

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Microbiologia

Elias Junior Mota de Oliveira

**PAPEL DAS ROS PROVENIENTES DE NADPH OXIDASE NA VIRULÊNCIA DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN VITRO E EM MODELO DE INFECÇÃO
CUTÂNEA.**

Belo Horizonte

2024

Elias Junior Mota de Oliveira

**PAPEL DAS ROS PROVENIENTES DE NADPH OXIDASE NA VIRULÊNCIA DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN VITRO E EM MODELO DE INFECÇÃO
CUTÂNEA.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Microbiologia da universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Daniele da Glória de Souza.

Co-orientadoras: Dra. Raquel Duque do Nascimento Arifa, Dra. Daiane Boff.

Belo Horizonte

2024

043

Oliveira, Elias Junior Mota de.

Papel das ROS provenientes de NADPH oxidase na virulência de *Staphylococcus aureus* in vitro e em modelo de infecção cutânea [manuscrito] / Elias Junior Mota de Oliveira. – 2024.

92 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Daniele da Glória de Souza. Co-orientadoras: Dra. Raquel Duque do Nascimento Arifa, Dra. Daiane Boff.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Espécies Reativas de Oxigênio. 3. *Staphylococcus aureus*. 4. Fatores de Virulência. I. Souza, Daniele da Glória de. II. Arifa, Raquel Duque do Nascimento. III. Boff, Daiane. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS
GERAIS INSTITUTO DE CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MICROBIOLOGIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE **ELIAS JUNIOR MOTA DE OLIVEIRA**

Nº REGISTRO: 2022660123

Às 09:00 horas do dia **24 de junho de 2024**, reuniu-se, presencialmente no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, a Comissão Examinadora composta pelos Drs. Flávio Almeida Amaral (Departamento de Bioquímica e Imunologia/ICB/UFMG), Profa. Dra. Vanessa Pinho da Silva (Departamento de Morfologia/ICB/UFMG), Profa. Dra. Daniele da Glória de Souza (Orientadora), a Dra. Raquel Duque do Nascimento Arifa (Coorientadora) e a Dra. Daiane Boff (Coorientadora), para julgar o trabalho final "**Papel das ROS provenientes de NADPH oxidase na virulência de *Staphylococcus aureus in vitro* e em modelo de infecção cutânea.**", do aluno **Elias Junior Mota de Oliveira**, requisito final para a obtenção do Grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA**. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, a Profa. Dra. Daniele da Glória de Souza - Orientadora, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao candidato, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento e expedição de resultado final. O candidato foi considerado **APROVADO**. O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pela Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. O candidato tem 60 (sessenta) dias, a partir desta data, para entregar a versão final da dissertação ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia da UFMG e requerer seu diploma.

Belo Horizonte, 24 de junho de 2024

Membros da banca:

Prof. Dr. Flávio Almeida Amaral Profa. Dra. Vanessa Pinho da Silva

De acordo:

Profa. Dra. Daniele da Glória de Souza

(Orientadora)

Dra. Raquel Duque do Nascimento Arifa

(Coorientadora)

Dra. Daiane Boff

(Coorientadora)

Prof. Dr. Daniel de Assis Santos

(Coordenador do Programa de Pós-graduação
em Microbiologia)



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Duque do Nascimento Arifa, Usuário Externo**, em 24/06/2024, às 12:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Pinho da Silva, Professora do Magistério Superior**, em 24/06/2024, às 13:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel de Assis Santos, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 24/06/2024, às 13:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daiane Boff, Usuária Externa**, em 24/06/2024, às 14:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flavio Almeida Amaral, Professor do Magistério Superior**, em 25/06/2024, às 11:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniele da Gloria de Souza, Professora do Magistério Superior**, em 09/07/2024, às 16:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3300869** e o código CRC **41AAC32A**.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar expressando minha profunda gratidão à minha família pelo apoio incondicional. Agradeço especialmente à minha esposa Sabrina e ao meu filho Heitor, assim como aos meus pais, Elias e Aparecida, e aos meus irmãos, Richard e Karitha. Obrigado por serem os elos de Deus em minha vida. Mãe, seu suporte nos momentos mais desafiadores foi fundamental.

Sou grato à professora Daniele da Glória por sua orientação, apoio e pela ideia inicial deste projeto. A excelência e dedicação com que realiza seu trabalho destacam-se como um diferencial. Também estendo minha gratidão a Raquel Arifa, por seu suporte e dedicação. Mais do que uma orientadora, você se mostrou uma verdadeira amiga durante nosso tempo no laboratório. Agradeço também à Daiane Boff, cujo suporte, orientação e dedicação foram essenciais para o sucesso de nosso trabalho, e cujo conhecimento distintivo foi decisivo. E ao Celso, pelo suporte e pelo conhecimento compartilhado durante o desenvolvimento do projeto.

Aos colegas do LIMHO, especialmente a Rafael, Anna, Giuliana, Camila, Thales, Maria Eduarda e Carlos, agradeço pelo suporte contínuo. Um agradecimento especial à querida Frank, pelo apoio técnico e pelas ótimas conversas; sua energia positiva realmente é contagiante. Aos professores Caio e Milla, agradeço pelos valiosos conselhos científicos durante nossas reuniões. Ao grupo IMUNOFAR, pela colaboração, e a Ilma e Rose, pelo apoio técnico.

“A fé é dar o primeiro passo mesmo quando você não vê toda a escada.”

