



Perfil fenotípico e genotípico de *Staphylococcus aureus* isolados de estudantes de enfermagem, 2008*

Phenotypic and genotypic profile of Staphylococcus aureus isolated in nursing students, 2008

Perfil fenotípico y genotípico del Staphylococcus aureus aislados de estudiantes de enfermería, 2008

Suelen Teixeira Faria¹, Aline Cristina Rissato Piekarski¹, Maria Cristina Bronharo Tognim², Sueli Donizete Borelli³, João Bedendo⁴

RESUMO

Objetivo: Verificar a prevalência de carreamento nasal, perfil fenotípico e genotípico de *S. aureus* isolados de estudantes de enfermagem. **Métodos:** Estudo transversal, com população composta por 101 alunos, cursando as três primeiras séries do curso de graduação em Enfermagem no ano de 2008. *S. aureus* foi isolado de material biológico obtido dos vestibulos nasais através de swab. A susceptibilidade à oxacilina e vancomicina foi determinada pelo teste de concentração inibitória mínima. A presença do gene *MecA* foi determinada pelo teste de reação em cadeia da polimerase. **Resultados:** Verificou-se 90,1% de positividade para *S. aureus*. A frequência de resistência à oxacilina foi de 9,8% e todas as amostras foram sensíveis à vancomicina. A oito amostras resistentes à oxacilina apresentaram o gene *MecA*. **Conclusão:** A prevalência foi elevada. A resistência à oxacilina foi expressiva e todas as amostras foram sensíveis à vancomicina. As amostras resistentes à oxacilina carregavam o gene *MecA*.

Descritores: *Staphylococcus aureus*; Resistência; Colonização

ABSTRACT

Objective: To investigate the prevalence of nasal entrainment, phenotypic and genotypic profile of *Staphylococcus aureus*, as isolated from nursing students. **Methods:** A cross-sectional population of 101 students enrolled in the first three grades of the undergraduate nursing course in 2008. *Staphylococcus aureus* was isolated from biological material obtained from the swab through the nasal vestibules. Susceptibility to oxacillin and vancomycin was determined by minimum inhibitory concentration test. The *mecA* gene was identified by testing the polymerase chain reaction. **Results:** There was a 90.1% positive finding of *Staphylococcus aureus*. The frequency of oxacillin resistance was 9.8%; all samples were sensitive to vancomycin. The eight strains resistant to oxacillin carried the *mecA* gene. **Conclusion:** The prevalence of *Staphylococcus aureus* was high. Oxacillin resistance was significant, but all strains were sensitive to vancomycin. Isolates resistant to oxacillin carried the *mecA* gene.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; Drug resistance; Colonization

RESUMEN

Objetivo: Verificar la prevalencia de transporte nasal, perfil fenotípico y genotípico de *S. aureus* aislados de estudiantes de enfermería. **Métodos:** Estudio transversal, con población compuesta por 101 alumnos, cursando las tres primeras series del Pregrado en Enfermería en el año 2008. El *S. aureus* fue aislado del material biológico obtenido de los vestibulos nasales a través de swab. La susceptibilidad a la oxacilina y vancomicina fue determinada por el test de concentración inhibitoria mínima. La presencia del gen *MecA* fue determinada por el test de reacción en cadena de la polimerasa. **Resultados:** Se verificó el 90,1% de positividad para el *S. aureus*. La frecuencia de resistencia a la oxacilina fue de 9,8% y todas las muestras fueron sensibles a la vancomicina. Las ocho muestras resistentes a la oxacilina presentaron el gen *MecA*. **Conclusión:** La prevalencia fue elevada. La resistencia a la oxacilina fue expresiva y todas las muestras fueron sensibles a la vancomicina. Las muestras resistentes a la oxacilina transportaban el gen *MecA*.

Descriptores: *Staphylococcus aureus*; Resistência; Colonización

* Trabalho realizado na Universidade Estadual de Maringá – UEM- Maringá (PR), Brasil.

