

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA (FISIOPATOLOGIA E
TOXICOLOGIA)
ÁREA DE ANÁLISES CLÍNICAS

GREGORY BATISTA MELOCCO

**Dados genômicos de *Staphylococcus aureus* para vigilância, controle e
manejo da resistência aos antimicrobianos**

São Paulo
2024

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA (FISIOPATOLOGIA E
TOXICOLOGIA)
ÁREA DE ANÁLISES CLÍNICAS

GREGORY BATISTA MELOCCO

**Dados genômicos de *Staphylococcus aureus* para vigilância, controle e
manejo da resistência aos antimicrobianos**

Versão Original

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia) da Faculdade
de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Mestre em Farmácia.

Orientador: Nilton Lincopan

São Paulo
2024

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

M528d Melocco, Gregory Batista
Dados genômicos de *Staphylococcus aureus* para vigilância, controle e manejo da resistência aos antimicrobianos / Gregory Batista Melocco. - São Paulo, 2024.
83 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Lincopan, Nilton

1. *S. aureus*. 2. MRSA. 3. Resistência bacteriana. 4. Resistoma. 5. Viruloma. I. T. II. Lincopan, Nilton, orientador.

Gregory Batista Melocco

Dados genômicos de *Staphylococcus aureus* para vigilância, controle e manejo da resistência aos antimicrobianos.

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Mestre em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia).

Comissão Julgadora

Prof. Dr. Nilton Lincopan
orientador/presidente

1°. Examinador

2°. Examinador

3°. Examinador

4°. Examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Karine Sousa Dantas, minha companheira de jornada, por acreditar e insistir em todo o meu potencial, além de me fazer acreditar nas minhas competências. Muito obrigado por ter contribuído com a formação da pessoa que sou hoje.

Ao meu orientador, Nilton Lincopan, pela oportunidade e liberdade para a construção do conhecimento acadêmico.

À equipe do laboratório, que contribuíram com esse trabalho e com meu enriquecimento intelectual, me proporcionando novas perspectivas e amadurecimento profissional.

Aos professores que contribuíram enviando amostras para a realização desse trabalho ou compartilhando conhecimentos essenciais para a minha formação.

À toda a equipe da Pós-graduação, especialmente a Elaine Midori, pelas orientações e por sanar todas as minhas dúvidas.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas e ao Instituto de Ciências Biomédicas, pela infraestrutura disponibilizada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida (Processo número 130767/2021-2).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

MELOCCO, G. B. Dados genômicos de *Staphylococcus aureus* para vigilância, controle e manejo da resistência aos antimicrobianos. 2023. 85f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