(Martin Luther King Jr., 1963)

RESUMO

A pele é o maior órgão do corpo humano, a primeira linha de defesa contra patógenos e ainda funciona como uma barreira físico-química. Apesar de a pele funcionar como uma barreira protetora contra agentes externos, alguns microrganismos, especialmente bactérias, conseguem romper essa barreira e causar doenças. Esse conjunto de doenças é conhecido como infecções de pele e tecidos moles (SSTIs) e são recorrentemente encontradas em ambientes ambulatoriais e hospitalares. A incidência de SSTIs tem aumentado nas últimas duas décadas e há várias condições patológicas que potencializam essas infecções, como ocorre no diabetes *mellitus*. O *S. aureus* é considerado um dos principais causadores de SSTIs. Por possuir uma extensa gama de fatores de virulência como proteases, lipases, DNase, toxinas, superantígenos, *S. aureus* consegue se adaptar a diversas situações frente ao sistema imune e muitas vezes persistem como infecção crônica. Um mecanismo muito importante para o sistema imunológico é a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), no entanto o *S. aureus* possui a habilidade de sobreviver mesmo em ambientes ricos em ROS, como por exemplo em feridas de pacientes diabéticos e obesos. Baseando-se nesse contexto, o objetivo do trabalho é avaliar o efeito de espécies reativas de oxigênio (ROS) na virulência de *S. aureus* em modelos de infecção tanto *in vivo* como *in vitro*. Nossos dados demonstraram que a expressão de alfa-toxina é influenciada pelo ambiente rico em ROS do fagossomo. Além disso, macrófagos provenientes de animais deficientes para Gp91phox apresentam maior clearance de bactérias em comparação com animais WT. Nossos dados *in vivo* mostram que a prevenção da produção de ROS por apocinina ou em animais deficientes para Gp91phox tem como consequência redução das feridas e maior depuração de *S. aureus*. Além disso, o tratamento com apocinina antecipou o processo de cicatrização da ferida. Concluindo, nossos dados mostram que ROS provenientes de NOX exercem papel essencial no aumento da virulência de *S. aureus*.

Palavras-chave: microbiologia; espécies reativas de oxigênio; *Staphylococcus aureus*; fatores de virulência.

ABSTRACT

The skin is the largest organ in the human body and is the first line of defense against pathogens, functioning as a physical-chemical barrier. Although the skin acts as a protective barrier against external agents, some microorganisms, especially bacteria, can breach this barrier and cause diseases. This collection of diseases is known as skin and soft tissue infections (SSTIs) and is commonly encountered in both outpatient and hospital settings. The incidence of SSTIs has increased over the last two decades, and there are several pathological conditions that predispose individuals to these infections, such as diabetes mellitus. *S. aureus* is considered one of the primary causes of SSTIs due to its extensive range of virulence factors, including proteases, lipases, DNase, toxins, and superantigens. *S. aureus* can adapt to various situations in the presence of the immune system and often persists as a chronic infection. Reactive oxygen species (ROS) production is a crucial mechanism of the immune system. However, *S. aureus* has the ability to survive even in environments rich in ROS, such as wounds in diabetic and obese patients. In light of this, the objective of this study was to evaluate the effect of ROS on the virulence of *S. aureus* in infection models both in vivo and in vitro. Our results demonstrate that alpha-toxin expression is influenced by the ROS-rich environment within the phagosome. Furthermore, macrophages from animals deficient in Gp91phox showed higher bacterial killing compared to wild-type animals. Additionally, our in vivo data indicate that inhibiting ROS production using apocynin or in Gp91phox-deficient mice leads to reduced wounds and increased clearance of *S. aureus*. Moreover, treatment with apocynin accelerated the wound healing process. In conclusion, our data suggest that ROS from NOX play an essential role in inducing *S. aureus* virulence.

Keywords: microbiology; reactive oxygen species; *Staphylococcus aureus*; virulence factors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura da pele	17
Figura 2 -	Estrutura das camadas da pele e infecções de pele e tecidos moles causadas por <i>S. aureus</i>	20
Figura 3 -	<i>Staphylococcus aureus</i> sob microscopia ótica	22
Figura 4 -	Fatores de patogenicidade produzidos por <i>S. aureus</i>	23
Figura 5 -	Papel da α toxina na infecção por <i>S. aureus</i>	24
Figura 6 -	Iniciação da resposta inflamatória cutânea por IL-1 α	25
Figura 7 -	Processos de produção de IL-1 β facilitados pelo inflamassoma durante infecções dérmicas causadas por <i>Staphylococcus aureus</i> são essenciais para a resposta imune inicial	26
Figura 8 -	A resposta imune cutânea mediada por IL-17 contra <i>S. aureus</i>	27
Figura 9 -	Desenho experimental para a indução de infecção cutânea em camundongos C57BL/6, seguida do tratamento com apocinina	35
Figura 10 -	Progressão da úlcera cutânea e variação de peso corporal em camundongos C57BL/6 infectados subcutaneamente com <i>S. aureus</i>	43
Figura 11 -	Imagens histológicas de tecidos cutâneos corados com HE e gráfico de escore histopatológico	44
Figura 12 -	Avaliação da Recuperação Bacteriana e Infiltração de neutrófilos nas feridas de Camundongos C57BL/6 Infectados com <i>S. aureus</i>	45
Figura 13 -	Avaliação da área da ferida e recuperação bacteriana em modelos de infecção cutânea	47
Figura 14 -	Avaliação da área da ferida e recuperação bacteriana em modelos de infecção cutânea	47