¹ Pós-graduanda (Mestrado) em Enfermagem da Universidade Estadual de Maringá – UEM- Maringá (PR), Brasil.

² Doutora, Professora do Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Maringá – UEM- Maringá (PR), Brasil.

³ Doutora, Professora do Departamento de Imunologia, Universidade Estadual de Maringá – UEM- Maringá (PR), Brasil.

⁴ Doutor, Professora do Departamento de Enfermagem, Universidade Estadual de Maringá – UEM- Maringá (PR), Brasil.

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) é um importante patógeno envolvido na etiologia das infecções humanas, sendo encontrado, como flora normal, nas fossas nasais, virília e axilas⁽¹⁾.

A colonização nasal de *S. aureus* é a principal responsável pela colonização da superfície cutânea, tornando-se motivo de preocupação ao considerarmos a prevalência destes micro-organismos na população e entre os trabalhadores hospitalares⁽²⁻³⁾. A identificação do portador nasal de *S. aureus* é importante para que se possa compreender a epidemiologia das infecções⁽⁴⁾, avaliar o risco para a sua aquisição e transmissão⁽⁵⁻⁶⁾.

A prevalência de portadores assintomáticos de *S. aureus*, entre indivíduos da comunidade universitária tem sido de 40%⁽⁷⁾, sendo observado um percentual expressivo de cepas multirresistentes, particularmente entre aqueles elementos que fazem parte do staff hospitalar⁽³⁾. A colonização de trabalhadores em ambiente hospitalar pode variar de 30% a 70%, podendo atingir 90%, dependendo das condições ambientais, dos pacientes atendidos, do uso de antimicrobianos e da própria estrutura do hospital. Em adultos sem ligação com o ambiente hospitalar, a variação deveria se limitar entre 20% e 50%⁽⁸⁾.

Estudantes do Curso de Enfermagem da Universidade Estadual de Maringá inicialmente desenvolvem sua formação acadêmica em ambientes extra hospitalar que, posteriormente, é concluída com estágios práticos em hospitais, Centros e Postos de Saúde. Esta mudança de ambiente durante a formação acadêmica poderia implicar, para esses indivíduos, uma alteração na frequência de carriageamento nasal de *S. aureus*, bem como mudança no perfil fenotípico e genotípico das cepas albergadas.

Ao longo dos anos, *S. aureus* de origem hospitalar tornou-se, resistente à maioria das drogas usualmente empregadas na prática clínica e, atualmente, um percentual significativo destas estirpes, de procedência comunitária, também tem apresentado multirresistência⁽⁹⁾. A oxacilina é um importante marcador de resistência para outros antimicrobianos e, na atualidade, diversos estudos vêm demonstrando aumento da frequência de resistência a esta droga entre cepas de *S. aureus*, tanto de origem comunitária como hospitalar⁽⁹⁻¹⁰⁾.

Hoje, no Brasil, o uso da vancomicina representa uma das últimas linhas de tratamento da infecção estafilocócica, sendo ainda escassos os estudos que demonstraram o isolamento de estirpes resistentes. Esta resistência, entretanto, já se encontra disseminada em diversos países, conforme relatado em alguns estudos^(3,9,11) e a vigilância epidemiológica é importante para detectar o surgimento de resistência em nosso meio.

A partir da década de 1990, intensificaram-se os relatos de infecções associadas à resistência à oxacilina e

à vancomicina. O Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recomenda que a detecção destas resistências seja realizada pelo teste de Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)⁽¹²⁾. O CIM é um método considerado padrão para a avaliação quantitativa da resistência bacteriana aos antimicrobianos⁽⁹⁾.

