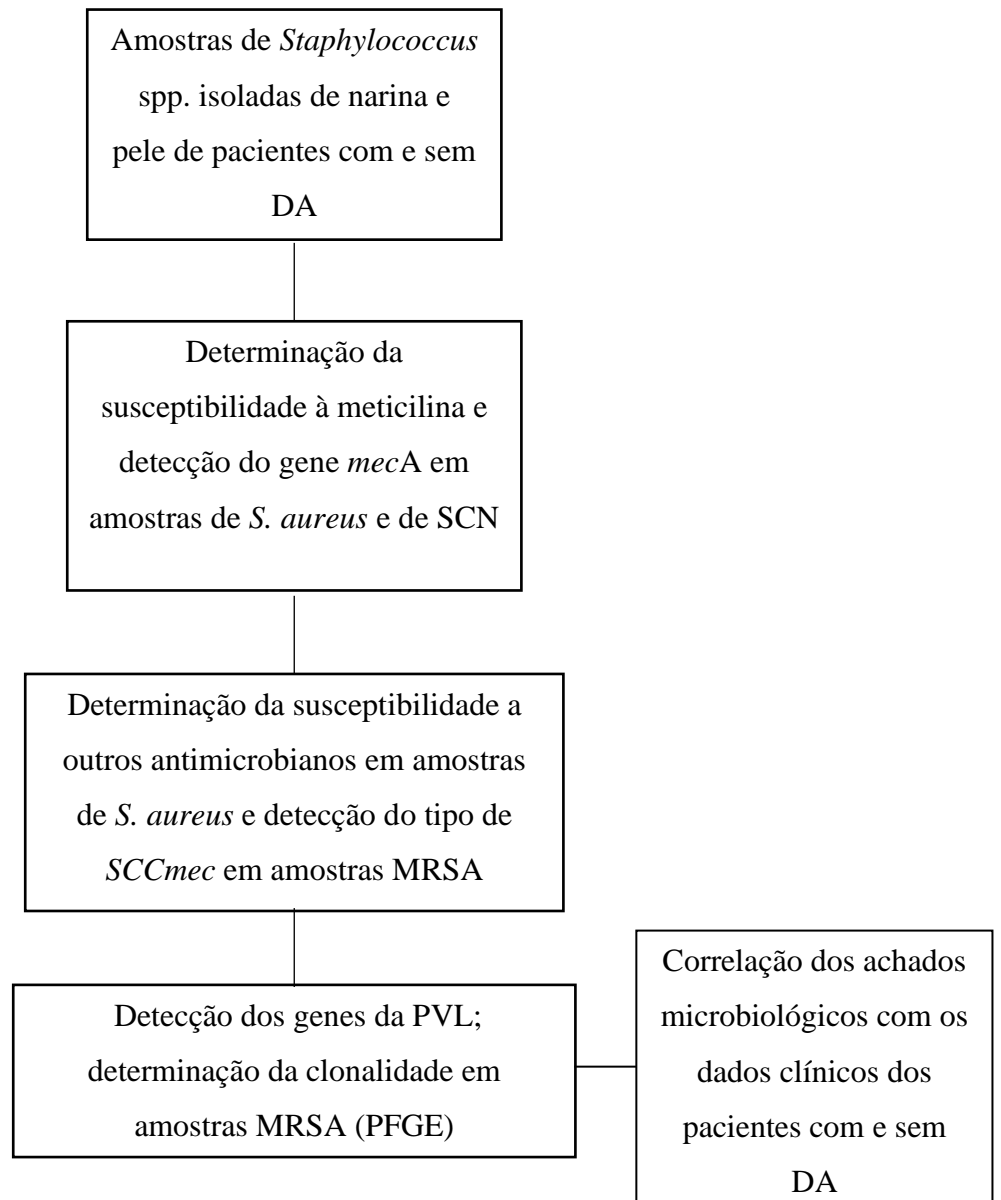


Figura 1- Fluxograma da metodologia utilizada no presente estudo a fim de caracterizar amostras de *S. aureus* e SCN.

Tabela 1- Descrição das estirpes de *Staphylococcus aureus* utilizadas como controles nos testes fenotípicos e moleculares

Amostra	Descrição	Referência
ATCC25923	Controle para teste de disco-difusão	CLSI, 2020
ATCC33591	Controle positivo para <i>mecA</i> ; <i>SCCmec</i> tipo III	-
119a	<i>SCCmec</i> tipo I	Teixeira <i>et al.</i> , 2012
Mu50	<i>SCCmec</i> tipo II	Hiramatsu <i>et al.</i> , 1997
526a	<i>SCCmec</i> tipo IV; controle positivo para PVL	Schuenck <i>et al.</i> , 2009
1462a	<i>SCCmec</i> tipo V	Chamon, 2017

ATCC – Coleção americana de cultura; CLSI – Instituto de normativas para laboratório clínico dos Estados Unidos da América; PVL – Leucocidina de Pantón-Valentine; *SCCmec* – Cassete cromossômico estafilocócico *mec*

4.2 Determinação da susceptibilidade à metilina e a outros antimicrobianos

Todas as amostras foram avaliadas quanto a susceptibilidade à metilina, conforme descrito no CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2020) e BrCAST (Comitê Brasileiro de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiano, 2020) utilizando o disco de cefoxitina (30 µg) (Oxoid, Cambridge, UK). As amostras de *S. aureus* também foram avaliadas em relação a susceptibilidade aos antimicrobianos selecionados de acordo com o tratamento clínico usual para infecção estafilocócica e descolonização em pacientes com DA, sendo estes: mupirocina (200 µg), clindamicina (2 µg) e sulfametoxazol-trimetoprim (SXT) (23,75/1,25 µg). Para a realização do teste, colônias crescidas em TSA (*Trypticase Soy Agar*, BD, Becton, Dickinson and Company; Sparks, MD, EUA) por 24 h a 35 °C foram ajustadas em solução salina a 0,85% de modo a obter densidade equivalente ao padrão de turbidez 0,5 da escala de McFarland. Em seguida, um *swab* estéril foi usado para a aplicação da suspensão bacteriana sobre uma placa de ágar Mueller Hinton (MH) (Difco Laboratories; Detroit, MI, EUA), a fim de se obter um crescimento confluyente. As placas foram incubadas por um período de 16 a 24 h em uma estufa em temperatura ajustada para 35 °C. Após incubação, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos e os valores interpretados de acordo com o preconizado pelo CLSI (2020). A Tabela 2 apresenta a interpretação dos halos de inibição para *S. aureus*. De acordo com o BrCAST (2020), amostras de SCN (com exceção de *S. epidermidis*) são consideradas como resistentes à cefoxitina quando apresentam um halo menor ou igual a 21 mm. Para *S. epidermidis*, um halo menor ou igual a 24 mm indica resistência. Ao utilizar o CLSI (2020) como referência as amostras de SCN (exceto *S. lugdunensis* que segue o mesmo critério utilizado para *S. aureus*) consideradas resistentes à metilina devem apresentar um halo menor ou igual a 24 mm. A amostra de *S. aureus* ATCC25923 foi utilizada como controle do teste de disco-difusão.

Tabela 2- Descrição dos critérios de interpretação dos halos de inibição para *Staphylococcus aureus* no teste de disco-difusão de acordo com o CLSI (2020)

Antimicrobiano	Diâmetro do halo de inibição (mm) segundo o CLSI		
	S	I	R
Cefoxitina (30 µg)	≥22	NA	≤21 ^a
Clindamicina (2 µg)	≥21 ^a	15-20 ^a	≤14 ^a
Mupirocina (200 µg)	NA	NA	AH
Sulfametoxazol- Trimetoprim (23,75/1,25 µg)	≥16 ^a	11-15 ^a	≤10 ^a

NA: não se aplica; AH - Ausência de qualquer halo de inibição é indicativo de altos níveis de resistência à mupirocina; I - Resistência intermediária; S - Sensível; R – Resistente.^a Estes valores diferem dos critérios estabelecidos pelo BrCAST (2020)

4.3 Detecção do gene *mecA*

A presença do gene *mecA* foi pesquisada em todas as amostras de *S. aureus* e SCN para confirmação do perfil de susceptibilidade à meticilina.

4.3.1. Extração do DNA bacteriano por Chelex-100

Para a extração de DNA foi utilizada a Chelex-100 (Bio-Rad; Hercules, CA, EUA), uma resina que atua como quelante de íons metálicos polivalentes, impedindo a degradação do DNA (Walsh, Metzger e Higuchi, 1991). As amostras bacterianas previamente crescidas em TSA por 24 h a 35 °C foram dispostas em microtubos contendo 200 µl de Chelex 5% (p/v) (Bio-Rad) e 2 µL de proteinase K (Sigma Chemical Company, Saint Louis, MO, EUA) a 0,1 mg/ml. Os microtubos foram colocados em banho-maria à 56 ° C por 1 h. Em seguida, as amostras passaram por um processo de agitação no vórtex por aproximadamente 10 segundos, fervura por 10 min e centrifugação a 10.000 xg por 3 min. Após estes processos, o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo previamente identificado. Por fim, o

DNA obtido foi quantificado usando o espectrofotômetro NanoVue Plus (Biochrom; Holliston, MA, EUA) e armazenado a -20 °C até o momento do uso.

4.3.2 PCR para detecção do gene *mecA*

O gene *mecA* foi pesquisado para confirmação do perfil de susceptibilidade à meticilina, segundo descrito por Del Vechio e colaboradores (1995), utilizando os oligonucleotídeos MRS1 (5'-TAGAAATGACTGAACGTCCG-3') e MRS2 (5'-TTGCGATCAATGTTACCGTAG-3'). O tamanho do amplicon esperado é de 154 pb. A amostra *S. aureus* ATCC33591 foi utilizada como controle positivo. Sendo assim, para realizar a PCR foram utilizados os seguintes reagentes para o preparo do mix: 2,5 µL de tampão da enzima 1X (10 mM de Tris-HCl e 25 mM de KCl); 2 mM de MgCl₂; 200 µM de cada deoxinucleotídeo trifosfato (Biotools; Madrid, Espanha); 1 µM de cada um dos oligonucleotídeos (MRS1 e MRS2); 1 U *Taq* polimerase ((Neotaq; Botucatu, SP, Brasil); 3 µL de DNA bacteriano (aproximadamente 50 ng); e água suficiente para completar o volume de 25 µL. Em seguida, as amostras foram levadas ao termociclador para realizar a amplificação dos fragmentos desejados, utilizando o seguinte ciclo: desnaturação inicial a 94 °C por 3 min; seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1 min, anelamento a 55 °C por 1 min, extensão a 72 °C por 1 min; e extensão final a 72 °C por 5 min. Após a amplificação dos fragmentos de DNA foi realizada a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, acrescido de Unisafe 0,5X (Unisciense Corporation; Miami, FL, EUA), 80V por 1 h e 30 min. Por fim, o resultado foi visualizado em um transiluminador UV (Kasvi; Curitiba, PN, Brasil).

4.4 Determinação do tipo de *SCCmec* das amostras MRSA

4.4.1 Extração de DNA por lise de guanidina

Para determinação do tipo de *SCCmec*, as amostras MRSA tiveram o DNA extraído por lise de guanidina conforme descrito por Pitcher, Sauders & Owen (1989). As amostras foram crescidas em TSB (BD) e incubadas a 35 °C por 24 h. Em seguida, 1 mL do crescimento bacteriano foi transferido para um microtubo o qual foi centrifugado a 8000 xg por 5 min (Eppendorf). O sobrenadante foi descartado e foram adicionados 1,5 mL de tampão TE [Tris (Invitrogen; Carlsbad, CA, EUA) 10 mM e EDTA (Sigma Chemical Company, Saint Louis, MO,

EUA) 1 mM] pH 7,8. O microtubo foi novamente centrifugado a 8000xg por 5 min e o sobrenadante foi descartado. Foram adicionados 100 µL de solução de lise [1 mL de tampão TE, 50 mg de lisozima (Sigma Chemical Company, Saint Louis, MO, EUA), 50 µL de 53 BRIJ 0,5% (Sigma Chemical Company, Saint Louis, MO, EUA)] acrescido de 5 µL de lisostafina (1 mg/mL, Sigma Chemical Company, Saint Louis, MO, EUA). Os microtubos foram agitados e incubados a 37°C por 1h em banho-maria. Em seguida, 500 µL de solução de isotiocianato de guanidina (Invitrogen; Carlsbad, CA, EUA) 5M foram adicionados. Os tubos foram agitados manualmente e incubados à temperatura ambiente por 10 min. As amostras foram resfriadas em gelo por 10 min e foram adicionados 250 µL de solução de acetato de amônio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) 7,5M. Após agitação manual, os tubos foram resfriados novamente em gelo por 10 min. Em seguida, foram adicionados 500 µL de solução de clorofórmio/álcool isoamílico 24:1 (v/v) (Isobar; Duque de Caxias, RJ, Brasil) e os tubos foram agitados manualmente por inversão. As amostras foram centrifugadas a 13000 xg por 10 min e as fases aquosas transferidas a um novo microtubo ao qual foram adicionados 430 µL de isopropanol (Isobar; Duque de Caxias, RJ, Brasil). Os microtubos foram agitados suavemente por inversão para homogeneização e centrifugados a 7000 xg por 20 s. O DNA precipitado foi lavado duas vezes com etanol gelado a 70% (v/v) (Proquimios; Rio de Janeiro, RJ, Brasil), centrifugado a 7000 xg por 20 s e ressuspensão em 50 µL de tampão TE. Por fim, os microtubos foram incubados a 35°C por 18 h para e estocados a -20°C até o momento do uso.