Figura 15 - Análise Comparativa da Estrutura Cutânea e Resposta Inflamatória em Camundongos C57BL/6: Impacto da Apocinina na Infecção por <i>S. aureus</i>	48
Figura 16 - Análise da eficiência de fagocitose e eliminação bacteriana por macrófagos GP91phox ^{-/-} e selvagens (WT)	51
Figura 17 - Comparação da expressão de alfa-toxina em <i>Staphylococcus aureus</i> incubados em diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, <i>Staphylococcus aureus</i> fagocitados e não-Fagocitados por macrófagos derivados de medula óssea (BMDMs)	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGR	<i>Accessory Gene Regulator</i>
AGRA	<i>Accessory Gene Regulator A</i>
AGRB	<i>Accessory Gene Regulator B</i>
AGRC	<i>Accessory Gene Regulator C</i>
AGRD	<i>Accessory Gene Regulator D</i>
AIP	<i>Autoinducing Peptides</i>
ALFA- α	<i>Alpha-Toxin</i>
AP1	<i>Activator Protein 1</i>
BETA- β	<i>Beta-Toxin</i>
BCR	<i>B-Cell Receptor</i>
BMDM	<i>Bone Marrow-Derived Macrophages</i>
CREB	<i>Camp Response Element Binding Protein</i>
CCL20	<i>CCL20 C-C Motif Chemokine Ligand 20</i>
CCL27	<i>CCL27 C-C Motif Chemokine Ligand 27</i>
CD36	<i>Cluster of Differentiation 36</i>
CXCL1	<i>C-X-C Motif Chemokine 1</i>
CXCL2	<i>C-X-C Motif Chemokine 2</i>
CXCL8	<i>C-X-C Motif Chemokine 8</i>
CXCL9	<i>C-X-C Motif Chemokine 9</i>

CXCL10	<i>C-X-C Motif Chemokine 10</i>
CXCL11	<i>C-X-C Motif Chemokine 11</i>
DELTA- δ	<i>Delta-Toxina</i>
ETA	<i>Toxina Esfoliativa A</i>
ETB	<i>Toxina Esfoliativa B</i>
ETD	<i>Toxina Esfoliativa C</i>
GAMA- γ	<i>Gama-Toxina</i>
HLA	<i>Alfa-Hemolysin</i>
IGF-1	<i>Insulin-Like Growth Factor 1</i>
IL-1a	<i>Interleukin 1 alpha</i>
IL-1b	<i>Interleukin 1 beta</i>
IL-17A	<i>Interleukin 17 A</i>
IL-17F	<i>Interleukin 17 F</i>
IL-22	<i>Interleukin 22</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
MGRA	<i>Multiple Gene Regulator A</i>
NADPH	<i>Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato</i>
NET	<i>Neutrophil Extracellular Traps</i>
NF-KB	<i>Factor Nuclear Kappa B</i>
NOD1	<i>Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Containing Protein 1</i>
NOD2	<i>Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Containing Protein 2</i>
NOX	<i>NADPH Oxidase</i>
PRRs	<i>Pattern Recognition Receptors</i>
PVL	<i>Panton Valentine Leucocidine</i>
P2	<i>Promotor 1</i>

P3	<i>Promotor 2</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SAERS	<i>Staphylococcus Aureus Exoprotein Expression RS</i>
SARA	<i>Staphylococcal Accessory Regulator A</i>
SARR	<i>Staphylococcal Accessory Regulator R</i>
SART	<i>Staphylococcal Accessory Regulator T</i>
SCPA	<i>Staphylococcal Cysteine Proteinase A</i>
SPA	<i>Staphylococcal Protein a</i>
SPLA	<i>Serine Protease-Like A</i>
SRRAB	<i>Staphylococcal Respiratory Response AB</i>
SSTI	<i>Skin and Soft Tissue Infections</i>
TCR	<i>T-Cell Receptor</i>
TLR1	<i>Toll-Like Receptor 1</i>
TLR2	<i>Toll-Like Receptor 2</i>
TLR6	<i>Toll-Like Receptor 6</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TSST-1	<i>Toxic Shock Syndrome Toxin-1</i>
T $\gamma\delta$	<i>Células T Gama-Delta</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 A pele e o sistema imune	17
1.2 Microbiota cutânea	19
1.3 Infecções de pele e tecidos moles	20
1.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
1.4.1 Fatores de virulência em <i>S. aureus</i>	22
1.5 A interação entre <i>S. aureus</i> e o hospedeiro	25
1.5.1 Imunidade inata nas infecções cutâneas por <i>S. aureus</i>	25
1.5.2 Papel de ROS na infecção por <i>S. aureus</i>	29
3 OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
4 METODOLOGIA.....	33
4.1 Comitê de ética	33
4.2 Animais	33
4.3 Bactérias	33
4.4 Padronização de modelo de infecção cutânea por <i>S. Aureus in vivo</i>	34
4.5 Infecção cutânea em camundongos C57BL/6 <i>GP91^{PHOX-/-}</i> ou WT tratados com apocinina	34
4.6 Recuperação de bactérias	35
4.7 Quantificação da atividade de mieloperoxidase (MPO)	35
4.9 Modelo experimental <i>in vitro</i>	37
4.9.1 Extração e cultura de macrófagos derivados da medula óssea (BMDMs)	37
4.9.2 Ensaio de fagocitose	38
4.9.3 Ensaio de <i>Killing</i>	38
4.10 Avaliação da expressão de alfa-toxina em <i>S. Aureus</i> recuperados de macrófagos	38
4.11 Extração de RNA	39
4.12 Análise da expressão das toxinas em <i>S. Aureus</i>	40
4.13 Análises estatísticas	40