A produção de penicilinas semissintética, a partir de 1959 resultou na criação da metilina que contém um anel betalactâmico que interage com as proteínas ligadoras de penicilina da membrana, impedindo a formação completa da camada de peptidoglicano da parede celular bacteriana. O gene *mecA*, responsável pela resistência à metilina altera essas proteínas de membrana, codificando uma nova proteína de ligação denominada PBP2a com baixa afinidade por β -lactâmicos, e dois genes regulatórios, o *mecI* e o *mecR*, constituindo o complexo cromossômico *mec* estafilocócico (*SCCmec*). O gene que codifica a resistência bacteriana às drogas pode localizar-se no cromossomo ou em plasmídeos, sendo o DNA plasmidial transmitido mais facilmente por conjugação⁽¹³⁾. A identificação do tipo de resistência e a forma pela qual é transmitida é um instrumental importante na prevenção e controle da infecção estafilocócica^(1,13).

O presente estudo teve por objetivo verificar a prevalência do carriageamento nasal de *S. aureus* entre estudantes de enfermagem de uma Universidade Estadual do Paraná e os perfis genotípico e fenotípico das amostras isoladas.

MÉTODOS

É uma pesquisa do tipo transversal, realizada entre maio e dezembro de 2008 e a população envolvida compôs-se por 101 acadêmicos de enfermagem da Universidade Estadual de Maringá (UEM), distribuídos da seguinte forma: 40 alunos do 1º ano de graduação, 27 do 2º ano de graduação e 24 do 3º ano de graduação.

Participaram da pesquisa todos os acadêmicos de enfermagem que concordaram e que no momento da coleta não apresentavam sinais e sintomas clínicos de infecção. Foram respeitados todos os preceitos contidos na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde⁽¹⁴⁾, do Ministério da Saúde, que disciplina as pesquisas com Seres Humanos e aprovados pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa, envolvendo seres humanos (COPEP) da UEM sob o Parecer n.º 536/2008.

Os alunos foram orientados quanto aos objetivos da pesquisa e as dúvidas foram esclarecidas, antes da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e do preenchimento de um questionário estruturado que foi enumerado para facilitar a tabulação dos dados.

Os *S. aureus* foram isolados com base no material

biológico dos vestibulos nasais, empregando-se *swab* estéril que, posteriormente, foi armazenado em tubos contendo caldo de Soja Trypticaséina (TSB) enriquecido com 6,5% de Cloreto de Sódio (NaCl). O cultivo bacteriano inicial deu-se em estufa a 37° C overnight.

Em seguida, o caldo de crescimento foi semeado na superfície de placas de Petri (90X15mm), contendo Agar Manitol Salgado (AMS), (Becton Dicksenson and Company, BD Diagnostic Systems, USA), com e sem oxacilina, em uma concentração de 4µg/ml e incubado, novamente, por 24-48 horas a 37° C. Nesta etapa de semeadura, foram utilizadas amostras controle de *S. aureus* da *American Type Culture Collection* (ATCC), sendo uma amostras sensível à oxacilina (ATCC 25923) e uma resistente (ATCC 43300).

Colônias suspeitas de pertencerem a *S. aureus* foram submetidas ao teste de Coloração de Gram⁽¹⁵⁾ e as identificadas como cocos Gram positivo agrupadas em cachos, foram transferidas para TSB adicionado 6,5% de NaCl. Após 6 horas de incubação, foi realizado o Teste de Coagulase em tubo empregando-se plasma de coelho liofilizado (Coagulo-Plasma LB, Laborclin produtos para laboratório Ltda, Pinhais Paraná, Brasil). Os *S. aureus* foi identificado após a formação de um coágulo sendo as leituras realizadas em 30 min., 4 horas e 24 horas⁽¹⁶⁾.

Após a identificação, as amostras de *S. aureus* foram submetidas ao teste para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) em meio sólido para oxacilina e vancomicina, e o Teste de Disco Difusão para os seguintes antimicrobianos: penicilina G, oxacilina, cefoxitina, eritromicina, clindamicina, trimetropina sulfametoxazol, vancomicina, telitromicina, linezolida, tetraciclina, doxiciclina, rifampicina, gentamicina, ofloxacina e teicoplanina, conforme protocolo do CLSI⁽¹²⁾.