A emergência e a disseminação de bactérias multirresistentes são um problema de saúde pública global, com cepas resistentes e/ou virulentas intimamente relacionadas sendo isoladas de humanos e outros animais, alimentos e ambiente. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) foi classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um patógeno de elevada prioridade. A combinação bem-sucedida de fatores de virulência (viruloma) e de genes de resistência aos antimicrobianos (resistoma) sustentam a alta prevalência e endemicidade de MRSA nas infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). Apesar disso, no Brasil poucos dados genômicos clinicamente relevantes tem sido disponibilizados. Nesse sentido, no presente estudo foi conduzida uma investigação microbiológica e genômica de MRSA isolados de amostras clínicas em diferentes cidades brasileiras. Para isso, inicialmente a espécie dos isolados foi confirmada (MALDI-TOF-MS, Bruker), e o perfil de resistência aos antibióticos (disco-difusão) e a presença do gene *mecA* (PCR) foram determinados. Preocupantemente, 87,5% (76/87) das cepas MRSA foram multirresistentes. Para investigar os mecanismos genéticos relacionados a esse fenótipo, bem como determinar as linhagens clonais desses isolados, o genoma completo de 37 isolados MRSA foi sequenciado (Illumina NextSeq). A predição do resistoma, viruloma, mobiloma e a determinação do ST (*Sequence Type*), *SCCmec* e *spa type* foram realizadas utilizando ferramentas de bioinformática. A esse respeito, destacou-se a prevalência ($n = 21$) de isolados do ST105 abrigando *SCCmec* tipo II. Adicionalmente, foram identificados isolados do ST5 (*SCCmec* II, $n = 3$; *SCCmec* IV, $n = 3$), do ST8 (*SCCmec* IV, $n = 5$; *SCCmec* II, $n = 1$); e isolados únicos do ST88 (*SCCmec* IV), ST239 (*SCCmec* III), ST5286 (*SCCmec* IVa) e ST398 (*mecA* positivo, *SCCmec* negativo). Além do gene *mecA*, foram preditos diversos genes de resistência a antibióticos não β -lactâmicos [macrolídeos e/ou lincosamidas (*ermA*, *mrsA*, *emrC*, *mphC*); aminoglicosídeos [*aph*-(3')-III, *ant*(9)-Ia]; cloranfenicol [*cat*(pC221)]; fosfomicina (*fosB*); mutações relacionadas a resistência às fluoroquinolonas [*gyrA* (S84L, E88K); *griA* (S80Y, E84F, S80F, E84K)]; genes de tolerância a biocidas [triclosan (*sh-fabI*); compostos de amônio quaternário (*qacACJ*)], ao estresse oxidativo [H_2O_2 (*perR*)], e a metais pesados [arsênio (*arsBCR*); cádmio (*cadADX*); cobre (*copZ*); mercúrio (*merABRT*)]. Todos os genomas apresentaram um amplo viruloma, com a presença de genes para a produção de enterotoxinas (cluster *egc*) em isolados de diferentes STs; e Leucocidina Panton-Valentine (*lukFS-PV*), nos isolados do ST8 e ST88. A análise filogenética baseada em Polimorfismos de Nucleotídeo Único dos Core-genes (cg-SNPs) mostrou que isolados de São Paulo, Santa Catarina e Paraná (ST5, ST105 ou ST8) estiveram filogeneticamente relacionados com genomas do Rio de Janeiro, dos Estados Unidos e América do Sul (Equador, Colômbia e Chile), agrupados em *clusters* com genomas de linhagens emergentes no Brasil (ST105-*SCCmec*II), e com linhagens virulentas de disseminação internacional (USA100, ST5-*SCCmec*II; USA300/USA300-LV, ST8-*SCCmec*IV). Os dados microbiológicos, genômicos e epidemiológicos obtidos neste trabalho foram disponibilizados na plataforma OneBR (<http://onehealthbr.com/>). Os resultados destacam o aumento da prevalência de MRSA multirresistentes do ST105 abrigando *SCCmec* tipo II, e a disseminação de linhagens multirresistentes e potencialmente virulentas, assim como a emergência da ST8 em hospitais brasileiros, reforçando a importância da vigilância genômica do MRSA no Brasil.

Palavras-chave: *S. aureus*, MRSA, resistência bacteriana, resistoma, viruloma.

ABSTRACT

MELOCCO, G. B. *Staphylococcus aureus* genomic data for surveillance, control, and management of antimicrobial resistance. 2023. 85f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