5 RESULTADOS	42
5.1 A infecção por <i>S. Aureus</i> induz lesão cutânea em camundongos C57BL/6.....	42
5.2 A lesão cutânea induzida por <i>S. Aureus</i> levou a uma proliferação bacteriana e influxo de neutrófilos na área lesionada	44
5.3 Ausência de ROS está associada ao menor tamanho de ferida e menor recuperação bacteriana induzida pela infecção por <i>S. Aureus</i>	46
5.4 Animais tratados com apocinina exibem menor influxo de neutrófilos e resolução mais rápida da ferida comparado a animais tratados com veículo após infecção com <i>S. Aureus</i>	48
5.5 Espécies reativas de oxigênio provenientes de NADPH oxidase aumentam a virulência da <i>S. Aureus</i> e contribuem para uma infecção mais grave e maior lesão tecidual	50
5 DISCUSSÃO	53
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 A pele e o sistema imune

A pele é considerada o maior órgão do organismo e possui várias funções, como regular a perda de água e proteínas para o meio externo, a temperatura, além de exercer papel essencial na proteção contra microrganismo patogênicos e outros

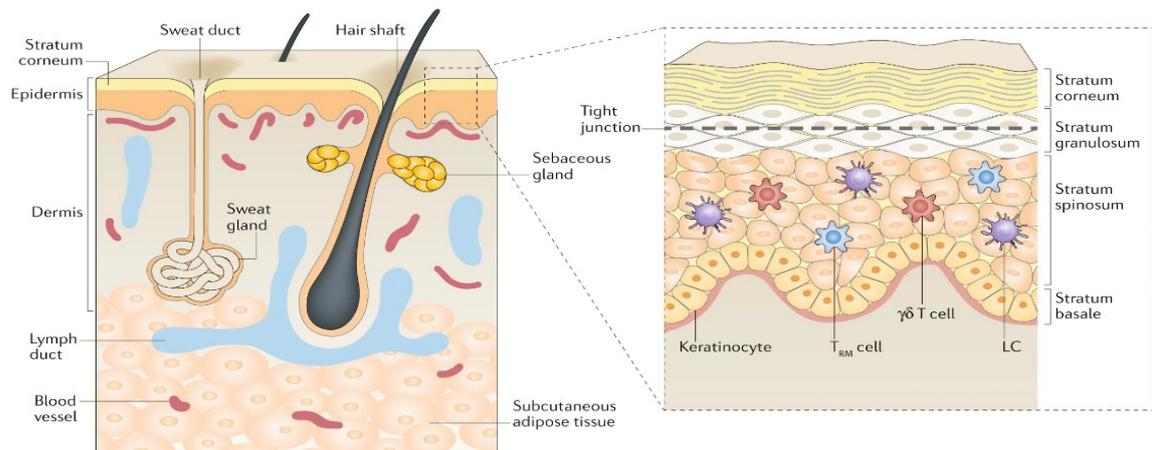


Figura 1 - Estruturas da pele: A ilustração apresenta as camadas da epiderme e da derme, destacando estruturas como folículos capilares, glândulas sudoríparas e sebáceas. Mostra-se também capilares, ductos linfáticos, e, subjacente à derme, tecido adiposo perfundido por capilares. Na epiderme, destaca-se a formação de junções estreitas abaixo do estrato córneo, no estrato granuloso, e a residência de três tipos de células imunes – células de Langerhans, células T $\gamma\delta$, e células T de memória residente – entre os queratinócitos. Fonte: Kabashima *et al.* (2019).

agentes externos (Mistry, 2013). A pele da maioria dos mamíferos (incluindo de seres humanos) possui três camadas, a epiderme (tecido epitelial) é o tecido mais externo, logo abaixo se encontra a derme (tecido conjuntivo) e a hipoderme (também chamado de tecido subcutâneo). A epiderme possui estratificações (Fig.1) e é subdividida em camadas basal, espinhosa, granulosa e córnea (Matsui; Amagai, 2015). Na camada basal são produzidos os queratinócitos que migram de forma progressiva para as camadas sobrejacentes. Na camada espinhosa, localizada acima da camada basal, ocorre o fortalecimento da epiderme através da formação de ligações desmossômicas entre os queratinócitos. Sobrejacente a camada espinhosa, na camada granulosa, os queratinócitos começam a acumular queratina em seu interior o que leva a morte dessas células. Isso resulta no preenchimento do interior dessas células com queratina formando assim a camada córnea, a mais externa da epiderme (Kabashima *et al.*, 2019; Nguyen; Soulika, 2019).

A derme é caracterizada pela presença de uma rica matriz extracelular (MEC), que é secretada por fibroblastos, as células mais abundantes desse tecido. Essa matriz é permeada por um retículo de vasos sanguíneos, linfáticos e terminações nervosas (Shirshin *et al.*, 2017). Já a hipoderme, tecido subcutâneo, é predominantemente formada por adipócitos e atua como reservatório energético, produção hormonal e de citocinas, como TNF, IL-6, estrogênio, resistina, leptina e adiponectina, além de ter um papel essencial na regulação térmica (Woodley, 2016; Wong *et al.*, 2016).