Para o CIM, foram usadas diferentes concentrações de antimicrobianos, iniciando com 0,06 µg/ml até 256 µg/ml para a oxacilina e de 0,06 µg/ml até 16 µg/ml para a vancomicina. A amostra controle ATCC 29213 foi utilizada como controle negativo para ambos os antimicrobianos e como controle positivo para a oxacilina empregou se a ATCC 33591.

O DNA bacteriano foi extraído por intermédio da metodologia proposta por pesquisadores⁽¹⁷⁾, com algumas alterações. As amostras, após plaqueadas em Agár Miller Hinton, foram transferidas para eppendorf contendo Tris-EDTA (TE) e centrifugadas a 8000 rpm. O sobrenadante foi desprezado e o pellet suspenso em 600 µl de Cetyl Trimethylammonium Bromide (CTAB) e 40 µl de clorofórmio álcool-iso-amílico (CIA), e, em seguida, aquecidos em banho-maria à 65°C por 30 min. Posteriormente, foram acrescentados 800 µl de CIA e centrifugados a 12000 rpm por 5 min. Aproximadamente 600 µl do sobrenadante foram transferidos para um tubo eppendorf, adicionou-se igual volume de isopropanol

gelado e que foi deixado em freezer a -20°C overnight para a precipitação do DNA. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 14000 rpm a 4°C por 20 minutos, eliminando-se o sobrenadante. Ao pellet, foram adicionados 200 µl de etanol 70%, centrifugou-se a 14000 rpm e a seguir eliminou-se o sobrenadante. Após a secagem, o DNA obtido foi diluído em 200 µl de TE e armazenado em freezer a -20° C.

As amostras de *S. aureus* identificadas como resistentes à oxacilina foram avaliadas pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) para identificação do gene *MecA*, conforme a metodologia proposta por Vannuffel⁽¹⁸⁾, com algumas alterações. Para a reação com 25 µl, foram utilizados como reagentes, 12,1 µl de água Milli Q estéril, 2,5 µl de Tampão 10X, 0,4 µl de Taq polimerase 5U/L, 1,5 µl de dNTP 200 µM, 1,5 µl de Cloreto de Magnésio, 1,5 µl de cada primer à 50 pmol, e 3,0 µl de DNA. As reações foram realizadas em termociclador com a seguinte ciclagem: 95°C por 10 minutos, 30 ciclos de: 95°C por 30 segundos, 52 °C por 30 segundos., 72 °C por 1 minuto., e um ciclo final a 72 °C por 10 minutos. A cepa *S. aureus* ATCC 33591, foi empregada como controle positivo na reação de PCR. A eletroforese dos produtos amplificados foi realizada em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio, por 1h a 90 volts. A detecção de um fragmento com 154 pares de base (PB) confirmou a presença do gene *MecA*.

RESULTADOS

Dentre os 101 voluntários amostrados, verificou-se uma positividade de 90,1% (91/101) para o *S. aureus*. A idade dos indivíduos variou entre 17 e 33 anos, com 59,3% entre 17 e 20 anos.

Todas as amostras foram sensíveis à vancomicina, e o CIM variou entre 0,5µg/ml e 2µg/ml. Em relação à oxacilina, oito amostras foram resistentes e destas, sete apresentavam um CIM em relação à vancomicina de 2µg/ml. Os dados da Tabela 1 apresentam a distribuição acumulativa da CIM para oxacilina nos diferentes anos da graduação.

Com relação ao antibiograma, observou-se um aumento da resistência bacteriana com o decorrer dos anos de graduação, o que pode ser observado nos dados da Tabela 2. As amostras resistentes à oxacilina apresentaram 100% (8/8) de resistência à penicilina, ao trimetropina-sulfametoxazol e à tetraciclina, 87,5% (7/8) de resistência à eritromicina e à telitromicina, e 75% (6/8) de resistência à clindamicina e à doxiciclina.