The emergence and spread of multidrug-resistant bacteria are a global public health problem, with closely related resistant and/or virulent strains being isolated from humans and other animals, food, and the environment. In this context, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been classified as a high priority pathogen by the World Health Organization (WHO). The successful combination of virulence factors (virulome) and antimicrobial resistance genes (resistome) support the high prevalence and endemicity of MRSA in healthcare-associated infections (HAIs). However, clinically relevant genomic data in Brazil is scarce. In the present study, a microbiological and genomic investigation of MRSA isolated from clinical samples from different Brazilian cities was carried out. Initially, the isolates species was confirmed (MALDI-TOF-MS, Bruker), and antibiotic resistance profile (disk-diffusion) and presence of the *mecA* gene (PCR) were determined. Worryingly, 87.5% (76/87) of MRSA isolates were multidrug-resistant. To investigate the genetic mechanisms related to this phenotype and determine the clonal lineages of these isolates, complete genome sequencing of 37 MRSA strains was performed (Illumina NextSeq). Whole-genome analysis (prediction of resistome, virulome, mobilome; determination of the ST, Sequence Type; SCC*mec* and *spa* type) were performed using bioinformatics tools. In this regard, the prevalence ($n = 21$) of ST105 isolates harboring SCC*mec* type II was highlighted. Isolates from ST5 (SCC*mec* II, $n = 3$; SCC*mec* IV, $n = 3$), ST8 (SCC*mec* IV, $n = 5$; SCC*mec* II, $n = 1$); and single isolates of ST88 (SCC*mec* IV), ST239 (SCC*mec* III), ST5286 (SCC*mec* IVa), and ST398 (*mecA* positive, SCC*mec* negative) were also identified. In addition to the *mecA* gene, several non- β -lactam antibiotics resistance genes have been predicted [macrolides and/or lincosamides (*ermA*, *mrsA*, *emrC*, *mphC*); aminoglycosides (*aph*-(3')-III, *ant*(9)-Ia); chloramphenicol (*cat*(*pC221*)); fosfomycin (*fosB*); mutations related to fluoroquinolone resistance (*gyrA* (S84L, E88K); *grrA* (S80Y, E84F, S80F, E84K)); biocide tolerance genes [triclosan (*sh-fabI*); quaternary ammonium compounds (*qacACJ*)], oxidative stress [H_2O_2 (*perR*)], and heavy metals [arsenic (*arsBCR*); cadmium (*cadADX*); copper (*copZ*); mercury (*merABRT*)]. A broad virulome was predicted in all genomes, with the presence of genes to produce enterotoxins (*egc* cluster) in isolates from different STs; and Panton-Valentine Leukocidin (*lukFS-PV*), in ST8 and ST88 isolates. Phylogenetic analysis based on Core-gene Single Nucleotide Polymorphisms (cg-SNPs) showed that isolates from São Paulo, Santa Catarina and Paraná (ST5, ST105 or ST8) were related to genomes from Rio de Janeiro, United States and South America (Ecuador, Colombia and Chile); grouped in clusters with genomes from emerging lineages in Brazil (ST105-SCC*mec*II), and with virulent lineages spread internationally (USA100, ST5-SCC*mec*II; USA300/USA300-LV, ST8-SCC*mec*IV). The microbiological, genomic, and epidemiological data obtained in this work were available on the OneBR platform (<http://onehealthbr.com/>). The results highlight the increased prevalence of multidrug-resistant MRSA from ST105 harboring SCC*mec* type II, and the dissemination of multidrug-resistant and potentially virulent strains, as well as the emergence of ST8 in Brazilian hospitals, reinforcing the importance of MRSA genomic surveillance in Brazil.