4.4.2 Determinação do tipo de *SCCmec* por PCR-multiplex

Para determinar o tipo estrutural de *SCCmec* em amostras MRSA foi realizada a técnica de PCR *multiplex* segundo descrito por Milheiriço, Oliveira e De Lencastre (2007). Os controles utilizados foram as amostras clínicas MRSA: 119a (*SCCmec* tipo I) (Teixeira *et al.*, 2012), Mu50 (*SCCmec* tipo II) (Hiramatsu *et al.*, 1997), ATCC33591 (*SCCmec* tipo III), 526a (*SCCmec* tipo IV) (Schuenck *et al.*, 2009) e 1462a (*SCCmec* tipo V) (Chamon, 2017). Sendo assim, foram utilizados os seguintes reagentes para o preparo do mix com um volume total de 50 µL: 5 µL de tampão da enzima 1X (10 mM de Tris-HCl e 25 mM de KCl); 1,5 mM de MgCl₂; 200 µM de cada deoxinucleotídeo trifosfato (Biotools); 0,2 µM dos oligonucleotídeos (Tabela 3) MRS1 e MRS2 (controle), kdpF1, kdpR1; 0,4 µM dos oligonucleotídeos (Tabela 3) CIF2 F2, CIF2 R2, RIF5 R10, RIF5 R13, *SCCmec* V J1F, *SCCmec* V J1R, *SCCmec* III

J1F, *SCCmec* III J1R; 0,8 μ M dos oligonucleotídeos (Tabela 3) *ccrC* F2, *ccrC* R2, *dcs* F2, *dcs* R2, *ccrB2* F2, *ccrB2* R2, *mecI* P2 e *mecI* P3; 1,5 U de *Taq* DNA polimerase (Neotaq); 3 μ L de DNA; e água suficiente para completar o volume. Em seguida, as amostras foram levadas ao termociclador para realizar a amplificação dos fragmentos desejados, utilizando o seguinte ciclo: desnaturação inicial a 92 °C por 4 min; seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 53 °C por 30 segundos, extensão a 72 °C por 1 min; e extensão final a 72 °C por 4 min. Após a amplificação dos fragmentos, foi realizada a eletroforese em gel de agarose a 2,0%, 80V por 1 h e 30 min. Por fim, o resultado foi visualizado em um transiluminador UV (Kasvi). A Tabela 3 apresenta a descrição dos oligonucleotídeos utilizados e tamanho dos amplicons obtidos na PCR-multiplex para tipificação do *SCCmec*.

Tabela 3- Descrição dos oligonucleotídeos utilizados e tamanho dos amplicons obtidos na PCR-multiplex para tipificação do *SCCmec*

Oligonucleotídeos	Sequência (5'-3')	Tamanho do amplicon (pb)	Especificidade (tipo de <i>SCCmec</i>)
CIF2 F2 CIF2 R2	TTCGAGTTGCTGATGAAGA ATTTACCACAAGGACTACC	495	I
ccrC F2 ccrC R2	GTA CTCTCGTTACAATGTTTG ATAATGGCTTCATGCTTAC	449	V
kdpF1 kdpR1	AATCATCTGCCATTGGTGA CGAATGAAGTGAAAGAAA	284	II
<i>mecI</i> P2 <i>mecIP3</i>	ATCAAGACTTGCATTTCAGG GCGGTTTCAATTCAC TTGT	209	II, III
dcs F2 dcs R1	CATCCTATGATAGCTTGGT CTAAATCATAGCCATGACC	342	I, II, IV
RIF5 F10 RIF5 R13	TTCTTAAGTACACGCTGAA GTCACAGTAATTCATCAA	414	III
<i>SCCmec</i> V J1F <i>SCCmec</i> V J1R	TTCTCCATTCTTGTTTCATCC AGAGACTACTGACTTAAGT	377	V
<i>SCCmec</i> III J1F <i>SCCmec</i> III J1R	CATTTGTGAAACACAGTACG GTTATTGAGACTCCTAAAGC	24	III
ccrB2 F2 ccrB2 R2	AGTTTCTCAGAATTCGAAC CCGATATAGAAWGGGTTAGC	311	II e IV
MRS1 MRS2	TAGAAATGACTGAACGTCC TTGCGATCAATGTTACCGT	154	Controle interno (<i>mecA</i>)

4.5 Detecção dos genes da PVL

A análise da presença dos genes da PVL foi realizada para todas as amostras de *S. aureus*. A detecção das porções lukS-PV e lukF-PV foi realizada como descrito por Lina e colaboradores (1999), utilizando os oligonucleotídeos lukPV-1 (5'-ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA-3') e lukPV-2 (5'-GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAGC-3'). O tamanho esperado do amplicon foi equivalente a 433 pb. A amostra 526a foi utilizada como controle positivo (Schuenck *et al.*, 2009). Sendo assim, para realizar a PCR, utilizamos os seguintes reagentes para o preparo do mix com volume final de 25 µL: 2,5 µL de tampão da enzima 1X (10 mM de Tris-HCl e 25

mM de KCl); 2 mM de MgCl₂; 200 µM de cada deoxinucleotídeo trifosfato (Biotools); 1 µM de cada um dos oligonucleotídeos (lukS-PV e lukF-PV); 1 U Taq polimerase (Neotag); 1 µL de DNA bacteriano; e água suficiente para completar o volume. As amostras foram levadas ao termociclador para realizar a amplificação dos fragmentos desejados utilizando o seguinte ciclo: desnaturação inicial a 94 °C por 2 min; seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s anelamento a 55 °C por 30 s, extensão a 72 °C por 1 min; e extensão final a 72 °C por 5 min. Após a amplificação dos fragmentos de DNA, foi realizada a eletroforese em gel de agarose a 1,5% acrescido de Unisafe 0,5X, 80V por 1 h e 30 min. Por fim, o resultado foi visualizado em um transiluminador UV (Kasvi).

4.6 Técnica de PFGE

A análise do perfil clonal das amostras MRSA foi realizada pela técnica de eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), através da separação dos fragmentos gerados após tratamento com a enzima de restrição *Sma*I (New England Biolabs; Ipswich, Inglaterra) (Vivoni *et al.*, 2006). As amostras foram crescidas em ágar sangue de carneiro (Plast Labor; Rio de Janeiro, RJ, Brasil) a 35 °C por 48 h. Em seguida, as amostras foram ajustadas de acordo com a turbidez da escala 0,5 de McFarland em tubos contendo em 3 mL de TSB (BD) e incubadas por aproximadamente 2 a 4 h sob agitação de 250 rpm a 37 °C até atingir a escala 2 de McFarland. Em seguida, 1,5 mL desta suspensão foi transferida para um microtubo de 2 mL que foi centrifugado a 5000 *xg* por 5 min (Eppendorf Mastercycler Gradient; Hamburgo, Alemanha), e ao sedimento foram acrescentados 125 µL de tampão PIV - Pett IV [NaCl (Proquimios Comércio e Indústria Ltda) 1 M, Tris-HCl (Invitrogen; Carlsbad, CA, EUA) 10 mM] pH 7,6. O mesmo volume de agarose de baixo ponto de fusão (*Low Melting Point Agarose*, IBI Technical; New Heaven, CT, EUA) a 1,8% (p/v) dissolvida em tampão PIV foi adicionado à suspensão. Após homogeneização, a agarose foi distribuída em moldes, os quais foram posteriormente mantidos a 4 °C por cerca de 40 min para serem cortados em pequenos blocos. Os blocos de agarose, em seguida, foram cortados e colocados em 1 mL de solução de lise EC [Tris-HCl 6 mM; NaCl 1 M; EDTA 100 mM; 0,5% (p/v) de Brij 58; e 0,5% lauril sarcosinato de sódio] pH 7,5, contendo lisozima (Sigma-Aldrich Chemical Company, Saint Louis, MO, EUA) e lisostafina (Sigma-Aldrich Chemical Company, Saint Louis, MO, EUA) em concentrações finais de 0,5 e 0,05 mg/mL, respectivamente, e incubados a 37 °C sob

agitação lenta durante 18 h. Após este período, os tubos foram resfriados a 4 °C por 10 min e a solução foi substituída por 1 mL de solução ES [EDTA 0,4 M, pH 9,5; e 1% (p/v) de lauril sarcosinato de sódio] contendo 0,1 mg/mL de proteinase K (Sigma-Aldrich Chemical Company). Essa solução foi incubada a 50 °C, em banho-maria, durante 18 h. A digestão do DNA cromossômico foi realizada utilizando apenas um bloco de agarose contendo DNA, que passou por uma etapa de quatro lavagens com 1 mL de tampão TE (tampão Tris-EDTA) a 37 °C, em banho-maria, onde as três primeiras lavagens foram realizadas a cada 1 h, sendo a incubação da quarta lavagem de cerca de 18 h. Após este processo, o bloco de agarose foi transferido para uma solução contendo 150 µL do tampão específico da enzima de restrição SmaI e incubado a 25 °C por 2 h. Em seguida, o bloco de agarose foi novamente transferido para um novo tampão da enzima de restrição (150 µL) contendo 20 U da enzima SmaI (New England BioLabs; Ipswich, Inglaterra) e incubado a 25 °C por 18 h. Após esse período, a solução contendo a enzima foi retirada e o bloco de agarose fundido a aproximadamente 70 °C e aplicado no gel de agarose (Invitrogen; Carlsbad, CA, EUA) a 1% (p/v) feito em tampão TBE (Bio-Rad; Hercules, CA, EUA) 0,5 X. O gel foi submetido à eletroforese em campo pulsado (CHEF DR III, Bio-Rad; Hercules, CA, EUA), utilizando um tempo de pulso crescente de 1 a 35 s, por 21 h, a 6 V/cm, 14 °C, com ângulo de 120°. Após a corrida, o gel foi corado em solução de brometo de etídio 0,5 µg/mL por 30 min e descorado em água destilada por 1 h. Posteriormente, a imagem foi obtida por um fotodocumentador (Vilber Lourmat) sob luz ultravioleta em transiluminador (Kasvi). Como padrão de tamanho molecular de DNA foi utilizado o marcador 50 a 1.000 kb Lambda Ladder PFGE Marker (New England BioLabs; Ipswich, Inglaterra). Os padrões dos fragmentos obtidos foram analisados através do programa Bionumerics, versão 6.0 (Applied Maths, Bélgica). Este software utiliza o coeficiente Dice de similaridade e o método de Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages (UPGMA) para análise dos agrupamentos. O critério estabelecido por Van Belkum e colaboradores (2009) foi empregado, que considera até quatro bandas de diferença ou mínimo de 80% de similaridade entre as amostras para inclusão em um mesmo genótipo. Os pulsotipos foram comparados com aqueles descritos por McDougal e colaboradores (2003) para identificação de clones de *S. aureus* de distribuição internacional e aqueles encontrados no Brasil (Damasco *et al.*, 2019).

4.7 Análise estatística

O programa GraphPad Prism 8.01 foi utilizado para as análises estatísticas dos resultados, utilizando os testes Chi-quadrado ou exato de Fisher. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

5. RESULTADOS

5.1 População do estudo

Das 42 crianças incluídas neste estudo, 30 tinham DA e 12 eram indivíduos saudáveis que convivem com pacientes com DA (irmãos de crianças com DA). Dentre as 30 crianças com DA, 19 (63%) eram do sexo feminino e 11 (37%) do sexo masculino (figura 2). As crianças com DA foram agrupadas de acordo com a gravidade da doença com base no SCORAD, e entre elas, seis (20%) tinham DA leve, 20 (67%) moderada e quatro (13%) grave (figura 3). A idade variou entre 2 e 10 anos com uma média de 6 anos e desvio padrão de $\pm 2,22$. Dentre o grupo das 12 crianças sem DA, seis (50%) eram do sexo feminino e seis (50%) do sexo masculino, com idade variando entre 2 e 10 anos com uma média de 4,75 anos e desvio padrão de $\pm 2,86$.

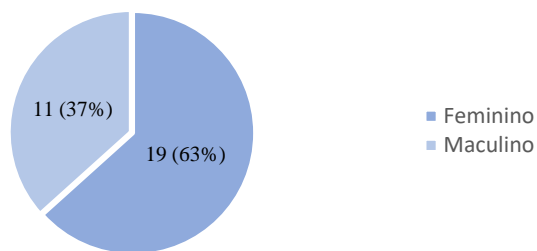


Figura 2- Distribuição dos 30 pacientes com DA quanto ao sexo

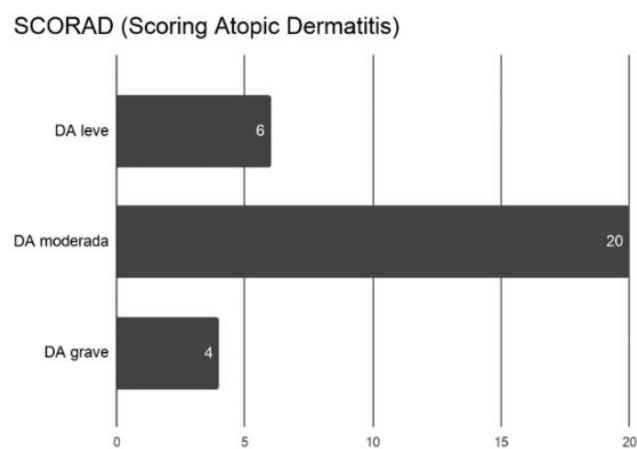


Figura 3- Distribuição dos 30 pacientes com DA quanto ao SCORAD

5.2 Perfil de colonização por *Staphylococcus* spp.

Todas as crianças com DA incluídas no estudo apresentaram *S. aureus* em pelo menos um dos sítios de colonização (narinas e pele com e sem lesão). Por outro lado, no grupo sem DA, três (25%) crianças não estavam colonizadas pelo patógeno em nenhum dos sítios no momento da coleta. Das 30 crianças com DA, 29 (97%) apresentavam colonização por *S. aureus* em suas narinas, 24 (83%) em pele sem lesão e 30 (100%) em pele com lesão. Vinte e três (77%) crianças com DA apresentaram *S. aureus* em todos os sítios analisados. No grupo de crianças sem DA oito (67%) estavam colonizadas em suas narinas, seis (50%) em pele sem lesão e cinco (42%) em ambos os sítios. Uma prevalência significativa de colonização por *S. aureus* foi observada em todos os sítios investigados no grupo de crianças com DA, exceto em relação a colonização em pele sem lesão. A tabela 4 apresenta o perfil de colonização por *S. aureus* observado no estudo.