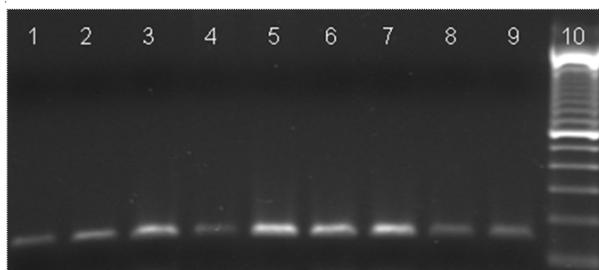
As amostras resistentes à oxacilina pelo método do CIM foram submetidas à técnica de PCR, pois todas apresentaram o gene *MecA*, conforme mostrado nos dados da Figura 1.

Tabela 1 – Distribuição acumulativa da concentração inibitória mínima para oxacilina observada entre os diferentes anos do curso de graduação em Enfermagem da Universidade Estadual de Maringá. Maringá - PR, 2008.

µg/ml	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	CIM ₅₀	CIM ₉₀	Total
1º ano	10	18	5	3	2	0	0	0	1	0	0	1	0,25	1	40
2º ano	5	15	1	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0,25	1	27
3º ano	0	11	6	2	0	1	1	0	0	3	0	0	0,50	64	24
Total	15	44	12	9	3	2	1	0	1	3	0	1	0,25	2	91

Tabela 2 – Distribuição da resistência aos antimicrobianos nos diferentes anos do curso de graduação em enfermagem da Universidade Estadual de Maringá. Maringá - PR, 2008.

Antimicrobianos	1º ano	%	2º ano	%	3º ano	%	Total	
								%
Penicilina	33/40	82,2	26/27	92,6	24/24	91,7	80/91	87,9
Oxacilina	4/40	10,0	2/27	7,4	6/24	25,0	12/91	13,2
Cefoxetina	25/40	62,2	8/27	29,6	6/24	25,0	39/91	42,9
Eritromicina	26/40	65,0	26/27	96,3	23/24	95,8	75/91	82,4
Clindamicina	15/40	37,5	21/27	77,8	19/24	79,2	55/91	60,4
Trimetropi na-sulfametoxazol	24/40	60,0	23/27	85,2	18/24	75,0	65/91	71,4
Vancomicina	-	-	-	-	-	-	-	-
Telitromicina	37/40	92,5	26/27	96,3	23/24	95,8	86/91	94,5
Linezolid	-	-	-	-	-	-	-	-
Tetraciclina	22/40	55,0	20/27	74,1	18/24	75,0	60/91	65,9
Doxiciclina	16/40	40,0	15/27	55,6	12/24	50,0	43/91	47,3
Rifampicina	17/40	42,5	13/27	48,1	11/24	45,8	41/91	45,1
Gentamicina	4/40	10,0	15/27	55,6	13/24	54,2	32/91	35,2
Ofloxacina	25/40	62,5	18/27	66,7	13/24	54,2	56/91	61,5
Teicoplanina	2/40	2,0	0	0	0	0	2/91	2,2



Canaleta 10: marcador de peso molecular 100pb DNA ladder; Canaleta 9: controle positivo; Canaletas 1,2,3,4,5,6,7e 8: *S. aureus* isolados dos estudantes de enfermagem do curso de Graduação em Enfermagem da UEM em 2008.

Figura 1 – Resultados do teste de Reação em cadeia de polimerase para determinação do gene *MecA* em amostras de *S. aureus* isolados de estudantes de graduação em enfermagem, 2008.

DISCUSSÃO

Os estudantes do curso de enfermagem apresenta um perfil característico, composto sobretudo pelo sexo feminino e por uma população jovem. Os alunos de enfermagem nas universidades públicas, entre 17 e 19 anos, representam uma clientela de 48%⁽¹⁹⁾.

O *S. aureus* está presente na pele e mucosas dos seres humanos, em especial, nas fossas nasais. Indivíduos que

albergam *S. aureus* e não apresentam sintomatologia são genericamente conhecidos como “portadores são”, e são considerados uma das principais fontes de transmissão da infecção, tanto nosocomial como comunitária^(2,6,20). Em se tratando de portador assintomático, particularmente estudante durante a prática acadêmica hospitalar, é difícil a aplicação de medidas de prevenção e controle em razão da proximidade física entre o prestador da assistência e o paciente⁽²⁾.