Keywords: *S. aureus*, MRSA, bacterial resistance, resistome, virulome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Transmissão de <i>S. aureus</i> entre hospedeiros. As espécies hospedeiras das quais cada complexo clonal (CC) foi isolado são mostradas como imagens ao redor do cladograma de <i>S. aureus</i> . Hospedeiros comumente observados dentro de cada CC (indicados em preto e colocados no anel central) foram caracterizados por serem mais de 45% de todos os isolados dentro do CC; hospedeiros adicionais foram incluídos com base na literatura confirmando a evidência de um <i>switch host</i> . Os hospedeiros nos quais há menos do que 45% de todos os isolados nas amostras dentro do CC são indicados em cinza e colocados no anel externo (MATUSZEWSKA et al., 2020).	16
Figura 2 - Representação esquemática da excisão e integração de SCCmec em <i>S. aureus</i> (UEHARA et al., 2022).	18
Figura 3 - Comparação dos cassetes cromossômicos estafilocócicos de resistência à meticilina típicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina adquirido em no hospital (HA-MRSA) e na comunidade (CA-MRSA). A) SCCmecII: o transposon Tn554 codifica a resistência aos antibióticos macrolídeos-lincosamida-estreptogramina B e à espectinomicina; pUB110 é um plasmídeo integrado que abriga um gene de resistência à tobramicina. B) SCCmecIV: o gene <i>mecR1</i> (R1) é truncado. A, <i>mecA</i> ; I, <i>mecI</i> ; IS431, sequência de inserção 431 (CHAMBERS et al., 2009).	21
Figura 4 - Visão geral da diversidade de clones de MRSA mostrando a prevalência de cepas regionais, resumida a partir de estudos selecionados realizados na África, Ásia, Austrália, Europa, Oriente Médio, América do Norte e América do Sul. Como a prevalência pode variar com a região e o ambiente, a prevalência apresentada nos estudos selecionados pode não refletir a prevalência em toda a região (Adaptado de Turner et al., 2019). ...	26
Figura 5 - <i>Heatmap</i> mostrando o perfil de resistência aos antibióticos, avaliado por disco-difusão, e a presença do gene <i>mecA</i> , determinado por PCR, de isolados clínicos MRSA. AZI, azitromicina; BPR, ceftobiprole; CFO, cefoxitina; CLI, clindamicina; CIP, ciprofloxacina; CLO, cloranfenicol; CPN, ceftarolina; LVX, levofloxacina; PEN, penicilina; SUT, sulfametoxazol-trimetoprima. AT, aspirado traqueal; E, escarro; FO, fragmento ósseo; L, líquido; O, ocular; OR, orofarínge; P, pele; PC, ponta de catéter; S, Sangue; ST, secreção traqueal; TD, tecido desvitalizado; U, urina.	35
Figura 6 - Gráfico mostrando a proporção de genótipos (ST-SCCmec) dos isolados de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina sequenciados	37
Figura 7 - <i>Heatmap</i> mostrando o resistoma de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina considerando a região geográfica, ano e fonte de isolamento com relação às sequências tipos (ST), SCCmec e <i>spa type</i>	39
Figura 8 - <i>Heatmap</i> mostrando a presença de plasmídeos e bacteriófagos no genoma de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina com relação a região geográfica, ano e fonte de isolamento com relação às sequências tipos (ST), SCCmec e <i>spa type</i>	41
Figura 9 - <i>Heatmap</i> mostrando o viruloma de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina considerando a região geográfica, ano e fonte de isolamento com relação às sequências tipos (ST), SCCmec e <i>spa type</i>	42
Figura 10 - Filogenia de 34 isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina das regiões Sul e Sudeste do Brasil e 387 genomas de <i>S. aureus</i> da América Latina e Estado Unidos (ARIAS et al., 2018; VIANA et al., 2021; SULLIVAN et al., 2019), pertencentes às sequências tipo ST5, ST105 e ST8. A árvore filogenética foi construída baseada em polimorfismos de nucleotídeos únicos dos core genes (cgSNP) e visualizada utilizando o iTol v6. As sequências tipos (ST) e o SCCmec <i>type</i> de cada isolado são indicados pelos anéis externos.	44
Figura 11 - Resistoma e viruloma comparativos de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina das regiões Sul e Sudeste do Brasil, pertencentes a sequência tipo ST8, e genomas intimamente relacionados em destaque na Figura 10.	46
Figura 12 - Resistoma e viruloma comparativos de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina das regiões Sul e Sudeste do Brasil, pertencentes a sequência tipo ST5, e genomas intimamente relacionados em destaque na Figura 10.	47
Figura 13 - Resistoma e viruloma comparativo de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina das regiões Sul e Sudeste do Brasil, pertencentes a sequência tipo ST105 e genomas intimamente relacionados em destaque na Figura 10.	48
Figura 14- A) Recorte da página inicial da plataforma OneBR (http://onehealthbr.com/), com destaque para o banco de dados SaBr. B) Recorte da visualização do banco de dados SaBr (http://onehealthbr.com/bacteria/SaBr).	49
Figura 15 – Exemplo de ficha disponibilizada download para cada isolado no banco de dados SaBr (http://onehealthbr.com/bacteria/SaBr) na plataforma OneBR (http://onehealthbr.com/)	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Iniciadores (primers) desenhados neste estudo para amplificação do gene <i>mecA</i> de <i>S. aureus</i>	30
Tabela 2 - Condições de PCR para detecção do gene <i>mecA</i> de <i>S. aureus</i>	31
Tabela 3 - Quantidade (<i>n</i>) e porcentagem (%) de isolados de MRSA com relação a resistência a diferentes classes de antibióticos	36