Tabela 4- Análise comparativa da colonização por *Staphylococcus aureus* em crianças com e sem DA de acordo com o sítio de isolamento

Sítio de colonização	Grupo com DA	Grupo sem DA	Valor de <i>p</i>
	(30 crianças)	(12 crianças)	
	n (%) de crianças colonizadas	n (%) de crianças colonizadas	
Narinas	29 (97)	8 (67)	0,018
Pele sem lesão	24 (83) ^a	6 (50)	0,052
Pele com lesão	30 (100)	NA	0,0002^b
Todos os sítios	23 (79) ^a	5 (42)	0,029

NA: Não se aplica; DA: dermatite atópica. Valores de *p* em negrito correspondem a $p < 0.05$. ^a A coleta de pele sem lesão não foi realizada em todas as crianças do grupo com dermatite atópica, assim, o cálculo percentual foi realizado considerando 29 crianças colonizadas para este sítio. ^b valor de *p* determinado para colonização de pele em crianças sem a doença comparado a colonização de pele com lesão em crianças com DA (cálculo considerando 30 crianças com DA)

Portanto, este estudo avaliou 97 amostras de *S. aureus* de colonização, sendo 37 (38%) de narinas, 30 (31%) de pele sem lesão e 30 (31%) de pele com lesão. Destas 97 amostras, 83

(86%) amostras eram de crianças com DA (29 de narinas, 24 de pele sem lesão e 30 de pele com lesão) e 14 (14%) sem DA (oito de narinas e seis de pele sem lesão) (tabela 5).

Tabela 5- Distribuição do número de amostras de *Staphylococcus aureus* selecionadas para avaliação neste estudo de acordo com sítio de isolamento nos grupos com e sem DA

Sítio	Grupo com DA	Grupo sem DA
	(83 amostras)	(14 amostras)
	n (%) de amostras	n (%) de amostras
Narinas	29 (35)	8 (57)
Pele sem lesão	24 (29)	6 (42)
Pele com lesão	30 (36)	NA

NA: não se aplica; DA: dermatite atópica.

Amostras de *Staphylococcus* coagulase-negativo (179 amostras) também foram avaliadas neste estudo, sendo 120 (67%) isoladas do grupo com DA e 59 (33%) de crianças sem DA. A distribuição quanto às espécies está apresentada na figura 4, sendo as mais frequentes *S. epidermidis* (83; 46,3%); *S. hominis* (38; 21,2%), *S. capitis* (16; 8,9%). *S. saprophyticus* (14; 7,8%); *S. haemolyticus* (12; 6,7%), *S. cohnii* (6; 3,3%) e *S. warneri* (5; 2,7%). Dez espécies de SCN (com exceção de *S. arlettae*) colonizaram crianças com DA, enquanto oito (com exceção de *S. caprae*, *S. pasteurii* e *S. warneri*) foram detectadas no grupo sem DA.

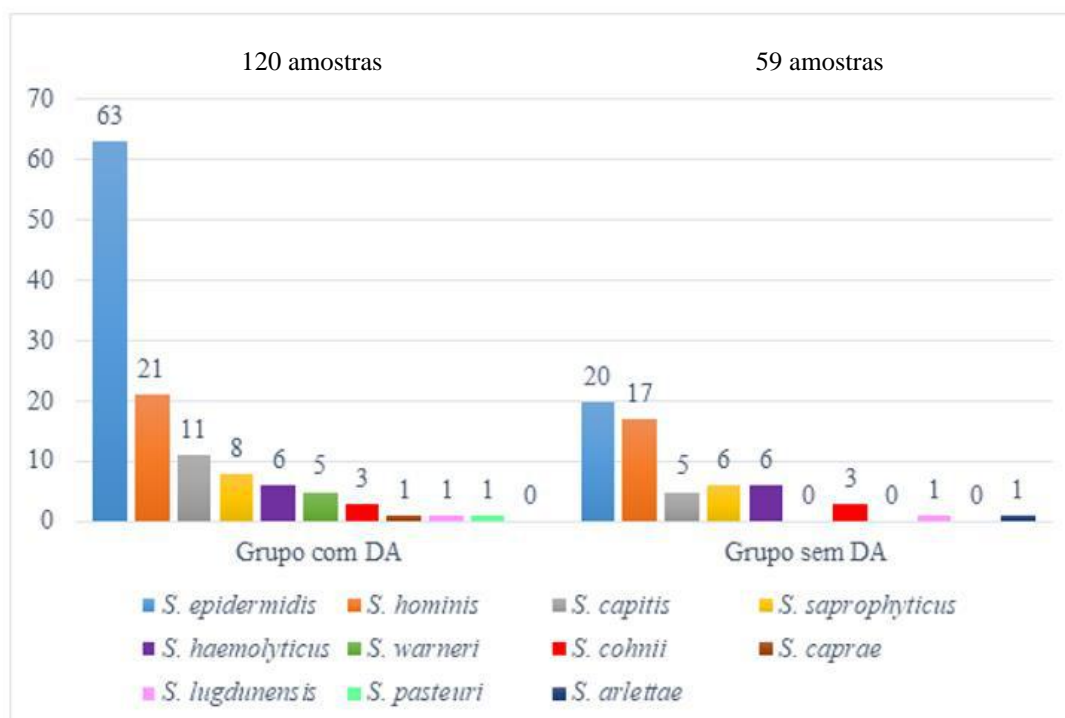


Figura 4 – Distribuição das amostras de *Staphylococcus* coagulase-negativo selecionadas para o estudo entre os grupos com e sem DA

Quanto a frequência de espécies de *Staphylococcus* spp. colonizando cada sítio, no grupo com DA, as narinas e a pele foram colonizadas predominantemente por *S. aureus* e *S. epidermidis* (tabela 6). No grupo sem DA, por sua vez, a colonização foi mais expressiva por *S. epidermidis* e *S. aureus* nas narinas e por *S. epidermidis* e *S. hominis* na pele. Das crianças com DA, 60% foram colonizadas em suas narinas por *S. epidermidis*, 6,7% por *S. hominis* e nenhuma por *S. saprophyticus*, enquanto, no grupo sem DA, 91,7% foram colonizadas por *S. epidermidis*, 50% por *S. hominis* ($p=0,004$) e 25% por *S. saprophyticus* ($p=0,019$). Por sua vez, 63,3% das crianças com DA foram colonizadas por *S. epidermidis* em pele com lesão, 20% por *S. hominis* e 6,7% por *S. saprophyticus*, ao passo que, no grupo sem DA, 66,7% foram colonizadas na pele por *S. epidermidis*, 91,7% por *S. hominis* ($p<0,0001$) e 33,3% por *S. saprophyticus* ($p=0,046$).

Tabela 6- Análise comparativa da colonização por *Staphylococcus* spp. em narinas e pele com e sem lesão de crianças com e sem DA

Espécie bacteriana	Grupo com DA (30 crianças)			Grupo sem DA (12 crianças)			P valor		
	n (%) de crianças colonizadas			n (%) de crianças de crianças colonizadas					
	Narinas	Pele com lesão	Pele sem lesão ^a	Narinas	Pele	Narinas	Pele com lesão ^b	Pele sem lesão ^c	
<i>S. aureus</i>	29 (97)	30 (100)	24 (83)	8 (67)	6 (50)	0,018	0,0002	0,052	
<i>S. arlettae</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (8,3)	NA	0,286	0,293	
<i>S. capitis</i>	2 (6,7)	3 (10)	6 (20,7)	2 (16,7)	2 (16,7)	0,565	0,613	>0,999	
<i>S. caprae</i>	0 (0)	0 (0)	1 (3,4)	0 (0)	0 (0)	NA	NA	>0,999	
<i>S. cohnii</i>	1 (3,3)	1 (3,3)	1 (3,4)	1 (8,3)	2 (16,7)	0,495	0,192	0,200	
<i>S. epidermidis</i>	18 (60)	19 (63,3)	25 (86,2)	11 (91,7)	8 (66,7)	0,067	>0,999	0,202	
<i>S. haemolyticus</i>	0 (0)	1 (3,3)	5 (17,2)	2 (16,7)	3 (25)	0,106	0,063	0,672	
<i>S. hominis</i>	2 (6,7)	6 (20)	13 (44,8)	6 (50)	11 (91,7)	0,004	<0,0001	0,006	
<i>S. lugdunensis</i>	1 (3,3)	0 (0)	0 (0)	1 (8,3)	0 (0)	0,495	NA	NA	
<i>S. pasteurii</i>	0 (0)	0 (0)	1 (3,4)	0 (0)	0 (0)	NA	NA	>0,999	
<i>S. saprophyticus</i>	0 (0)	2 (6,7)	6 (20,7)	3 (25)	4 (33,3)	0,019	0,046	0,441	
<i>S. warneri</i>	2 (6,7)	1 (3,3)	2 (6,9)	0 (0)	0 (0)	>0,999	0,063	>0,999	

NA: não se aplica; DA: Dermatite atópica; n: Número. Valores de *p* em negrito correspondem a $p < 0,05$. ^aA coleta de pele sem lesão não foi realizada em uma criança do grupo com DA e, por isso, o cálculo percentual deste sítio de isolamento foi feito para 29 crianças. ^bValor de *p* em relação à colonização de pele em crianças sem a doença e pele com lesão do grupo com DA (cálculo considerou 30 crianças com dermatite). ^c Valor de *p* em relação à colonização de pele em crianças sem a doença e pele sem lesão do grupo com DA (cálculo considerou 29 crianças com dermatite).

5.3 Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos em amostras de *Staphylococcus* spp.

Para a avaliação do perfil de susceptibilidade antimicrobiana, as 97 amostras de *S. aureus* foram submetidas ao teste de disco-difusão (tabela 7). Foi possível identificar que todas as amostras foram sensíveis à mupirocina, SXT e clindamicina, com exceção de quatro (4,1%) que apresentaram resistência plena e duas (2%) com resistência intermediária para SXT no grupo com DA. Para cefoxitina, 20 (24%) amostras apresentaram resistência no grupo de DA, enquanto duas (14,2%) foram detectadas no grupo sem DA. Não houve

diferença significativa entre as taxas de resistência aos antimicrobianos avaliados entre os grupos com e sem DA. Todas as amostras resistentes à cefoxitina foram avaliadas quanto à presença do gene *mecA*, sendo todas *mecA*-positivas. Além disso, todas as amostras MRSA possuíam *SCCmec* do tipo IV, conforme verificado através da PCR-multiplex.

Tabela 7- Perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 97 amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de pele com lesão, pele sem lesão e narinas de crianças com e sem DA

Antimicrobiano	Grupo com DA (83 amostras)	Grupo sem DA (14 amostras)	Valor <i>P</i>
	n (%) de amostras resistentes	n (%) de amostras resistentes	
Cefoxitina	20 (24)	2 (14,2)	0,506
Clindamicina	0 (0)	0 (0)	NA
Mupirocina	0 (0)	0 (0)	NA
SXT	6 (7,2)	0 (0)	0,588

NA: não se aplica.

Dentre as 22 amostras MRSA, 20 colonizaram nove (30%) crianças com DA e duas amostras foram oriundas de uma (8%) criança sem DA ($p= 0,513$). Quanto ao sítio de isolamento, entre as 20 amostras de crianças com DA, sete (35%) foram colonizadas nas narinas, seis (30%) em pele sem lesão e sete (35%) em pele com lesão (tabela 8). As duas amostras da criança sem DA foram de colonização nasal e de pele. O SCORAD das crianças colonizadas por amostras MRSA foi variável: duas crianças com DA leve, seis moderada e uma grave. Não houve diferença significativa quanto a presença do gene *mecA* nos diferentes em amostras nos sítios de isolamento avaliados entre os grupos com e sem DA.

Tabela 8- Análise comparativa da presença do gene *mecA* em amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de crianças com e sem DA de acordo com o sítio de isolamento

Sítio	<i>mecA</i>		Valor de <i>p</i>
	n (%) de crianças		
	Grupo com DA (30 crianças)	Grupo sem DA (12 crianças)	
Narinas	7 (23)	1 (8,33)	0,402
Pele sem lesão	6 (21) ^a	1 (8,33)	0,659
Pele com lesão	7 (23)	NA	0,651 ^b

NA: Não se aplica; ^a A coleta de pele sem lesão não foi realizada em todas as crianças do grupo com dermatite atópica, dado isso, o cálculo percentual foi realizado considerando 29 crianças colonizadas para este sítio. ^b valor de *p* em relação a colonização de pele em crianças sem a doença e pele com lesão do grupo com Da (cálculo considerando 30 crianças com DA)

Entre as amostras de *Staphylococcus* coagulase-negativo a resistência à metilina foi detectada em 105 (58,6%) amostras, sendo 70 (66,6%) amostras do grupo de crianças com DA e 35 (33,3%) do grupo sem DA. Dentre as amostras resistentes, *S. epidermidis* (61; 50,8%), *S. hominis* (23; 19,1%) e *S. haemolyticus* (10; 8,3%) foram as espécies em que a resistência foi detectada mais frequentemente. Dezesete (56,6%) e nove (75%) crianças com e sem DA, respectivamente, foram colonizadas em suas narinas por amostras resistentes ($p=0,316$). Em pele sem lesão, 21 (72,4%) crianças com DA e 11 (91,6%) crianças sem DA foram colonizadas por espécies resistentes ($p=0,239$), enquanto em pele com lesão foram detectadas amostras resistentes em 14 (46,6%) crianças com DA ($p=0,012$) (tabela 9).

Tabela 9- Análise comparativa da presença do gene *mecA* em amostras de *Staphylococcus* coagulase-negativo isoladas de crianças com e sem DA de acordo com o sítio de isolamento

Sítio	<i>mecA</i> n (%) de crianças		Valor de <i>p</i>
	Grupo com DA (30 crianças)	Grupo sem DA (12 crianças)	
Narinas	17 (56,6)	9 (75)	0,316
Pele sem lesão	21 (72,4) ^a	11 (91,6)	0,239
Pele com lesão	14 (46,6)	NA	0,012^b

NA: Não se aplica; ^a A coleta de pele sem lesão não foi realizada em todas as crianças do grupo com DA, dado isso, o cálculo percentual foi realizado considerando 29 crianças colonizadas para este sítio. ^b valor de *p* em relação a colonização de pele em crianças sem a doença e pele com lesão do grupo com DA (cálculo considerando 30 crianças com DA)

5.4 Detecção dos genes da PVL em amostras de *S. aureus*

Todas as 97 amostras de *S. aureus* foram avaliadas quanto à presença dos genes da PVL. Neste sentido, 25 (26%) apresentaram os genes da leucocidina, sendo 19 de nove (30%) crianças com DA e seis de três (25%) crianças sem DA ($p=0,199$). Destas 25 amostras, nove (30%) eram de colonização nasal, oito (28%) de pele sem lesão e oito (27%) de pele com lesão. Além disso, entre as crianças com DA colonizadas por amostras PVL-positivas, duas possuíam DA leve, seis moderada e uma grave. Não houve diferença significativa quanto a presença dos genes da PVL em amostras dos diferentes sítios de isolamento avaliados entre os grupos com e sem DA (tabela 10).