A prevalência de carreamento nasal de *S. aureus* entre os 101 estudantes de enfermagem, investigados neste estudo foi de 90,1% (91/101), uma prevalência alta. Indivíduos que trabalham em ambiente hospitalar possuem uma prevalência entre 30% e 70%, podendo atingir até 90%⁽⁸⁾. A utilização de TSB enriquecido com NaCl para cultivo inicial incrementa o isolamento de *S. aureus*, conforme já demonstrado em outros estudos^(4,21-23).

A distribuição da frequência de carreamento nasal de *S. aureus*, de acordo com a periodicidade do curso, mostrou que no primeiro ano 100% (40/40) eram portadores; no 2º, 84,4% (27/32) e no 3º, 82,8% (24/29). A taxa de carreamento nasal entre alunos do 1º ano do curso em relação aos demais deveria ser menor, pois, além de serem procedentes da comunidade não mantêm estágio em hospitais e unidades básicas de saúde, resultado que não se confirmou.

Entre as 91 amostras de *S. aureus* isoladas 8 (8,8%) mostraram-se resistentes à oxacilina, e a faixa de crescimento bacteriano deu-se entre 4 µg/m e 256 µg/. Este percentual é expressivo em se tratando de indivíduos assintomáticos, pois a oxacilina é um importante marcador de resistência para outros antimicrobianos, como os aminoglicosídeos, macrolídeos, cloranfenicol, tetraciclina e fluoroquinolonas⁽²⁴⁾. Taxas importantes de resistência à oxacilina entre indivíduos assintomáticos da comunidade também têm sido observadas por alguns autores^(1,25).

Todas as amostras avaliadas neste estudo foram sensíveis à vancomicina. A susceptibilidade reduzida dos *S. aureus* à vancomicina (VISA) surgiu, em 1996, no Japão e, em 2002, nos Estados Unidos da América foi identificada a primeira cepa resistente (VRSA)^(3,9). No Brasil, em 2000, foi encontrada a primeira cepa resistente à vancomicina, em um hospital de Queimados no Rio de Janeiro⁽³⁾ entretanto esta disseminação ainda não se configurou em nosso meio, sendo restrita a casos isolados.

As medidas de prevenção para aquisição de infecção por *S. aureus* incluem a descontaminação nasal. Um agente tóxico bactericida vem sendo utilizado para a

erradicação em fossas nasais, axilas, virílicas e em mão de pacientes e trabalhadores da saúde. Por meio dessa medida é possível reduzir as taxas de infecção, entre aqueles pacientes que serão submetidos a cirurgias⁽²⁶⁾.

CONCLUSÃO

A presença de *S. aureus* resistente à oxacilina em portadores são ou assintomáticos torna-se uma ameaça e uma importante fonte de micro-organismo; ao considerarmos que, esses estudantes estarão em ambiente de trabalho em pouco tempo.

O objetivo desta pesquisa foi verificar a prevalência de carriage nasal de *S. aureus* entre estudantes de enfermagem, contribuindo para a epidemiologia desse micro-organismo, e possibilitando ao profissional a oportunidade de prevenir a transmissão, e uma reflexão a respeito das técnicas de descontaminação nasal.

Os resultados demonstraram uma alta prevalência de *S. aureus* entre os estudantes e uma resistência expressiva à oxacilina. O conhecimento dos estudantes de enfermagem sobre resistência bacteriana proporciona ao paciente, ao serviço e ao profissional, informação necessária para a construção de estratégias de prevenção.