Vários tipos celulares são importantes na resposta do organismo a estímulos externos, como queratinócitos, células de Langherans e macrófagos. Os queratinócitos da camada granulosa desempenham um papel fundamental nas respostas imunológicas no tecido cutâneo (Coates *et al.*, 2018; Wong *et al.*, 2016), pois quando essas células são rompidas por algum estímulo lesivo elas liberam seu estoque de IL-1 α que funciona ativando e amplificando a resposta inflamatória (Jiang *et al.*, 2020; Miller, 2008; Kupper *et al.*, 2004). Além disso, os queratinócitos expressam receptores de reconhecimento de padrões moleculares (PRRs), tais como os receptores do tipo TOLL (TLRs), receptores do tipo NOD (NLRs), receptores do tipo RIG-I (RLRs) e receptores de lectinas do tipo C (CRLs) (Jiang *et al.*, 2020). Esses receptores são responsáveis por reconhecerem padrões associados a microrganismos (MAMPs) e padrões associados a dano (DAMPs) (Nguyen; Soulika, 2019). A ligação de MAMPs e DAMPs a esses receptores no queratinócitos induzem a produção e secreção de uma variedade de citocinas e quimiocinas, incluindo IL-1 β , IL-18, TNF, IL-6, IL-8, CXCL1 e CCL20. Essas citocinas e quimiocinas medeiam a resposta inflamatória através da ativação e indução da migração de células do sistema imune (Jiang *et al.*, 2020). Em adição, a ligação desses padrões moleculares em seus receptores presentes nos queratinócitos induzem a produção de peptídeos antimicrobianos (Clausen; Agner, 2016).

As células de Langherans, localizadas na epiderme, também estão envolvidas nas respostas primárias a estímulos nocivos externos. Essas células estendem seus dendritos entre os queratinócitos para captarem antígenos na superfície da epiderme (Kabashima *et al.*, 2019). Destacam-se também, na epiderme, a presença das células T de memória residentes (T_{RM}), que se localizam principalmente em torno dos folículos

capilares, onde elas possuem um papel essencial no contexto de reinfecção (Nguyen; Soulika, 2019; Kabashima *et al.*, 2019).

A derme possui uma comunidade diversa de células imunes, incluindo células dendríticas, macrófagos, mastócitos, células T $\gamma\delta$ e células linfoides inatas (ILCs). Além disso, essa camada é envolvida por uma complexa rede de vasos sanguíneos e linfáticos, que facilita o recrutamento de leucócitos para o tecido cutâneo (Nguyen; Soulika, 2019). Ademais, no tecido adiposo subcutâneo, abaixo da derme, há a presença de vários leucócitos, incluindo células T, células B e macrófagos (Richmond; Harris, 2014).

1.2 Microbiota cutânea

A microbiota cutânea constitui uma rede de interações complexas com o hospedeiro e é essencial para as funções imunológicas da pele (Gimblet, 2017), além de ser crucial para manutenção da homeostase no hospedeiro tanto local, no tecido cutâneo, quanto sistêmica (Labens *et al.*, 2023; Lin *et al.*, 2022; El-sayed *et al.*, 2021). Essa microbiota é essencial para a proteção do organismo contra infecções provocadas por microrganismos patogênicos e para uma modulação adequada da imunidade (Byrd *et al.*, 2018).

A microbiota cutânea é constituída por microrganismos diversos como bactérias, vírus e eucariontes. Dentre as bactérias que colonizam a pele, destacam-se os gêneros *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter* e *Moraxella* (Byrd *et al.*, 2018). A distribuição desses gêneros é heterogênea pelo tecido cutâneo. Nos locais sebáceos predominam *Propionibacterium* e áreas úmidas são colonizadas principalmente pelos gêneros *Corynebacterium* e *Staphylococcus* (Lee; Kim, 2022; Grice *et al.*, 2009). Dentro desse contexto, algumas espécies merecem destaque por exercerem papéis chaves, como *Staphylococcus epidermidis* que é essencial na indução da expressão de interleucina-1 α (IL-1 α) e na promoção de mediadores imunológicos como o interferon-gama (IFN γ) e o *Cutibacterium acnes* que metaboliza lipídios sebáceos levando à produção de ácidos graxos que inibem o crescimento de patógenos (Chen *et al.* 2018; Yamazaki *et al.*, 2017). Além disso, é importante destacar que esse ecossistema microbiano pode ser moldado por inúmeros fatores, e varia de indivíduo para indivíduo. Dentre os

fatores que podem interferir na composição da microbiota estão hábitos de higiene pessoal, condições ambientais, estado emocional, padrões de sono e interações sociais (Sinha *et al.*, 2021).

1.3 Infecções de pele e tecidos moles

Representando os tipos de infecções mais frequentes em ambientes hospitalares e clínicos, as infecções de pele e tecidos moles (SSTIs) variam quanto a sua gravidade. Elas podem abranger um espectro que se inicia em infecções leves de caráter superficial até infecções profundas que demandam hospitalização ou intervenção cirúrgica e que podem evoluir para uma possível bacteremia (Singh *et al.*, 2016; Suaya *et al.* 2013). Além disso, é importante destacar que doenças de base, tais como diabetes e obesidade levam a maior gravidade em SSTIs (Polk *et al.*, 2020).