Das 25 amostras PVL-positivas, 10 (40%) eram MRSA, sendo oito (80%) amostras provenientes de três crianças com DA, uma com DA leve, uma moderada e uma grave, e duas (20%) amostras eram provenientes de uma criança sem DA. Amostras MSSA tenderam a não possuir os genes da PVL ($p=0,025$).

Tabela 10- Análise comparativa da presença dos genes da PVL em amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de crianças com e sem DA

Sítio	<i>pvl</i> n (%) de crianças		Valor de <i>P</i>
	Grupo com DA (30 crianças)	Grupo sem DA (12 crianças)	
Narinas	9 (30)	3 (25)	1,000
Pele sem lesão	8 (28) ^a	3 (25)	1,000
Pele com lesão	8 (27)	NA	1,000 ^b

NA: Não se aplica; ^a A coleta de pele sem lesão não foi realizada em todas as crianças do grupo com DA, dado isso, o cálculo percentual foi realizado considerando 29 crianças colonizadas para este sítio. ^b valor de *p* em relação a colonização em pele de crianças sem a doença e pele com lesão do grupo com DA (cálculo considerando 30 crianças com DA)

5.5 Relação clonal das amostras MRSA

Das 22 amostras MRSA, 20 eram de 9 pacientes com DA, e 14 (63,6%) foram avaliadas quanto à sua diversidade clonal. Essas amostras foram isoladas de colonização nasal (7) e de pele com lesão (7) (figura 5). Amostras com mais de 80% de similaridade, ou com até quatro bandas de diferença, foram classificadas como pertencentes ao mesmo padrão de PFGE ou genótipo. Sendo assim, com exceção de uma amostra (223ad), as amostras MRSA se distribuíram em dois grupos clonais, mesmo sendo de crianças e sítios diferentes. Cinco amostras apresentaram padrão similar ao USA800 pelo perfil de fragmentação (amostras 538ad, 573ad, 681ad, 317ad e 347ad), enquanto oito podem ser da linhagem USA1100 (amostras 648ad, 708ad, 29ad, 44as, 470ad, 500ad e 23ad), inclusive a maioria carregava os genes da PVL, um marcador deste genótipo. Cinco crianças (pacientes 2, 12, 17, 19 e 24) apresentaram amostras de *S. aureus* de mesmo pulsotipo em narinas e pele com lesão. Além disso, exceto o paciente 8, os pacientes 1, 18 e 23 apresentaram amostras com perfis similares aos das outras crianças avaliadas.

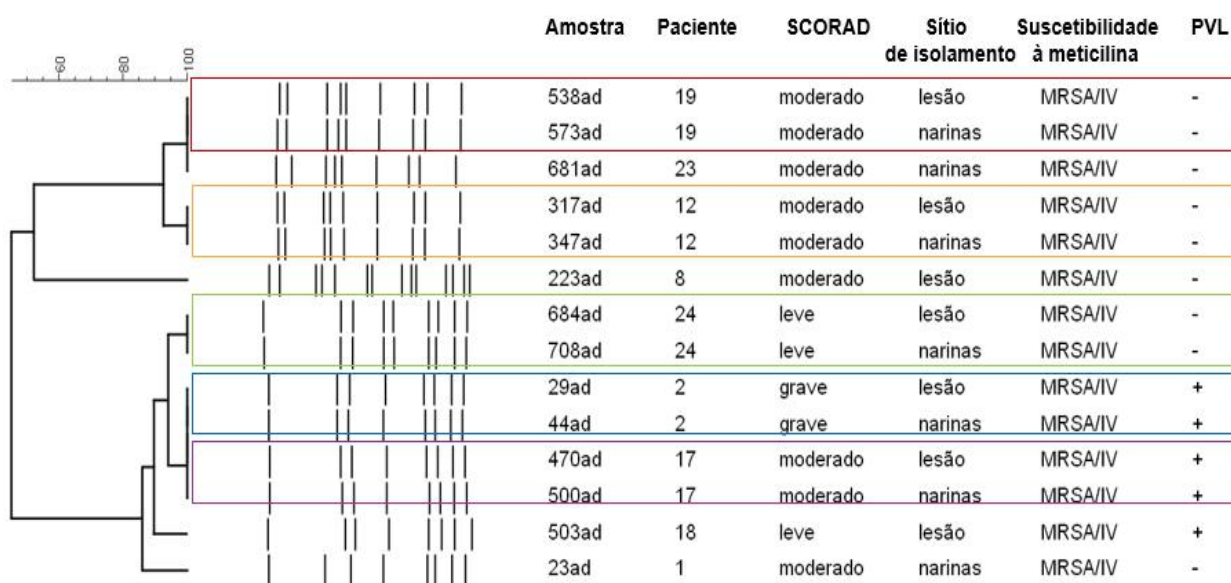


Figura 5- Dendrograma dos perfis clonais e características gerais de 14 amostras MRSA representativas isoladas de pele com lesão e narinas de nove crianças com DA

6. DISCUSSÃO

A Dermatite Atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica que pode afetar significativamente a qualidade de vida dos indivíduos acometidos, bem como de suas famílias (Filanovsky *et al.*, 2016; Silverberg *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2021). Estudos apontam que a microbiota da pele desses pacientes é alterada, principalmente em áreas mais afetadas pela doença e em períodos de crise, sendo observado um aumento na população de *Staphylococcus* spp., com destaque para *S. aureus*, um patógeno de importância médica (Kong *et al.*, 2012; Byrd *et al.*, 2017). A pele de pacientes com DA apresenta maior suscetibilidade à colonização e infecção por *S. aureus*, e, portanto, a presença deste patógeno em alta quantidade na pele é tida como um fator relevante relacionado com o aumento da gravidade da doença (Kwon *et al.*, 2019). Além disso, a presença de cepas MRSA dificulta a terapêutica de infecções estafilocócicas nesses pacientes (Park *et al.*, 2016) e pode ser um fator agravante para a doença, sendo relacionada com redução da diversidade microbiana da pele quando comparada com cepas MSSA (Shi *et al.*, 2018). Entretanto, poucos estudos brasileiros têm investigado a presença de cepas de *S. aureus* e outras espécies colonizando

crianças com DA (Petry *et al.*, 2014; Cavalcante *et al.*, 2015; Abad *et al.*, 2020; Cavalcante *et al.*, 2021). Portanto, investigar a prevalência, a resistência e a clonalidade de amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de crianças com DA pode auxiliar na compreensão acerca da distribuição destes microrganismos, assim como na epidemiologia e terapêutica da doença.

No presente estudo, cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de pele e narinas de 30 crianças com DA e 12 sem DA foram avaliadas com intuito de investigar a prevalência e a resistência destas amostras, bem como analisar o perfil clonal de amostras MRSA para entender acerca da distribuição desses microrganismos nas crianças avaliadas. Após análise foi observado que todas as crianças com DA apresentavam *S. aureus* na pele com lesão, enquanto este patógeno foi detectado na pele de 50% das crianças sem DA ($p= 0,0002$). Nas narinas, 97% das crianças com DA estavam colonizadas, em oposição à colonização de crianças sem DA que, neste sítio, foi de 67% ($p=0,018$). Em crianças sem DA, a colonização por *S. aureus* é apontada entre 5 e 50%, principalmente nas narinas (Heijer *et al.*, 2013; Braga *et al.*, 2014; Eibach *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2019; Kateete *et al.*, 2020). Ao contrário do que foi visto em nosso estudo, Eibach e colaboradores (2017), em um estudo realizado na África ocidental com intuito de analisar amostras de narinas de 544 crianças saudáveis, observou que apenas 22,1% estavam colonizadas. Em contrapartida, Braga e colaboradores (2014) elaboraram um estudo em uma cidade da região sudeste do Brasil com objetivo de avaliar a colonização por *S. aureus* em 500 crianças que frequentavam creches públicas e observaram, de forma similar ao nosso estudo, que 48% estavam colonizadas por *S. aureus* em suas narinas. Quanto à colonização em pacientes atópicos, acredita-se que seja em torno de 33 a 64,1% nas narinas (Na *et al.*, 2012; Lipnharski *et al.*, 2013; Cavalcante *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2016; Totté *et al.*, 2016; Clausen *et al.*, 2017; Rosal *et al.*, 2020), 56 a 96,2% em pele com lesão (Jagadeesan *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2016; Totté *et al.*, 2016; Alsterholm *et al.*, 2017) e 28 a 39% em pele sem lesão (Rezaei *et al.*, 2013; Totté *et al.*, 2016; Clausen *et al.*, 2017). No sul do Brasil, Lipnharski e colaboradores (2013) avaliaram amostras de *S. aureus* isoladas de pele com lesão e narinas de 93 pacientes com DA com idade média de 2,5 anos. Nessa análise, foi observado que a colonização por *S. aureus* foi de 60% em narinas, 28% em pele com lesão e 69% em ambos os sítios. Além disso, foi observado que pacientes colonizados apresentavam um quadro mais grave da doença (Lipnharski *et al.*, 2013). Os dados mostram que apesar das taxas de colonização por *S. aureus*, tanto em narinas quanto em

pele com lesão em pacientes atópicos variarem de acordo com a região geográfica, elas permanecem elevadas nestes indivíduos.

As crianças com DA foram majoritariamente colonizadas por *S. aureus* e *S. epidermidis* em todos os sítios investigados. Por outro lado, as crianças sem DA foram colonizadas principalmente por *S. epidermidis* e *S. hominis* ($p= 0,0001$) na pele e *S. aureus* ($p= 0,0018$) e *S. epidermidis* nas narinas. Alguns estudos avaliaram a colonização por *Staphylococcus* spp. em pessoas com e sem DA, podendo ser observada variação no perfil de colonização (Bjerre *et al.*, 2017; Byrd *et al.*, 2018; Meisel *et al.*, 2018, Edslev *et al.*, 2021). Em 2021, Edslev e colaboradores publicaram um estudo transversal em adultos com e sem DA atendidos em um ambulatório localizado na Dinamarca. Em pacientes com DA, *S. capitis* foi a espécie prevalente em pele com e sem lesão, enquanto em pacientes saudáveis, *S. hominis* e *S. cohnii* foram as mais frequentes (Edsley *et al.*, 2021). Outros estudos também corroboram esses resultados em que, geralmente, pacientes com DA possuem colonização expressiva por *S. aureus* em pele e narinas, mas apresentam redução de espécies como *S. hominis* e *S. epidermidis* na pele com lesão, se comparada à pele do grupo saudável (Meylan *et al.*, 2017; Nakatsuji *et al.*, 2017). De fato, é possível que uma diminuição na população de algumas espécies, como *S. hominis* e *S. epidermidis*, que desempenham papel no controle da população de *S. aureus*, contribua para a disbiose observada em indivíduos com DA (Nakatsuji *et al.*, 2017).

Contudo, apesar do seu papel protetor, cepas de SCN podem atuar como reservatórios para genes de resistência a antimicrobianos e transferir genes de resistência para outros microrganismos Gram-positivos, incluindo *S. aureus* (Otto *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2018). Além disso, a literatura descreve que amostras de SCN são naturalmente resistentes a diferentes antimicrobianos, particularmente à meticilina (Zong *et al.*, 2011; Martínez-Meléndez *et al.*, 2016; Salgueiro *et al.*, 2019). Salgueiro e colaboradores (2019), por exemplo, observaram que 90,3% das cepas de *S. haemolyticus* e 87,5% de *S. epidermidis* isoladas de narinas de neonatos em uma unidade de tratamento intensivo em uma cidade da região sudeste do Brasil eram resistentes à meticilina, sendo a maioria com *SCCmec* não tipável. De forma similar, neste estudo, foi vista uma alta prevalência de amostras de SCN resistentes à meticilina em ambos os grupos (66,6% e 33,3% nos grupos com e sem DA, respectivamente). Portanto, no presente estudo, foi possível identificar amostras resistentes à meticilina em

abundância e evidenciar a diminuição de espécies relevantes de SCN na DA, sobretudo *S. hominis*, o que poderia ter um impacto no curso da DA.

Cefalosporinas, glicopeptídeos, sulfonamidas e lincosamidas são algumas das classes de antimicrobianos recomendadas para o tratamento de infecções por *S. aureus* em crianças atópicas (Alzolibani *et al.*, 2012; Cavalcante *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2018; Briscoe *et al.*, 2019). Em nossa análise, uma pequena parcela de amostras foi resistente aos antimicrobianos utilizados, com exceção da cefoxitina. Dentre as amostras analisadas, nenhuma apresentou resistência à mupirocina. Em pacientes com DA, as taxas de resistência à mupirocina são observadas entre 1,1% e 10% (Cavalcante *et al.*, 2015; Bessa *et al.*, 2016). Uma explicação para a baixa prevalência de amostras resistentes à mupirocina no presente estudo é a baixa prescrição de uso nas crianças com DA no local onde o estudo foi realizado. A resistência à clindamicina também não foi detectada em nenhuma das amostras. Assim como os demais antimicrobianos investigados, as taxas de resistência à clindamicina são variáveis na literatura, podendo atingir 17% das amostras em alguns estudos (Tang *et al.*, 2010; Matiz *et al.*, 2011; Sutter *et al.*, 2016; Harkins *et al.*, 2018). Para o sulfametoxazol-trimetoprim, apenas 2% das amostras apresentaram resistência intermediária e 4,1% resistência plena ao antimicrobiano, corroborando ao descrito na literatura por outros estudos (Tang *et al.*, 2011; Jung *et al.*, 2015; Masiuk, Wcisłek e Jursa-Kulesza, 2021). Tang e colaboradores (2011) detectaram que menos de 5% das amostras em seu estudo eram resistentes à sulfametoxazol-trimetoprim, enquanto Cavalcante e colaboradores (2015) e Masiuk e colaboradores (2021) não detectaram amostras resistentes. Logo, nossos resultados sugerem que as alternativas terapêuticas para o manejo de infecções por *S. aureus* e MRSA estão sendo eficazes. Além disso, podem estar atreladas à menor quantidade de amostras com perfil de multirresistência disseminadas na comunidade.