REFERÊNCIAS

1. Menegotto FR, Picoli SU. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. *Rev Bras Anal Clin*. 2007;39(2):147-50.
2. Oliveira Santos BM, Darini ALC. Colonização por *Staphylococcus aureus* em portadores são relacionados de uma creche de hospital universitário. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2002;35(2):160-72.
3. Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BL, Afonso IF, Rodrigues CR, Castro HC. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J Bras Patol Med Lab*. 2007;43(6):413-23.
4. Cardoso MP. Aquisição nasal de *Staphylococcus aureus* por recém-nascidos saudáveis [dissertação]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2007.
5. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister SK, Fosheim G, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis*. 2006;193(2):172-9.
6. Lu P, Chin LC, Peng CF, Chiang YH, Chen TP, Ma L, Siu LK. Risk factors and molecular analysis of community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *J Clin Microbiol*. 2005;43(1):132-9.
7. Prates KA. Detecção de portadores de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina em uma comunidade estudante universitária [dissertação]. Maringá: Universidade Estadual de Maringá; 2008.
8. Santos BM. Monitoramento da colonização pelo *Staphylococcus aureus* em alunos de um curso de auxiliar de enfermagem durante a formação profissional. *Rev Latinoam Enferm*. 2000;8(1):67-73.
9. Mimica MJ, Mendes CMF. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. *J Bras Patol Med Lab*. 2007;43(6):399-406.
10. Moreira M, Medeiros EAS, Pignatari ACC, Wey SB, Cardo DM. Efeito da infecção hospitalar da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. *Rev Assoc Med Bras* (1992). 1998;44(4):263-8.
11. Cui L, Iwamoto A, Lian JQ, Neoh HM, Maruyama T, Horikawa Y, Hiramatsu K. Novel mechanism of antibiotic resistance originating in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(2):428-38.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; approved standard. Document M100-S16. Wayne, PA, USA: CLSI, 2006.
13. Neves MC, Rossi Júnior OD, Alves EC, Lemos MV. Detecção de genes de resistência antimicrobiana em cromossomos e plasmídeos de *Staphylococcus aureus* SPP. *Arq Inst Biol*. 2007;74(3):207-13.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília (DF): MS/FIOCRUZ; 1996.
15. Dias Filho BP, Abreu Filho BA, Cardoso CL, Nakamura CV, Garcia LB, Guilhermetti M, Tognim MCB, et al. Manual de aulas práticas: enfermagem. Universidade Estadual de Maringá: Departamento de Análises Clínicas; 2001.
16. Konemam EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5a ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2001.
17. Doyle JJ, Doyle JL. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull*. 1987;19:11-5.

18. Vannuffel P, Gigi J, Ezzedine H, Vandercam B, Delmee M, Wauters G, Gala JL. Especific detection of methicillin-resistant *Staphylococcus* species by multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 1995;33(11):2864-7. Comment in: *J Clin Microbiol.* 1996;34(6):1599.
19. Spíndola T, Martins ER, Francisco MT. Enfermagem como opção: perfil de graduandos de duas instituições de ensino. *Rev Bras Enferm.* 2008;61(2):164-9.
20. Onanuga A, Oyi AR, Onaolapo JA. Prevalence and susceptibility pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates among healthy women in Zaria, Nigeria. *Afr J Biotechnol.* 2005;4(11):1321-4.
21. Cookson BD, Webster M, Phillips I. Control of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet.* 1987;1(8534):696.
22. Sautter RL, Brown WJ, Mattman LH. The use of a selective staphylococcal broth v direct plating for the recovery of *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1988;9(5):204-5.
23. Paiano M, Bedendo J. Resistência antimicrobiana de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de recém-nascidos saudáveis. *Rev Eletronica Enferm.* 2009;11(4).
24. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005.
25. Charlebois ED, Bangsberg DR, Moss NJ, Moore MR, Moss AR, Chambers HF, Perdreau-Remington F. Population-based community prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the urban poor of San Francisco. *Clin Infect Dis.* 2002;34(4):425-33. Comment in: *Clin Infect Dis.* 2002;35(9):1135.
26. Doebbeling BN, Breneman DL, Neu HC, Aly R, Yangco BG, Holley HP Jr, et al. Elimination of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in health care workers: analysis of six clinical trials with calcium mupirocin ointment. *Clin Infect Dis.* 1993;17(3):466-74.