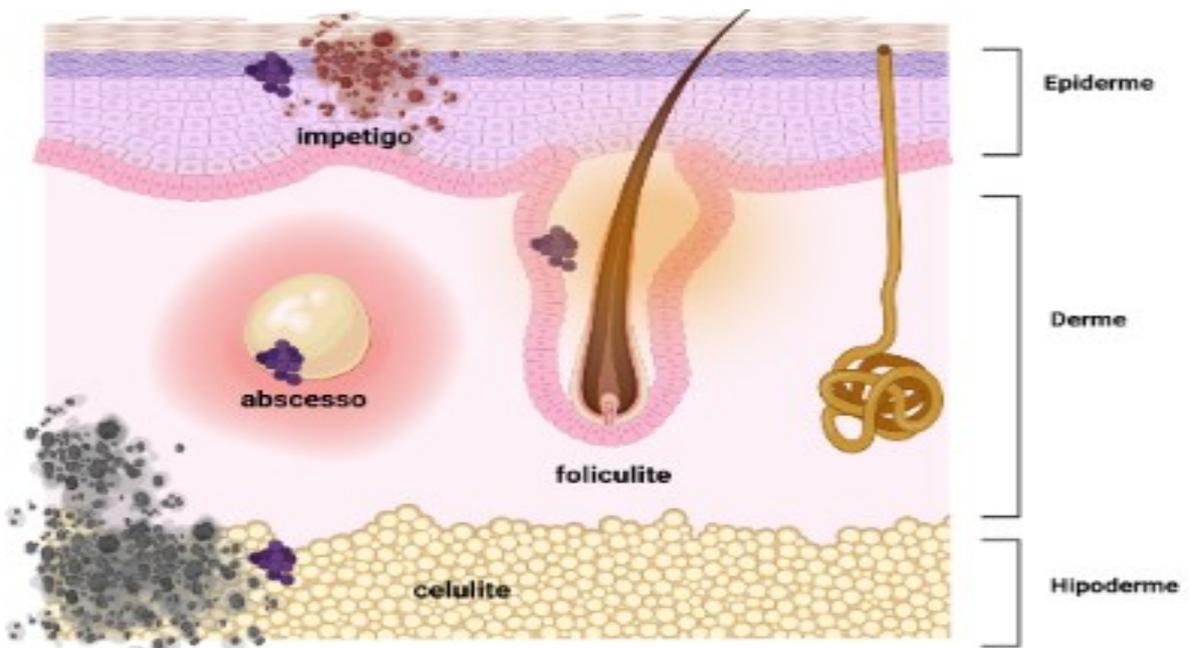


Figura 2 - Estrutura das camadas da pele e infecções de pele e tecidos moles causadas por *S. aureus*: A pele é composta por três camadas: epiderme, derme e hipoderme. O *S. aureus* pode infectar todas as camadas e causar diferentes doenças, como por exemplo, impetigo, abscessos e foliculites. Modificado de OLANIYI *et al.*, 2016.

As SSTIs são categorizadas conforme sua localização anatômica e manifestações clínicas específicas. Dentre os principais tipos de SSTIs destacam-se a foliculite, o hordéolo, a hidradenite supurativa, os abscessos e o impetigo (Silverberg, 2021; Esposito *et al.*, 2017). O principal agente associado as SSTIs é o *S. aureus* e as infecções causadas por esse microrganismo podem ser superficiais ou profundas

(Fig.2) (Santos *et al.*, 2007). Em contexto epidemiológico, um estudo realizado por Oliveira *et al.* (2019) em amostras de tecido cutâneo de pacientes com dermatite atópica no Brasil revelou que 92% das amostras eram positivas para *S. aureus*. Em outro estudo, uma análise transversal retrospectiva realizada no norte de Minas Gerais constatou que 21% dos casos de SSTIs foram causados por *S. aureus* (Souza e colaboradores, 2016). Além disso, foi demonstrado, em estudo realizado por Vecchia e colaboradores, que as *S. aureus* recuperadas em 58% das amostras de SSTIs de pacientes de Milão, Itália, entre 2017 e 2021, eram de linhagens resistentes a antimicrobianos, como *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina.

1.4 *Staphylococcus aureus*

Identificado por Alexander Ogston em 1880 e categorizado por Friedrich Julius Rosenbach em 1884, *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva com formato de cocos que se agrupam em conjuntos formando cachos (Koneman, 2001) (Fig. 3). A formação de colônia ocorre em um intervalo de 18 a 24h, exibindo inicialmente uma cor acinzentada, mas que pode evoluir para uma tonalidade amarelo-ouro com incubação prolongada (Santos *et al.*, 2007). Um marcador diferencial para sua identificação em cultura é a metabolização do manitol. O *S. aureus* através dessa metabolização acidifica o meio ágar hipertônico manitol que passa a exibir uma coloração amarelada (Koneman, 2001). Além disso, o *S. aureus* possui enzimas e cofatores, como catalase, coagulase e DNAase, que funcionam como chaves para sua identificação (Kloos; Bannerman, 1995).

Esse microrganismo demonstra uma notável capacidade de sobreviver sob amplas variações ambientais (Howden *et al.* 2023). Esta capacidade inclui a persistência em uma vasta gama de pH, variando de 4.2 a 9.3, com preferência por valores entre 7.0 e 7.5, e a habilidade de tolerar temperaturas que oscilam de 6°C a 48°C, sendo 37°C considerada a temperatura ideal para sua multiplicação (Santos *et al.*, 2007). Além disso, é resistente à presença de NaCl, mantendo viabilidade em concentrações salinas de até 25%, com uma faixa ótima de sobrevivência entre 7% e 10% (Turner *et al.* 2019 e Miller *et al.* 2012). Além disso, *S. aureus* possui capacidade de persistência em condições de dessecação, com certas linhagens mantendo

viabilidade por extensos períodos em superfícies variadas (Rountree, 1963; Noble, 1962).