De acordo com alguns estudos, entre 0 e 73% dos pacientes com DA são colonizados por cepas MRSA, embora existam variações de acordo com os locais onde os estudos são realizados (Chung *et al.*, 2008; Lo *et al.*, 2010; Jagadeesan *et al.*, 2014; Pascolini *et al.*, 2011; Travers *et al.*, 2012; Petry *et al.*, 2014; Cavalcante *et al.*, 2015; Briscoe *et al.*, 2019). Este estudo demonstrou alta prevalência de crianças colonizadas por MRSA, sobretudo no grupo com DA (30%) quando comparado ao grupo sem DA (8%). Loo e colaboradores (2010) analisaram amostras de 113 crianças com DA e 490 indivíduos sem DA com menos de 15 anos de idade em Taiwan. Dentre as amostras de *S. aureus* isoladas de narinas de pacientes

com DA, 34% eram MRSA, enquanto 26% eram de crianças saudáveis. Em 2014, um estudo observacional conduzido por Jagadeesan e colaboradores analisou 119 crianças com DA no sul da Índia com idade variando de 2 a 6 anos. Nessa análise foi possível identificar que 25,21% das crianças estavam colonizadas por cepas MRSA, um resultado similar ao que foi encontrado em nossa pesquisa (Jagadeesan *et al.*, 2014). Além disso, Cavalcante e colaboradores (2015) avaliaram amostras de narinas e pele com lesão infectada de 106 pacientes com DA com idade menor que 17 anos atendidos em uma clínica hospitalar no sudeste do Brasil e relataram que a resistência à metilicina foi detectada em 26,6% dos pacientes. Petry e colaboradores (2014), por outro lado, analisaram amostras de pele e narinas de 91 pacientes (crianças com média de idade de seis anos), atendidos em dois centros dermatológicos em uma cidade da região sul do Brasil, e não encontraram amostra MRSA. Esses resultados discrepantes entre os estudos do nosso grupo (Cavalcante *et al.*, 2015) e o de Petry e colaboradores (2014) pode se dar a razões geográficas e sociais, por exemplo, devido a critérios que envolvem o clima, colonização de contatos próximos e situação socioeconômica. Neste sentido, Braga e colaboradores (2014) relataram que crianças que frequentavam creches próximas a comunidades tendiam a ser mais colonizadas por MRSA. Abad e colaboradores (2020), por sua vez, observaram que contatos familiares de crianças com DA colonizados ou com infecção por MRSA e ausência de água encanada nas residências eram fatores de risco para aquisição de cepas MRSA pelos pacientes com DA.

Em relação ao SCORAD e a colonização por cepas MRSA, 7% dos pacientes no presente estudo tinham DA leve, 20% DA moderada e 3% DA grave. Rezaei e colaboradores (2013) analisaram 114 amostras de 38 crianças com DA de um hospital localizado no Irã. No estudo foi possível inferir uma relação entre o SCORAD e a colonização por *S. aureus* em narinas e pele com lesão, em que apenas pacientes com SCORAD moderado estavam colonizados por cepas MRSA (Rezaei *et al.*, 2013). Em uma coorte publicada por Abad e colaboradores (2020), 117 pacientes com DA colonizados por *S. aureus* (com média de idade de 6,6 anos) atendidos em uma clínica dermatológica no sudeste do Brasil foram avaliados quanto à aquisição de cepas MRSA e seu respectivo SCORAD. Com base nos resultados, foi observado que SCORAD moderado a grave foi um fator de risco para aquisição de MRSA dentro de um ano. Sendo assim, acreditamos que alguns fatores limitantes como baixo número amostral e baixa diversidade de pacientes com diferentes SCORAD incidiram para

que não se pudesse estabelecer uma relação significativa entre o SCORAD das crianças e o perfil de colonização por MRSA no presente estudo.

Apesar de haver relato que a presença da leucocidina Panton-Valentine (PVL) esteja associada com o aumento da gravidade da DA (Cavalcante *et al.*, 2015), estudos que comprovem essa hipótese ainda são escassos. Além disso, estima-se que colonização por cepas que carregam os genes da PVL possa atingir cerca de 70,9% dos pacientes atópicos (Chiu *et al.*, 2009; Yeung *et al.*, 2011; Cavalcante *et al.*, 2015). Neste cenário, o presente estudo detectou que 26% das amostras possuíam os genes da PVL, sendo provenientes de 30% das crianças com dermatite e 25% dos indivíduos saudáveis. Das crianças com DA colonizadas por cepas PVL-positivas, 7% possuíam DA leve, 20% moderada e uma 3% grave. Além disso, as amostras MSSA tenderam não ser PVL-positivas ($p= 0,025$). Assim como o presente estudo, um estudo conduzido por Cavalcante e colaboradores (2015), na mesma instituição, demonstrou que 29% das amostras isoladas de pacientes pediátricos com DA eram PVL-positivas, colonizando 23,3% dos pacientes em suas narinas e 75% em pele com lesão apresentando infecção por *S. aureus*. Além disso, a maioria dos pacientes colonizados tinham o SCORAD de moderado a grave (10,5% DA leve, 32% DA moderada 33,3% com DA grave) (Cavalcante *et al.*, 2015). Em oposição, Yeung e colaboradores (2011) analisaram amostras de pele e narinas de 119 pacientes pediátricos e 40 pacientes adultos com DA atendidos em uma clínica dermatológica situada no Canadá, e encontraram uma baixa prevalência de amostras positivas para os genes da PVL. Contudo, algumas linhagens descritas em DA estão mais associadas a amostras que carregam os genes da PVL (USA400, USA800 e USA1100) (Cavalcante *et al.*, 2015; Cavalcante *et al.*, 2021), o que poderia justificar as diferenças de valores entre os estudos. Além disso, com base na literatura, é possível destacar que amostras MRSA tendem a carrear os genes da PVL se comparado com cepas MSSA. Entretanto, ainda assim é possível identificar uma porcentagem de amostras MSSA capazes de carrear os genes dessa leucocidina (Błażewicz *et al.*, 2018; Rao *et al.*, 2019).

Neste estudo, 14 amostras MRSA (sete de colonização nasal e sete de pele com lesão) provenientes de nove crianças com DA tiveram seu perfil clonal analisado por meio da técnica de PFGE. A maioria dos pacientes apresentou amostras de *S. aureus* com o mesmo pulstipo em ambos os sítios. Em 2018, Harkins e colaboradores publicaram um estudo visando entender o perfil clonal por sequenciamento completo do genoma de amostras de *S. aureus* em diferentes sítios de nove pacientes pediátricos com DA atendidos em um hospital

localizado no Reino Unido. Os autores observaram que algumas amostras de narina partilhavam o mesmo perfil clonal com base em SNPs (*single-nucleotide polymorphisms*) de amostras de pele com e sem lesão do mesmo paciente (Harkins *et al.*, 2018). Esses achados reforçam a hipótese da transmissão de amostras entre diferentes sítios do indivíduo, assim como foi encontrado em nosso estudo. Cavalcante e colaboradores (2020), por sua vez, mostraram perfis genotípicos semelhantes entre as amostras de familiares e pacientes pediátricos com DA. De fato, Abad e colaboradores (2020), em uma coorte, observaram que possuir familiar colonizado ou apresentando infecção por MRSA era um fator de risco para aquisição de MRSA em pacientes com DA. Além disso, a maioria de nossas amostras ficaram agrupadas em dois grupos clonais mesmo sendo oriundas de crianças diferentes. Esse resultado evidencia também a hipótese que pode ter ocorrido transmissão de cepas entre os pacientes, uma vez que partilham do mesmo ambiente quando são atendidos em suas consultas de rotina. Foram detectadas amostras que podem ser dos clones USA1100 (oito amostras) e USA800 (cinco amostras). Cavalcante e colaboradores, em 2015, com intuito de caracterizar amostras MRSA isoladas de 103 pacientes pediátricos com DA em um hospital dermatológico localizado no Rio de Janeiro, Brasil, analisaram os perfis clonais de suas amostras e, com base nos resultados do PFGE, foram encontradas as linhagens USA800, USA400 e USA1100, sendo que todas as cepas PVL-positivas correspondiam aos clones USA400 e USA1100. Em suma, a identificação de perfis clonais próximos em amostras de *S. aureus* de DA e da disseminação destas amostras entre crianças acometidas pela doença é de extrema relevância a fim de identificar padrões clonais mais adaptados e compreender a relação genética entre estas amostras colonizando a população afetada.

Em conclusão, no presente estudo foi possível identificar que algumas espécies, principalmente *S. hominis* e *S. saprophyticus* estavam em menor quantidade em crianças com DA, enquanto houve uma colonização expressiva por *S. aureus* neste grupo, em ambos os sítios investigados. Em relação a resistência, nenhuma amostra de *S. aureus* apresentou resistência a clindamicina e a mupirocina, e apenas uma pequena parcela das amostras foi resistente a SXT; contudo muitas amostras foram consideradas como MRSA/SCC*mec* IV, principalmente colonizando o grupo de crianças com DA. De forma similar, uma alta taxa de amostras de SCN resistentes à metilicina foi detectada. Além disso, uma alta prevalência de amostras de *S. aureus* que codificam os genes da PVL foi encontrada neste estudo, sobretudo entre amostras MRSA. Também foi possível verificar que o perfil clonal da maioria das

amostras MRSA analisadas pode se encaixar nas linhagens USA800 e USA1100, as mais descritas entre amostras de DA no Rio de Janeiro. Portanto, este estudo reforça a necessidade de um melhor entendimento sobre esta patologia, com ênfase na identificação da colonização por cepas de *Staphylococcus* spp. em crianças brasileiras com DA mediante ao alto percentual de amostras MRSA e de SCN resistentes à meticilina, a fim de auxiliar na compreensão acerca da sua epidemiologia e terapêutica empregada, destacando-se a importância da vigilância contínua e preventiva nessa população.

7. CONCLUSÕES

- A colonização por *S. aureus*, tanto em pele como em narinas, foi significativa em crianças com DA em comparação com aquelas sem a doença;
- Houve colonização mais significativa por *S. hominis* e *S. saprophyticus* na pele de crianças sem DA quando comparado com a colonização em crianças com DA;
- Foi observada maior frequência de amostras MRSA colonizando crianças com DA (30%) do que crianças sem DA (8%), e todas apresentavam o *SCCmec* tipo IV;
- Muitas amostras de SCN resistentes à meticilina foram detectadas colonizando crianças com (66,6%) e sem DA (33,3%);
- A colonização por amostras de *S. aureus* carregando os genes da PVL foi similar em ambos os grupos de crianças avaliadas (30% no grupo com DA e 25% no grupo sem a doença);
- Cinco (55%, 5/9) crianças com DA apresentaram amostras MRSA de narinas e pele com lesão com o mesmo perfil clonal; outras três crianças apresentaram amostras com perfis similares aos das outras crianças avaliadas;
- Não foi observada relação entre o paciente estar colonizado por *S. aureus*, MRSA ou *S. aureus* PVL-positivo e ter SCORAD moderado a grave.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, E.D., Ferreira, D.C., Cavalcante, F.S., Saintive, S., Goudouris, E., Prado, E.A., Hofer, C., Ribeiro, M., da Silva, A.M.P., Rosado, A.S., van, Elsas, J.D., Dos, Santos, K.R.N. (2020). High incidence of acquiring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Brazilian children with atopic dermatitis and associated risk factors. *J Microbiol Immunol Infect.* 53, 724-730.
- Akdis, C.A., Akdis, M., Bieber, T., Bindslev-Jensen, C., Boguniewicz, M., Eigenmann, P., Hamid, Q., Kapp, A., Leung, D.Y., Lipozencic, J., Luger, T.A., Muraro, A., Novak, N., Platts-Mills, T.A., Rosenwasser, L., Scheynius, A., Simons, F.E., Spergel, J., Turjanmaa, K., Wahn, U., Weidinger, S., Werfel, T., Zuberbier, T. (2006). Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European academy of allergology and clinical immunology/american academy of allergy, asthma and immunology/PRACTALL Consensus Report. *J Allergy Clin Immunol.* 118, 152-69.
- Alexander, H., Paller, A.S., Traidl-Hoffmann, C., Beck, L.A., De, Benedetto, A., Dhar, S., Girolomoni, G., Irvine, A.D., Spuls, P., Su, J., Thyssen, J.P., Vestergaard, C., Werfel, T., Wollenberg, A., Deleuran, M., Flohr, C. (2020). The role of bacterial skin infections in atopic dermatitis: expert statement and review from the international eczema council skin infection group. *Br J Dermatol.* 182, 1331-1342.
- Alsterholm, M., Strömbeck, L., Ljung, A., Karami, N., Widjestam, J., Gillstedt, M., Åhren, C., Faergemann, J. (2017). Variation in *Staphylococcus aureus* colonization in relation to disease severity in adults with atopic dermatitis during a five-month follow-up. *Acta Derm Venereol.* 97, 802-807.
- Alvarez, C., Labarca, J., e Salles, M. (2010). Estratégias de prevenção de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) na América Latina. *Braz J Infect Dis.* 14, 108-S120.
- Alzolibani, A.A., Al Robaee, A.A., Al Shobaili, H.A., Bilal, J.A., Issa Ahmad, M., e Bin Saif, G. (2012). Documentation of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) among children with atopic dermatitis in the Qassim region, Saudi Arabia. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 21, 51-53.
- Amat, F., Soria, A., Tallon, P., Bourgoïn-Heck, M., Lambert, N., Deschildre, A., Just, J. (2018). New insights into the phenotypes of atopic dermatitis linked with allergies and asthma in children: An overview. *Clin Exp Allergy.* 48, 919-934.
- Aoki, V., Lorenzini, D., Orfali, R.L., Zaniboni, M.C., Oliveira, Z.N.P., Rivitti-Machado, M.C., Takaoka, R., Weber, M.B., Cestari, T., Gontijo, B., Ramos, A.M.C., Silva, C.M.R., Cestari, S.D.C.P., Souto-Mayor, S., Carneiro, F.R., Cerqueira, A.M.M., Laczynski, C., Pires, M.C. (2019). Consensus on the therapeutic management of atopic dermatitis. *Brazilian society of dermatology. An Bras Dermatol.* 94, 67-75.
- Bartlett, A.H., Hulten, K.G. (2010). *Staphylococcus aureus* pathogenesis: secretion systems, adhesins, and invasins, the pediatric infectious disease journal. 29, 860-861.
- Becker, J., Diel, R. (2017). Screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a residence home for elderly in Germany. *J Occup Med Toxicol.* 12, 3.
- Becker, K., Schaumburg, F., Fegeler, C., Friedrich, A. W. & Kock, R. (2017). Prevalence of multiresistant Microorganisms PMMS. *Staphylococcus aureus* from the German general population is highly diverse. *Int. J. Med. Microbiol.* 307, 21-27.
- Bennett MR & Thomsen IP. (2020). Epidemiological and clinical evidence for the role of toxins in *S. aureus* human disease. *toxins.* 12, 408.
- Bessa, R.G., Quinto, V.P., Machado, D.C., Lipnharski, C., Weber, M.B., Bonamigo, R.R., D'Azevedo, P.A. (2016). *Staphylococcus aureus* resistance to topical antimicrobials in atopic dermatitis. *Anais Brasileiros de Dermatologia.* 91, 604-610.