LISTA DE ABREVIATURAS

ACME	<i>Arginine catabolic mobile element</i> (elemento móvel catabólico de arginina)
AZI	Azitromicina
ATCC	<i>American Type Cultures Collection</i>
BEC	<i>Brazilian endemic clone</i> (clone endêmico brasileiro)
BPR	Ceftobiprole
CA-MRSA	<i>Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i> resistente à meticilina adquirido na comunidade)
CC	<i>Clonal complex</i> (complexo clonal)
CFO	Cefoxitina
CIP	Ciprofloxacina
CLI	Clindamicina
CLO	Cloranfenicol
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CPN	Ceftarolina
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa e Enterobacter spp.</i>
GEN	Gentamicina
HA-MRSA	<i>Hospital-acquired methicillin-resistant S. aureus</i> (<i>S. aureus</i> resistente à meticilina adquirido no hospital)
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
ISS	Sequências de sítios de integração
LA-MRSA	<i>Livestock-associated methicillin-resistant S. aureus</i> (<i>S. aureus</i> resistente à meticilina associado ao gado)
LVX	Levofloxacina
MDR	<i>Multidrug-resistant</i> (Multirresistente)
MGE	<i>Mobile genetic elements</i> (Elementos genéticos móveis)
MH	Mueller-Hinton
MLST	<i>Multilocus Sequence Type</i>
MRSA	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i> resistente à meticilina)
MSSA	<i>Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i> sensível à meticilina)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PVL	<i>Panton-Valentine leukocidin</i> (Leucocidina Panton-Valentine)
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Reação em cadeia da polimerase)
SapI	Ilhas de patogenicidade de <i>S. aureus</i>
SCC	Cassetes cromossômicos estafilocócicos
SUT	Sulfametoxazol-trimetoprim
ST	<i>Sequence type</i> (Sequência tipo)
Tn	Transposon
VRSA	<i>Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i> resistente à vancomicina)
VISA	<i>Staphylococcus aureus with intermediate resistance to vancomycin</i> (<i>S. aureus</i> com resistência intermediária à vancomicina)

LISTA DE SÍMBOLOS

β – Beta

$^{\circ}\text{C}$ – Graus Celsius

M – Molar

mg – Miligrama

ml – Mililitro

mM – Milimolar

pb – Pares de bases

μg – Micrograma

% – Porcentagem

SUMÁRIO

SUMÁRIO	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA)	15
2.2. Elementos genéticos móveis, determinantes de resistência e determinantes de virulência em <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina	16
2.2.1. Resistência aos antibióticos β-lactâmicos	17
2.2.2. Determinantes de resistência aos antibióticos não β-lactâmicos e outros antimicrobianos	18
2.2.4. Elementos genéticos móveis (MGEs) e a transferência de genes de resistência em MRSA	20
2.2.3. Fatores de virulência em <i>Staphylococcus aureus</i>	22
2.3. Epidemiologia de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina	23
2.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina relacionados à assistência à saúde (HA-MRSA) ou adquiridos na comunidade (CA-MRSA)	23
2.3.2. Dinâmica da distribuição e prevalência de linhagens de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina	25
3. OBJETIVOS	28
3.1. Objetivos gerais	28
3.1. Objetivos específicos	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1. Delineamento do estudo	29
4.2. Identificação, armazenamento e sensibilidade aos antimicrobianos de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina	29
4.3. Triagem para presença do gene <i>mecA</i> por amplificação por PCR em isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina	30
4.4. Sequenciamento do genoma completo de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina	31
4.5. Análises de bioinformática dos genomas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina	32
4.6. Análise filogenômica dos isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina pertencentes às sequências tipo ST5, ST105 e ST8	32
4.7. Plataforma OneBR e banco de dados SaBr	33
5. RESULTADOS	34
5.1. Perfil de resistência aos antibióticos e triagem para a presença do gene <i>mecA</i> em isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina	34
5.2. Análise do genoma dos isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina	36
5.2.1. Genótipos dos isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina	36
5.2.2. Análise do resistoma e mobiloma de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina	37
5.2.3. Análise do viruloma de isolados clínicos de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina	40
5.3. Análise filogenômica dos isolados <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina pertencentes ao ST5, ST105 e ST8	43
6. DISCUSSÃO	51
7. CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
APÊNDICES	79