O *S. aureus* faz parte da microbiota comensal na pele e nas fossas nasais de grande parte da população (Cheung et al. (2021). Entretanto, esse microrganismo pode atuar como oportunista, provocando um amplo espectro de infecções, como

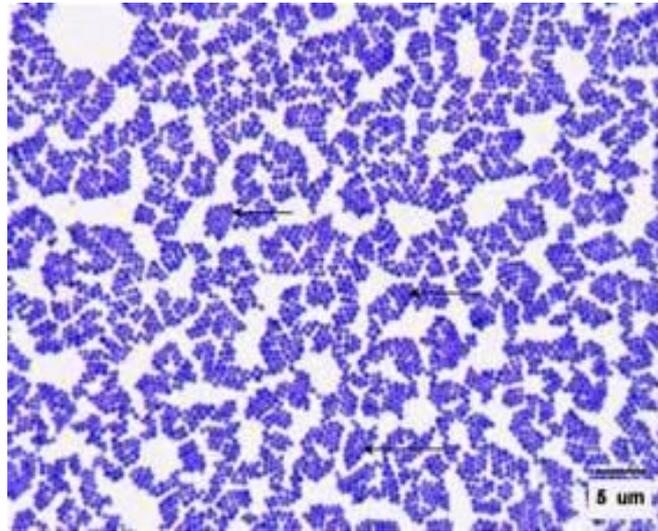


Figura 3 – *Staphylococcus aureus* sob microscopia ótica: Medindo de 0.5 a 1.5 micrometros (μm) os cocos se organizam em estruturas com formato de cachos. Fonte: Taylor, (2023).

abordado anteriormente (Boldock et al., 2018). Essas infecções podem ser causadas por linhagens resistentes a antimicrobianos, o que torna mais complexo o manejo e tratamento dos pacientes infectados (Tong et al., 2015).

1.4.1 Fatores de virulência em *S. aureus*

O *S. aureus* possui um vasto repertório de fatores de virulência, que confere a ele a capacidade de invadir e infectar diversas camadas da pele (Cheung *et al.*, 2021). Esse arsenal de virulência (Fig. 4) inclui vários tipos de toxinas formadoras de poros, tais como leucocidinas, hemolisinas e modulinas solúveis em fenol (PSMs), que possui a capacidade de comprometer a integridade celular (Dinges *et al.*, 2000). Além disso, enzimas que degradam componentes da matriz extracelular, como lipases, proteases e hialuronidase, ajudam na disseminação do patógeno (Jenu; Horswill, 2018). Fatores como SAK (cinase ativadora de estafilococos) e COA (coagulase) promovem a ativação de processos enzimáticos, levando à conversão de fibrinogênio

em fibrina, essencial para a coagulação (Cheung *et al.*, 2021). Já os superantígenos interagem com receptores de células T (TCR), induzindo um estado de anergia imunológica (Gerardi, 2023; Tam; Torres, 2019).

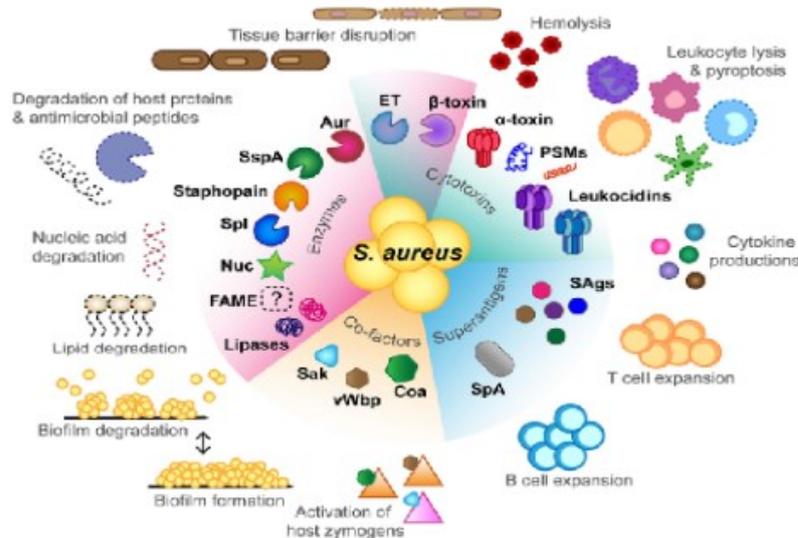


Figura 4 - Fatores de patogenicidade produzidos por *S. aureus*: Durante a infecção, *S. aureus* pode produzir toxinas que levam à lise de leucócitos através da formação de poros. Superantígenos levam a expansão de células T e B resultando em uma produção massiva de citocinas. Co-fatores levam a ativação do sistema de coagulação com formação de coágulos. Enzimas são capazes de degradar proteínas e lipídios do hospedeiro. Fonte: Tam; Torres, (2019).

Dentre os fatores de virulência de *S. aureus*, a alfa toxina se destaca como um agente crítico na patogênese de SSTIs provocadas por esse microrganismo. A alfa toxina é classificada como uma exotoxina formadora de poros. Ela é tóxica para um amplo espectro de células, podendo ser neurotóxica, dermonecrotica e hemolítica (Cheung *et al.*, 2021; Monecke *et al.*, 2014; Dinges *et al.*, 2000). Sendo uma proteína solúvel em água, ela é capaz de formar canais iônicos em bicamadas lipídicas por inserção de um poro β anfipático, o que causa alterações fisiológicas celulares, como no equilíbrio iônico e no potencial da membrana plasmática, levando a ativação da p38 MAP quinase, que pode desencadear uma resposta inflamatória (Fig. 5) (Eiffler *et al.*, 2016).