- Bieber, T., D'Erme, A.M., Akdis, C.A., Traidl-Hoffmann, C., Lauener, R., Schäppi, G., Schmid-Grendelmeier, P. (2017). Clinical phenotypes and endophenotypes of atopic dermatitis: Where are we, and where should we go. *American academy of allergy, Asthma & immunology* 139, 58-64.
- Bier, K., Schitteck, B. (2021). Beneficial effects of coagulase-negative *Staphylococci* on *Staphylococcus aureus* skin colonization. *Exp Dermatol.* 30, 1442-1452.
- Bjerre, R.D., Bandier, J., Skov, L., Engstrand, L., e Johansen, J.D. (2017). The role of the skin microbiome in atopic dermatitis: a systematic review. *Br J Dermatol.* 177, 1272-1278.
- Błażewicz, I., Jaśkiewicz, M., Piechowicz, L., Neubauer, D., Nowicki, R.J., Kamysz, W., e Barańska-Rybak, W. (2018). Activity of antimicrobial peptides and conventional antibiotics against superantigen positive *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis. *Postepy Dermatol Alergol.* 35, 74-82.
- Blicharz, L., Usarek, P., Młynarczyk, G., Skowroński, K., Rudnicka, L., Samochocki, Z. (2020). Nasal colonization by *Staphylococci* and severity of atopic dermatitis. *Dermatitis.* 31, 215-222.
- Blome, C., Radtke, M.A., Eissing, L., Augustin, M. (2016). Quality of Life in patients with Atopic dermatitis: disease burden, measurement, and treatment benefit. *Am J Clin Dermatol* 17, 163–169.
- Boerlin, P., Kuhnert, P., Hüsey, D., Schaellibaum, M. (2003). Methods for identification of *Staphylococcus aureus* isolates in cases of bovine mastitis. *Journal of Clinical Microbiology.* 41, 767-771.
- Boothe, W.D, Tarbox, J.A., Tarbox, M.B. (2017). Atopic dermatitis: pathophysiology. *Adv Exp Med Biol.* 1027, 21-37.
- Braga, E.D., Aguiar-Alves, F., de Freitas, M.F.N., de e Silva, M.O., Correa, T.V., Snyder, R.E., de Araújo, V.A., Marlow, M.A., Riley, L.W., Setúbal, S., Silva, L.E., e Araújo Cardoso, C.A. (2014). High prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* colonization among healthy children attending public daycare centers in informal settlements in a large urban center in Brazil. *BMC Infect Dis.* 14, 538.
- Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – BrCAST. (2020). Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos.
- Bride, L.L., Pereira, M.F., Barbosa, M.C., Silva, N.C., Klein, N.M., Nascimento, T.C., Schuenck, R.P. (2019). Differences in resistance profiles and virulence genes among methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* of different lineages at a public tertiary hospital. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 52, e20190095.
- Briscoe, C.C., Reich, P., Fritz, S., Coughlin, C.C. (2019). *Staphylococcus aureus* antibiotic susceptibility patterns in pediatric atopic dermatitis. *Pediatr Dermatol.* 2019 36, 482-485.
- Brown, A.F., Leech, J.M., Rogers, T.R., McLoughlin, R.M. (2014). *Staphylococcus aureus* colonization: modulation of host immune response and impact on human vaccine design. *Frontiers in immunology.* 4, 507.
- Brown, M.L., O'Hara, F.P., Close, N.M., Mera, R.M., Miller, L.A., Suaya, J.A., Amrine-Madsen, H. (2012). Prevalence and sequence variation of Panton-Valentine Leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in the United States. *J Clin Microbiol.* 50, 86-90.
- Byrd, A.L., Belkaid, Y., e Segre, J.A. (2018). The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 16, 143-155.
- Byrd, A.L., Deming, C., Cassidy, S.K.B., Harrison, O.J., Ng, W.I., Conlan, S., NISC, Comparative Sequencing Program, Belkaid, Y., Segre, J.A., e Kong, H.H. (2017). *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strain diversity underlying pediatric atopic dermatitis. *Sci Transl Med.* 9, eaal4651.
- Caboclo, R.M., Cavalcante, F.S., Iorio, N.L., Schuenck, R.P., Olendzki, A.N., Felix, M.J., Chamon, R.C., e Santos, KR.N. (2013). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Rio de Janeiro hospitals: dissemination of

the USA400/ST1 and USA800/ST5 *SCCmec* type IV and USA100/ST5 *SCCmec* type II lineages in a public institution and polyclonal presence in a private one. *Am. J. Infect. Control.* 41, 21-26.

Cabral, D.J., Wurster, J.I., Belenky, P. (2018). Antibiotic persistence as a metabolic adaptation: stress, metabolism, the host, and new directions. *pharmaceuticals* (Basel). 11, 14.

Carbo, A. M., Armengot-Carbo, M., Hernández-Martín, Á., Torrelo, A. (2015). The Role of filaggrin in the skin barrier and disease development. *Actas dermo-sifiliográficas.* 106, 86-95.

Carson, C. G., Rasmussen, M. A., Thyssen, J. P., Menné, T., Bisgaard, H. (2012). Clinical presentation of atopic dermatitis by filaggrin gene mutation status during the first 7 years of life in a prospective cohort study. *PLoS One.* 7, 48678.

Cavalcante, F. S., Abad, E. D., Lyra, Y. C., Saintive, S. B., Ribeiro, M., Ferreira, D. C., Santos K. R. (2015). High prevalence of methicillin resistance and PVL genes among *Staphylococcus aureus* isolates from the nares and skin lesions of pediatric patients with atopic dermatitis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 48, 588-594.

Cavalcante, F.S. (2015). Aspectos associados à virulência, resistência e clonalidade de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de pacientes pediátricos com dermatite atópica. Tese de doutorado (Doutorado em Ciências -Microbiologia) -Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, f: 111.

Cavalcante, F.S., Alvarenga, C.V.D.C.G., Saintive, S., Dios Abad, E., Carvalho Ferreira, D., e Dos Santos, K.R.N. (2020). *Staphylococcus aureus* nasal isolates may have the same genetic profile in atopic dermatitis paediatric patients and their close contacts. *J Med Microbiol.* 69, 850-853.

Cavalcante, F.S., Saintive, S., Carvalho, Ferreira, D., Rocha, Silva, A.B., Guimarães, L.C., Braga, B.S., Dios, Abad, E., Ribeiro, M., Netto, Dos, Santos, K.R. (2021). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from infected skin lesions present several virulence genes and are associated with the CC30 in Brazilian children with atopic dermatitis. *Virulence.* 12, 260-269.

Cavalcante, F.S., Schuenck, R.P., Ferreira, D.C., Costa, C.R., Nouér, S.A., Santos, K.R. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: spread of specific lineages among patients in different wards at a Brazilian teaching hospital. *J Hosp Infect.* 86, 151-4.

Chamon, R.C. (2017). Avaliação da expressão fenotípica e genotípica de fatores de virulência e o papel da modulação antimicrobiana no biofilme de amostras de *Staphylococcus aureus* carreadoras dos genes *pvl*. Tese de doutorado (Doutorado em Ciências - Microbiologia) - Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, f: 186.

Chamon, R.C., Ribeiro, S.D., Costa, T.M., Nouér, S.A., Dos, Santos, K.R. (2017). Complete substitution of the Brazilian endemic clone by other methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages in two public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 21, 185-189.

Chaudhry, V., Patil, P. B. (2019). Evolutionary insights into adaptation of *Staphylococcus* to human and non-human niches. *Genomics.* 112, 2052-2062.

Chen, C.H., Kuo, K.C., Hwang, K.P., Lin, T.Y., e Huang, Y.C. (2019). Risk factors for and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization among healthy children in southern Taiwan, 2005-2010. *J Microbiol Immunol Infect.* 52, 929-936.

Chiu, L.S., Ho, M.S., Hsu, L.Y., e Tang, M.B. (2009). Prevalence and molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates colonizing patients with atopic dermatitis and their close contacts in Singapore. *Br J Dermatol.* 160, 965-971.

Chung, H.J., Jeon, H.S., Sung, H., Kim, M.N., e Hong, S.J. (2008). Epidemiological characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children with eczematous atopic dermatitis lesions. *J Clin Microbiol.* 46, 991-995.

Clausen, M.L., Edslev, S.M., Andersen, P.S., Clemmensen, K., Kroghfelt, K.A., e Agner, T. (2017). *Staphylococcus aureus* colonization in atopic eczema and its association with filaggrin gene mutations. *Br J Dermatol.* 177, 1394-1400.

Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. (2020). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 30th: M02 e M07. Wayne, Pennsylvania, EUA.

Damasco, A.P., Costa, T.M.D., Morgado, P.G.M., Guimarães, L.C., Cavalcante, F.S., Nouér, S.A., Santos, K.R.N.D. (2019). Daptomycin and vancomycin non-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal lineages from bloodstream infection in a Brazilian teaching hospital. *Braz J Infect Dis.* 23, 139-142.

Darboe, S., Dobreniecki, S., Jarju, S., Jallow, M., Mohammed, N. I., Wathuo, M., Ceesay, B., Tweed, S., Basu, Roy. R., Okomo, U., Kwambana-Adams, B., Antonio, M., Bradbury, R. S., de Silva. T. I., Forrest, K., Roca, A., Lawal, B. J., Nwakanma, D., Secka, O. (2019). Prevalence of Panton-Valentine Leukocidin (PVL) and antimicrobial resistance in community-acquired clinical *Staphylococcus aureus* in an urban gambian hospital: A 11-Year Period Retrospective Pilot Study. *Frontiers in cellular and infection microbiology.* 9, 170.

Del Rosal, T., Méndez-Echevarría, A., Garcia-Vera, C., Escosa-García, L., Agud, M., Chaves, F., Román, F., Gutierrez-Fernandez, J., Ruiz de Gopegui, E., Ruiz-Carrascoso, G., Ruiz-Gallego, M.D.C., Bernet, A., Quevedo, S.M., Fernández-Verdugo, A.M., Díez-Sebastian, J., Calvo, C., e COSACO Study Group. (2020). *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization in Spanish Children. The COSACO Nationwide Surveillance Study. *Infect Drug Resist.* 13, 4643-4651.

Del Vecchio, V.G., Petroziello, J.M., Gress, M.J., McCleskey, F.K., Melcher, G.P., Crouch, H.K., e Lupski, J.R. (1995). Molecular genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* via fluorophore-enhanced repetitive-sequence PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33, 2141-2144.

Heijer, den., C.D., van Bijnen, E.M., Paget, W.J., Pringle, M., Goossens, H., Bruggeman, C.A., Schellevis, F.G., Stobberingh, E.E., e APRES Study Team. (2013). Prevalence and resistance of commensal *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *S. aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. *Lancet Infect Dis.* 13, 409-415.

Edslev, S.M., Olesen, C.M., Nørreslet, L.B., Ingham, A.C., Iversen, S., Lilje, B., Clausen, M.L., Jensen, J.S., Stegger, M., Agner, T., e Andersen, P.S. (2021). Staphylococcal Communities on Skin Are Associated with Atopic Dermatitis and Disease Severity. *Microorganisms.* 9, 432.

Eibach, D., Nagel, M., Hogan, B., Azuure, C., Krumkamp, R., Dekker, D., Gajdiss, M., Brunke, M., Sarpong, N., Owusu-Dabo, E., e May, J. (2017). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* among Children in the Ashanti Region of Ghana. *PLoS One.* 12, e0170320.

Eichenfield, L. F., Ahluwalia, J., Waldman, A., Borok, J., Udkoff, J., Boguniewicz, M. (2017). Current guidelines for the evaluation and management of atopic dermatitis: A comparison of the joint task force practice parameter and american academy of dermatology guidelines. *J Allergy Clin Immunol.* 139, 49-57.

Enright, M.C., Day, N.P.J., Davies, C.E., Peacock, S.J., e Spratt, B.G. (2000). Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 38, 1008-1015.

Filanovsky, M.G., Pootongkam, S., Tamburro, J.E., Smith, M.C., Ganocy, S.J., e Nedorost, S.T. (2016). The Financial and Emotional Impact of Atopic Dermatitis on Children and Their Families. *J Pediatr.* 169, 284-290.

França, A., Gaio, V., Lopes, N., Melo, L.D.R. (2021). Virulence factors in coagulase-negative *Staphylococci*. *Pathogens.* 10, 170.

- Garg, N., Silverberg, JI. (2015). Epidemiology of childhood atopic dermatitis. *Clin Dermatol.* 33, 281-288.
- Garza-González, E., Morfín-Otero, R., Llaca-Díaz, J.M., Rodríguez-Noriega, E. (2010). *Staphylococcal* cassette chromosome *mec* (*SCCmec*) in methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci*. A review and the experience in a tertiary-care setting. *Epidemiol Infect.* 138, 645-54.
- Gautam, V., Sethuraman, N., Kaur, R., Sachdev, S., Marwaha, N., Ray, P. (2017). Changing epidemiology of coagulase-negative *Staphylococci* in normal flora of skin. *Indian J Med Microbiol.* 35, 277-278.
- Geoghegan, J. A. (2018) *Staphylococcus aureus* and atopic dermatitis: A complex and evolving relationship. *26*, 484-497.
- Gómez-Sanz, E., Ceballos, S., Ruiz-Ripa, L., Zarazaga, M., Torres, C. (2019). Clonally diverse methicillin and multidrug resistant coagulase negative *Staphylococci* Are ubiquitous and pose transfer ability between pets and their owners. *Front Microbiol.* 10, 485.
- Rao., G., Batura, R., Nicholl, R., Coogan, F., Patel, B., Bassett, P., e Kearns, A.M. (2019). Outbreak report of investigation and control of an outbreak of Panton-Valentine Leukocidin-positive methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (PVL-MSSA) infection in neonates and mothers. *BMC Infect Dis.* 19, 178.
- Gordon, R.J., Lowy, F.D. (2008). Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis.* 46, 350-9.
- Graber, C. J., Shane, A. L., Weintrub, P., Chambers, H. F. (2011). Clonality of *Staphylococcus aureus* colonization over time in attendees of a camp for children with chronic dermatoses. *28*, 519-23.
- Grace, J.A., Olayinka, B.O., Onaolapo, J.A., Obaro, S.K. (2019). *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* in bacteremia: the epidemiology, predisposing factors, pathogenicity, and antimicrobial resistance. *Clin Microbiol.* 8, 325.
- Guttman-Yassky, E., Krueger, J. G. (2017). Atopic dermatitis and psoriasis: two different immune diseases or one spectrum? *Curr Opin Immunol.* 48, 68-73.
- Hakimi, R. A., Tavasoli F, Barati A, Shahrokhi, S. B., Salimi, Z., Babaeekhou, L. (2020). Synergistic activity of melittin with mupirocin: A study against methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) isolates. *Saudi J Biol Sci.* 27, 2580-2585.
- Hanifin, J.M., e Rajka, G. (1980). Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Dermatovener* 92, 44-47.
- Hanssen, A.M., Kjeldsen, G., Sollid, J.U. (2004). Local variants of *Staphylococcal* cassette chromosome *mec* in sporadic methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci*: evidence of horizontal gene transfer?. *Antimicrob Agents Chemother.* 48, 285-296.
- Harkins, C.P., McAleer, M.A., Bennett, D., McHugh, M., Fleury, O.M., Pettigrew, K.A., Oravcová, K., Parkhill, J., Proby, C.M., Dawe, R.S., Geoghegan, J.A., Irvine, A.D., e Holden, M.T.G. (2018). The widespread use of topical antimicrobials enriches for resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 179, 951-958.
- Hartman, B.J., Tomasz, A. (2021). Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 158, 513-6.
- Hassoun, A., Linden, P.K., Friedman, B. (2017). Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. *Crit Care.* 21, 211.

- Herman-Bausier, P., Labate, C., Towell, A. M., Derclaye, S., Geoghegan, J. A., Dufrêne, Y. F. (2018). *Staphylococcus aureus* clumping factor A is a force-sensitive molecular switch that activates bacterial adhesion. *Dufrêne Proceedings of the National Academy of Sciences*. 115, 5564-5569.
- Hiramatsu, K., Cui, L., Kuroda, M., e Ito, T. (2002). The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 9, 486-493.
- Hiramatsu, K., Hanakia, H., Inob, T., Yabutab, K., Oguric, T., e Tenover, F.C. (1997). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J. Antimicrob. Chemother.* 40, 135-136.
- Hirota, S., Sasaki, T., Kuwahara-Arai, K., e Hiramatsu, K. (2011). Rapid and accurate identification of human associated *Staphylococci* by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiolog., JCM-00488*.
- Holm, J.G., Agner, T., Clausen, M.L., Thomsen, S.F. (2019). Determinants of disease severity among patients with atopic dermatitis: association with components of the atopic march. *Arch Dermatol Res.* 311, 173-182.
- Homey, B., Steinhoff, M., Ruzicka, T., Leung, D. Y. (2006). Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 118, 178-89.
- Huang, J., Choo, Y.J., Smith, H.E., e Apfelbacher, C. (2021). Quality of life in atopic dermatitis in Asian countries: a systematic review. *Arch Dermatol Res.*
- Hwang, J., Thompson, A. (2021). Update understanding of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: from virulence factors to commensal and clonal complex. 30, 1532-1545.
- Iorio, N.L., Azevedo, M.B., Frazão, V.H., Barcellos, A.G., Barros, E.M., Pereira, E.M., e Dos Santos, K.R. (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* carrying biofilm formation genes: detection of clinical isolates by multiplex PCR. *Int. Microbiol.* 14, 13-17.
- Jagadeesan, S., Kurien, G., Divakaran, M.V., Sadanandan, S.M., Sobhanakumari, K., e Sarin, A. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and disease severity in atopic dermatitis: a cross-sectional study from South India. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 80, 229-234.
- Jenkins, A., Diep, B. A, Mai, T. T, Vo, N. H, Warrenner, P., Suzich, J., Stover, C. K., Sellman, B. R. (2015). Differential expression and roles of *Staphylococcus aureus* virulence determinants during colonization and disease. *mBio.* 6, 02272-14.
- Jenul, C.; Horswill, A.R. (2019) Regulation of *Staphylococcus aureus* Virulence. *Microbiol. Spectr.* 7.
- Jung, M.Y., Chung, J.Y., Lee, H.Y., Park, J., Lee, D.Y., e Yang, J.M. (2015). Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* in Atopic Dermatitis: Current Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Korea and Treatment Strategies. *Ann Dermatol.* 27, 398-403.
- Junie, L. M., Jeican II, Matroş L, Pandrea SL. (2018). Molecular epidemiology of the community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones: a synthetic review. *Clujul medical.* 91, 7–11.
- Katayama, Y., Ito, T., e Hiramatsu, K. (2000). A new class of genetic element, staphylococcal cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 1549-1555
- Kateete, D.P., Asiimwe, B.B., Mayanja, R., Najjuka, C.F., e Rutebemberwa, E. (2020). Species and drug susceptibility profiles of staphylococci isolated from healthy children in Eastern Uganda. *PLoS One.* 15, e0229026.
- Kennedy, E.A., Connolly, J., Hourihane, J.O., Fallon, P.G., McLean, W.H.I., Murray, D., Jo, J.H., Segre, J.A., Kong, H.H., Irvine, A.D. (2017). Skin microbiome before development of atopic dermatitis: Early colonization

with commensal *Staphylococci* at 2 months is associated with a lower risk of atopic dermatitis at 1 year. *J Allergy Clin Immunol.* 139, 166-172.

Kobayashi, T., Glatz, M., Horiuchi, K., Kawasaki, H., Akiyama, H., Kaplan, D. H., Kong, H. H., Amagai, M., Nagao, K. (2015). Dysbiosis and *Staphylococcus aureus* colonization drives inflammation in atopic dermatitis. *Immunity.* 42, 756-66.

Kong, H. H., Oh, J., Deming, C., Conlan, S., Grice, E. A., Beatson, M. A., Nomicos, E., Polley, E. C., Komarow, H. D., Murray P.R., Turner M.L., Segre, J.Á. (2012). Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *22*, 850-9.

Kotloff, K.L., Shirley, D.T., Creech, C.B., Frey, S.E., Harrison, C.J., Staat, M., Anderson, E.J., Dulkerian, S., Thomsen, I.P., Al-Hosni, M., Pahud, B.A., Bernstein, D.I., Yi, J., Petrikin, J.E., Haberman, B., Stephens, K., Stephens, I., Oler, R.E. Jr., Conrad, T.M. (2019). Mupirocin for *Staphylococcus aureus* decolonization of infants in neonatal intensive care units. *Pediatrics.* 143, 20181565.

Kwon, S., Choi, J.Y., Shin, J.W., Huh, C.H., Park, K.C., Du, M.H., Yoon, S., Na, J.I. (2019). Changes in lesional and non-lesional skin microbiome during treatment of atopic dermatitis. *Acta Derm. Venereol.* 99, 284-290.

Lakhundi, S., Zhang, K. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clin Microbiol Rev.* 31, 00020-18.

Lee, A.S., Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers.* 31, 18033.

Lina, G., Piemont, Y., Godail-Gamot, F., Bes, M., Peter, M.O., Gauduchon, V., Vandenesch, F., e Etienne, J. (1999). Involvement of Pantone-Valentine Leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin. Infect. Dis.* 29, 1128-1132.

Lipnharski, C., d'Azevedo, P.A., Quinto, V.P., Bessa, G., e Bonamigo, R.R. (2013). Colonization by *S. aureus* increases the EASI and the number of appointments by patients with atopic dermatitis: cohort with 93 patients. *An Bras Dermatol.* 88, 518-521.

Lo, W.T., Wang, S.R., Tseng, M.H., Huang, C.F., Chen, S.J., e Wang, C.C. (2010). Comparative molecular analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children with atopic dermatitis and healthy subjects in Taiwan. *Br J Dermatol.* 162, 1110-1116.

LPSN List of Prokaryotic names with standing in Nomenclature. Disponível em: <http://www.bacterio.net/>. Acesso em 05/01/2022.

Martineau, F., Picard, F.J., Roy, P.H., Ouellette, M., e Bergeron, M.G. (1998). Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 36, 618-623.

Martínez-Meléndez, A., Morfín-Otero, R., Villarreal-Treviño, L., Camacho-Ortiz, A., González-González, G., Llaca-Díaz, J., Rodríguez-Noriega, E., e Garza-González, E. (2016). Molecular epidemiology of coagulase-negative bloodstream isolates: detection of *Staphylococcus epidermidis* ST2, ST7 and linezolid-resistant ST23. *Braz J Infect Dis.* 20, 419-428.

Masiuk, H., Wcisłək, A., e Jursa-Kulesza, J. (2021). Determination of nasal carriage and skin colonization, antimicrobial susceptibility and genetic relatedness of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis in Szczecin, Poland. *BMC Infect Dis.* 21, 701.

Matiz, C., Tom, W.L., Eichenfield, L.F., Pong, A., e Friedlander, S.F. (2011). Children with atopic dermatitis appear less likely to be infected with community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the San Diego experience. *Pediatr Dermatol.* 28, 6-11.

- McClanahan D., Wong, A., Kezic, S., Samrao, A., Hajar, T., Hill, E., Simpson, E. L. (2019). A randomized controlled trial of an emollient with ceramide and filaggrin-associated amino acids for the primary prevention of atopic dermatitis in high-risk infants. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 33, 2087-2094.
- McDougal, L.K., Steward, C.D., Killgore, G.E., Chaitram, J.M., McAllister, S.K., e Tenover, F. (2003). Pulsed-Field Gel Electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. *J. Clin. Microbiol.* 41, 5113-5120.
- Meisel, J.S., Sfyroera, G., Bartow-McKenney, C., Gimblet, C., Bugayev, J., Horwinski, J., Kim, B., Brestoff, J.R., Tyldsley, A.S., Zheng, Q., Hodkinson, B.P., Artis, D., e Grice, E.A. (2018). Commensal microbiota modulate gene expression in the skin. *Microbiome.* 6, 1-15.
- Meylan, P., Lang, C., Mermoud, S., Johannsen, A., Norrenberg, S., Hohl, D., Vial, Y., Prod'hom, G., Greub, G., Kypriotou, M., Christen-Zaech, S. (2017). Skin colonization by *Staphylococcus aureus* precedes the clinical diagnosis of atopic dermatitis in infancy. *J Invest Dermatol.* 137, 2497-2504.
- Milheiro, C., Oliveira, D.C., e De Lencastre, H. (2007). Update to the multiplex PCR strategy for assignment of *mec* element types in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 3374-3377.
- Moosavian, M., Baratian, Dehkordi, P., Hashemzadeh, M. (2020). Characterization of *SCCmec*, *Spa* Types and Multidrug Resistant of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates in Ahvaz, Iran. *Infect Drug Resist.* 13, 1033-1044
- Morgenstern, M., Erichsen, C., Hackl, S., Mily, J., Militz, M., Friederichs, J., Hungerer, S., Bühren, V., Moriarty, T.F., Post, V., Richards, R.G., Kates, S.L. (2016). Antibiotic Resistance of Commensal *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative *Staphylococci* in an International Cohort of Surgeons: A prospective point-prevalence study. *PLoS One.* 11, 0148-437.
- Na, S.Y., Roh, J.Y., Kim, J.M., Tamang, M.D., e Lee, J.R. (2012). Analysis of Colonization and Genotyping of the Exotoxins of *Staphylococcus aureus* in Patients with Atopic Dermatitis. *Ann Dermatol.* 24, 413-419.
- Nakatsuji, T., Chen, T. H., Two, A. M., Chun, K. A., Narala, S., Geha, R. S., Hata, T. R., Gallo, R. L. (2016). *Staphylococcus aureus* exploits epidermal barrier defects in atopic dermatitis to trigger cytokine expression. *J Invest Dermatol.* 136, 2192-2200.
- Nakatsuji, T., Chen, T.H., Narala. S., Chun, K.A., Two, A.M., Yun, T., Shafiq, F., Kotol, P.F., Bouslimani, A., Melnik, A.V., Latif, H., Kim, J.N., Lockhart, A., Artis, K., David, G., Taylor, P., Streib, J., Dorrestein, P. C., Grier, A., Gill, S.R., Zengler, K., Hata, T.R., Leung, D.Y., Gallo, R.L. (2017). Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis. *Sci Transl Med.* 9, 378.
- Novak-Bilić, G., Vučić, M., Japundžić, I., Meštrović-Štefekov, J., Stanić-Duktaj, S., Lugović-Mihić, L. (2018). Irritant and allergic contact dermatitis – skin lesion characteristics. *Acta clinica Croatica.* 57, 713-720.
- O'Sullivan, J.N., Rea, M.C., O'Connor, P.M., Hill, C., Ross, R.P. (2019). Human skin microbiota is a rich source of bacteriocin-producing *Staphylococci* that kill human pathogens. *FEMS Microbiol. Ecol.* 95, 241.
- Oliveira, W.F., Silva, P.M.S., Silva, R.C.S., Silva, G.M.M., Machado, G., Coelho, L.C.B.B., Correia, M.T.S. (2018). *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* infections on implants. *J Hosp Infect.* 98, 111-117.
- Otto, M.P., Martin, E., Badiou, C., Lebrun, S., Bes, M., Vandenesch, F., Etienne, J., Lina, G., e Dumitrescu, O. (2013). Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on virulence factor expression by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 68, 1524-1532.

- Paiva-Santos, W., Barros, E.M., Sousa, V.S., Laport, M.S., Giambiagi-deMarval, M. (2016). Identification of coagulase-negative *Staphylococcus saprophyticus* by polymerase chain reaction based on the heat-shock repressor encoding *hrcA* gene. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 86, 253-256.
- Paller, A.S., Kong, H.H., Seed, P., Naik, S., Scharschmidt, T.C., Gallo, R.L., Luger, T., Irvine, A.D. (2019). The microbiome in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 143, 26-35.
- Park, H.Y., Kim, C.R., Huh, I.S., Jung, M.Y., Seo, E.Y., Park, J.H., Lee, D.Y., e Yang, J.M. (2013). *Staphylococcus aureus* Colonization in Acute and Chronic Skin Lesions of Patients with Atopic Dermatitis. *Ann Dermatol.* 25, 410-416.
- Park, J.M., Jo, J.H., Jin, H., Ko, H.C., Kim, M.B., Kim, J.M., Kim, D.W., Jang, H.S., Kim, B.S. (2016). Change in antimicrobial susceptibility of skin-colonizing *Staphylococcus aureus* in Korean patients with atopic dermatitis during Ten-Year Period. *Ann Dermatol.* 28, 470-8.
- Parlet, C.P., Brown, M. M., Horswill, A.R. (2019). Commensal *Staphylococci* influence *Staphylococcus aureus* skin colonization and disease. *Trends Microbiol.* 27, 497-507.
- Partridge, S.R., Kwong, S.M., Firth, N., e Jensen, S.O. (2018). Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 31, e00088-e00117.
- Pascolini, C., Sinagra, J., Pecetta, S., Bordignon, V., De Santis, A., Cilli, L., Cafiso, V., Prignano, G., Capitanio, B., Passariello, C., Stefani, S., Cordiali-Fei, P., e Ensoli, F. (2011). Molecular and immunological characterization of *Staphylococcus aureus* in pediatric atopic dermatitis: implications for prophylaxis and clinical management. *Clin Dev Immunol.* 71, 8708.
- Peng, W., Novak, N. (2015). Pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy.*45, 566-74.
- Petry, V., Lipnarski, C., Bessa, G. R., Silveira, V. B., Weber, M. B., Bonamigo, R. R., d'Azevedo, P. A. (2014). Prevalence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance in patients with atopic dermatitis in Porto Alegre, Brazil. *Int. J. Dermatol.* 53, 731-735.
- Pitcher, D.G.; Sauders, N.A. e Owenm, R.J. (1989). Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. *Lett. Appl. Microbiol.* 151-156.
- Rezaei., Mohammad & Chavoshzadeh., Zahra & Haroni., Nader & Armin., Shahnaz & Navidinia., Masoumeh & Mansouri., Mahbobeh & Shamshiri., Ahmad Reza & Mesdaghi., Mehrnaz & Eshgh., Fatemeh. (2013). Colonization With Methicillin Resistant and Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* Subtypes in Patients With Atopic Dermatitis and Its Relationship With Severity of Eczema. *Archives of Pediatric Infectious Diseases.* 1, 53-56.
- Rodriguez-Noriega, E., Seas, C., Guzmán-Blanco, M., Mejía, C., Alvarez, C., Bavestrello, L, Zurita, J., Labarca, J., Luna, C.M., Salles, M.J., Gotuzzo, E. (2010). Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin-America. *International Journal of Infectious Diseases.* 17: 560-566.
- Roesner, L. M., Werfel, T. (2019). Autoimmunity (or not) in Atopic Dermatitis. *Front Immunol.* 10, 21-28.
- Rolo, J., Lencastre, H., Miragaia, M. (2014). High frequency and diversity of cassette chromosome recombinases (*ccr*) in methicillin-susceptible *Staphylococcus sciuri*. *J Antimicrob Chemother.* 69, 1461-9.
- Rolo, J., Worning, P., Nielsen, J.B., Bowden, R., Bouchami, O., Damborg, P., Guardabassi, L., Perreten, V., Tomasz, A., Westh, H., Lencastre, H., Miragaia, M. (2017). Evolutionary origin of the *Staphylococcal* cassette chromosome *mec* (*SCCmec*). *Antimicrob Agents Chemother.* 61, 02302-16.
- Ruffing, U., Alabi, A., Kazimoto, T., Vubil, D.C., Akulenko, R., Abdulla, S., Alonso, P., Bischoff, M., Germann, A., Grobusch, M.P., Helms, V., Hoffmann, J., Kern, W.V., Kremsner, P.G., Mandomando, I.,

- Mellmann, A., Peters, G., Schaumburg, F., Schubert, S., Strauß, L., Tanner, M., Briesen, H.V., Wende, L., Müller, L.V., Herrmann, M. (2017). Community-associated *Staphylococcus aureus* from sub-saharan Africa and Germany: A cross-sectional geographic correlation study. *Sci Rep.* 7, 154.
- Saber, H., Jasni, A.S., Jamaluddin, T.Z.M.T., Ibrahim, R. (2017). A Review of *Staphylococcal* Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) Types in Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) Species. *Malays J Med Sci.* 5, 7-18.
- Sacotte, R., Silverberg, J. I. (2018). Epidemiology of adult atopic dermatitis. *Clin Dermatol.* 36, 595-605.
- Salava, A., Lauerma, A. (2014). Role of the skin microbiome in atopic dermatitis. *Clin Transl Allergy.* 4, 33.
- Salgueiro, V.C., Seixas, M.D.L., Guimarães, L.C., Ferreira, D.C., Da Cunha, D.C., Nouér, S.A., Dos Santos, K.R.N. (2019). High rate of neonates colonized by methicillin-resistant *Staphylococcus* species in an Intensive Care Unit. *J Infect Dev Ctries.* 13, 810-816.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., e Maniatis, T. (1989). Extraction and purification of plasmid DNA. In: molecular cloning: a laboratory manual. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Apêndice A5.
- Schuenck, R.P., Pereira, E.M., Iorio, N.L., Dos, Santos, K.R. (2009). Multiplex PCR assay to identify methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 52, 431-5.
- Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index (1993). Consensus report of the European task force on atopic dermatitis. *Dermatology.* 186, 23-31.
- Shallcross, L.J., Fragaszy, E., Johnson, A.M., Hayward, A.C. (2013). The role of the Pantone-Valentine Leucocidin toxin in *staphylococcal* disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 13, 43-54.
- Shi, B., Leung, D.Y.M., Taylor, P.A., e Li H. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization is associated with decreased skin commensal bacteria in atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 138, 1668-1671.
- Shopsin, B., Copin, R. (2018) *Staphylococcus aureus* Adaptation During Infection. In: Fong I., Shlaes D., Drlica K. (eds) antimicrobial resistance in the 21st Century. Emerging Infectious Diseases of the 21st Century. Springer, Cham. 14, 431-459.
- Sibbald, C., e Drucker A.M. (2017). Patient burden of atopic dermatitis. *Dermatol. Clin.* 35, 303-316.
- Silveira, A.C., Cunha, G.R., Caierão, J., Cordova, C.M., d'Azevedo, P.A. (2015). MRSA from Santa Catarina state, southern Brazil: intriguing epidemiological differences compared to other Brazilian regions. *Braz J Infect Dis.* 19, 384-9.
- Silverberg, J.I., Gelfand, J.M., Margolis, D.J., Boguniewicz, M., Fonacier, L., Grayson, M.H., Simpson, E.L., Ong, P.Y., e Chiesa Fuxench, Z.C. (2018). Patient burden and quality of life in atopic dermatitis in US adults: A population-based cross-sectional study. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 121, 340-347.
- Smeden, J. V., Bouwstra, J.A. (2016). Stratum corneum lipids: Their role for the skin barrier function in healthy subjects and atopic dermatitis patients. *Curr Probl Dermatol.* 49, 8-26.
- Stryjewski, M.E., Corey, G.R. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolving pathogen. *Clin Infect Dis.* 58, 10-9.
- Sutter, D.E., Milburn, E., Chukwuma, U., Dzialowy, N., Maranich, A.M., e Hospenthal, D.R. (2016). Changing Susceptibility of *Staphylococcus aureus* in a US Pediatric Population. *Pediatrics.* 137, e20153099.
- Tang, C.S., Wang, C.C., Huang, C.F., Chen, S.J., Tseng, M.H., e Lo, W.T. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* in children with atopic dermatitis. *Pediatr Int.* 53, 363-367.

- Teixeira, M.M., Araújo, M.C., Silva-Carvalho, M.C., Beltrame, C.O., Oliveira, C.C.H.B., Figueiredo, A.M.S., e Oliveira, A.G. (2012). Emergence of clonal complex 5 (CC5) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates susceptible to trimethoprim-sulfamethoxazole in a Brazilian hospital. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 45, 637-643.
- Totté, J.E., van, der, Feltz, W.T., Hennekam, M., van, Belkum, A., van, Zuuren, E.J., Pasmans, S.G. (2016). Prevalence and odds of *Staphylococcus aureus* carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol.* 175, 687-95.
- Towell, A.M., Feuillie, C., Vitry, P., Da, Costa, T.M., Mathelié-Guinlet, M., Kezic, S., Fleury, O.M., McAleer, M.A., Dufrière, Y.F., Irvine, A.D., Geoghegan, J.A. (2021). *Staphylococcus aureus* binds to the N-terminal region of corneodesmosin to adhere to the stratum corneum in atopic dermatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 118.
- Travers, J.B., Kozman, A., Yao, Y., Ming, W., Yao, W., Turner, M.J., Kaplan, M.H., Mousdicas, N., Haggstrom, A.N., e Saha, C. (2012). Treatment outcomes of secondarily impetiginized pediatric atopic dermatitis lesions and the role of oral antibiotics. *Pediatr Dermatol.* 29, 289-296.
- Turner, N.A., Sharma-Kuinkel, B.K., Maskarinec, S.A., Eichenberger, E.M., Shah, P.P., Carugati, M., Holland, T.L., Fowler, V.G. Jr. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol.* 17, 203-218.
- Uhlemann, A. C., Dordel, J., Knox, J. R., Raven, K. E., Parkhill, J., Holden, M. T., Peacock, S. J., Lowy, F. D. (2014). Evolution of USA300 in a community. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 111, 6738-743.
- Valadan, T. S; Azimi, L., Nowroozi, J., Armin, S., Fallah, F. (2019). Multilocus sequence typing and antibiotic resistant patterns of the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from different clinical specimens, *Reviews in Medical Microbiology.* 30, 77-82.
- Van Belkum, A., Verkaik, N.J., de Vogel, C.P., Boelens, H.A., Verveer, J., Nouwen, J.L., Verbrugh, H.A., e Wertheim, H.F. (2009). Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *J. Infect. Dis.* 199, 1820-1826.
- VanEperen, A.S., Segreti, J. (2016). Empirical therapy in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: An Up-To-Date approach. *J Infect Chemother.* 6, 351-9.
- Vivoni, A.M., Diep, B.A., De Gouveia Magalhães, A.C., Santos, K.R.N., Riley, L.W., Sensabaugh, G.F., e Moreira, B.M. (2006). Clonal composition of *Staphylococcus aureus* isolates at a Brazilian university hospital: identification of international circulating lineages. *J. Clin. Microbiol.* 44, 1686-1691.
- Walsh, P.S., Metzger, D.A., e Higuchi, R. (1991). Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques* 10, 506-513.
- Wang, W., Hu, Y., Baker, M., Dottorini, T., Li, H., Dong, Y., Bai, Y., Fanning, S., Li, F. (2022). Novel SCCmec type XV (7A) and two pseudo-SCCmec variants in foodborne MRSA in China. *J Antimicrob Chemother.* 500
- Weidinger, S., Beck, L. A., Bieber, T., Kabashima, K., Irvine, A. D. (2018). Atopic dermatitis. *Nat Rev Dis Primers.* 4, 1.
- Weidinger, S., Novak, N. (2016). Atopic dermatitis. *Lancet.* 387, 1109-1122.
- Williams, M. R., & Gallo, R. L *et al.* (2017). Evidence that human skin microbiome dysbiosis promotes atopic dermatitis. *The Journal of investigative dermatology,* 137(12), 2460–2461.
- Wollenberg, A., Barbarot, S., Bieber, T., Christen-Zaech, S., Deleuran, M., Fink-Wagner, A., Gieler, U., Girolomoni, G., Lau, S., Muraro, A., Czarnecka-Operacz, M., Schäfer, T., Schmid-Grendelmeier, P., Simon, D., Szalai, Z., Szepietowski, J.C., Taïeb, A., Torrelo, A., Werfel, T., Ring, J. (2018). Consensus-based European

guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 32, 657-682.

Xu, X., van Galen, L.S., Koh, M.J.A., Bajpai, R., Thng, S., Yew, Y.W., Ho, V.P.Y., Alagappan, U., Järbrink, K.S.A., e Car, J. (2019). Factors influencing quality of life in children with atopic dermatitis and their caregivers: a cross-sectional study. *Sci Rep.* 9, 15990.

Xu, Z., Misra, R., Jamroz, D., Paterson, G.K., Cutler, R.R., Holmes, M.A., Gharbia, S., e Mkrchyan, H.V. (2018). Whole Genome Sequence and Comparative Genomics Analysis of Multi-drug Resistant Environmental *Staphylococcus epidermidis* ST59. *G3 (Bethesda).* 8, 2225-2230.

Yeung, M., Balma-Mena, A., Shear, N., Simor, A., Pope, E., Walsh, S., e McGavin, M.J. (2011). Identification of major clonal complexes and toxin producing strains among *Staphylococcus aureus* associated with atopic dermatitis. *Microbes Infect.* 13, 189-197.

Zaniboni, C., Samorano, L. P., Orfali, R. L, Aoki, V. (2016). Skin barrier in atopic dermatitis: beyond filaggrin. *Anais Brasileiros de Dermatologia,* 91, 472-478.

Zong, Z., Peng, C., Lu, X. (2011). Diversity of *SCCmec* elements in methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci* clinical isolates. *PLoS One.* 6, 2019.

ANEXO 1

Saúde
Ministério da Saúde

Plataforma
Brasil

principal sair

Público Pesquisador Alterar Meus Dados

Dennis de Carvalho Ferreira - Pesquisador | V3.2
Sua sessão expira em: 39min 22

Cadestros

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo fenotípico e molecular da microbiota intestinal, nasal e de lesão de pele de pacientes pediátricos com dermatite atópica
Pesquisador Responsável: Dennis de Carvalho Ferreira
Área Temática:
Versão: 4
CAAE: 55087616.0.0000.5264
Submetido em: 11/07/2018
Instituição Proponente: Instituto de Puericultura e Pediatria Mariagão Gesteira - RJ
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_1178555