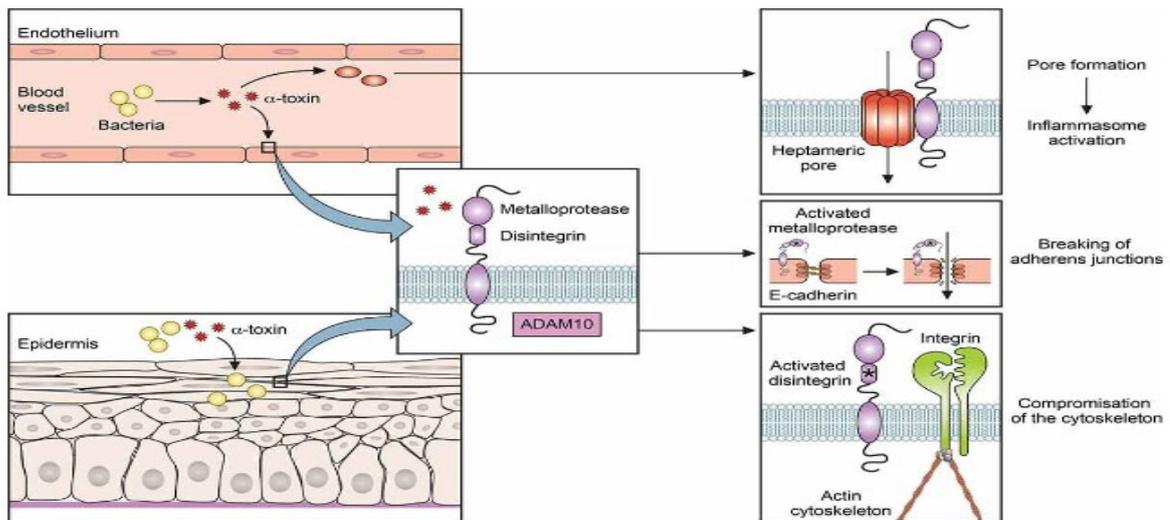


Figura 5 - Papel da toxina α na infecção por *S. aureus*: A alfa toxina, o principal agente tóxico de *Staphylococcus aureus*, exerce sua ação por meio de dois mecanismos fundamentais, ambos requerendo a interação com o receptor ADAM10, que se caracteriza pela presença de domínios de metaloprotease e desintegrina. Inicialmente, ela promove a formação de poros nas membranas de várias células-alvo, formando estruturas heptaméricas porosas. Subsequentemente, provoca danos ao epitélio e ao endotélio, desestabilizando as junções aderentes e afetando adversamente a integridade do citoesqueleto. Fonte: Gordon *et al.* (2021).

A alfa-toxina funciona ligando-se à metaloproteínase ADAM-10 (von Hoven *et al.*, 2018), que é ativada destruindo os contatos célula-célula através da clivagem de caderinas, o que contribui para disseminação de *S. aureus* nos tecidos subjacentes. Além disso, a ligação da alfa-toxina em ADAM-10 promove a formação dos poros na membrana celular (Cheung *et al.*, 2021; Gordon *et al.*, 2021; Monecke *et al.*, 2014).

Em adição, um estudo realizado por Cohen *et al.* (2018) demonstra que a alfa-toxina é importante para *S. aureus* subverter a capacidade de macrófagos *em* realizar o *killing*. Esse estudo demonstra que após a formação de poros na membrana plasmática mediados por alfa-toxina, ocorre a ativação do inflamassoma NLRP3 por consequência do fluxo de potássio através dos poros. Além disso, é demonstrado que a alfa toxina também induz a ativação do inflamassoma NLRP3 ao inibir o tráfico de mitocôndrias para próximo ao fagolisossoma, facilitando que as mitocôndrias interajam com o NLRP3, levando a formação do complexo inflamassoma com ativação robusta de caspase-1 e formação de IL1- β . A ausência de alfa toxina ou do componente do inflamassoma NLRP3 reverte o tráfico mitocondrial, levando a um aumento de ROS mitocondrial, ativação local da caspase-1 e início da acidificação endossomal, aumentando assim a capacidade bactericida dos macrófagos e,

consequentemente, levando a uma maior sobrevivência do animal. Além disso, um trabalho realizado por Yang *et al.* (2023), demonstra que a alfa-toxina prejudica várias funções essenciais em neutrófilos como a produção de leucotrieno B4 (LTB4), que é prejudicada por consequência de alterações nas concentrações de cálcio intracelular.

1.5 A interação entre *S. aureus* e o hospedeiro

1.5.1 Imunidade inata nas infecções cutâneas por *S. aureus*

No contexto de infecção por *S. aureus*, os queratinócitos são fundamentais na linha de frente da imunidade da pele, sendo frequentemente os primeiros a estabelecer contato com o agente patogênico (Fournier *et al.*, 2005; Molne *et al.*, 2000). Os PRRs nessas células são vitais para a detecção dos MAMPs característicos do *S. aureus* (Fournier *et al.*, 2005). Estudos recentes têm demonstrado que a resposta imune frente a infecção por *S. aureus* é iniciada pela ativação da sinalização autócrina de IL-1 α em queratinócitos, juntamente com a produção de IL-1 β (Pasparakis *et al.*, 2014) (Fig. 6). A IL-1 α é pré-armazenada nos queratinócitos, por

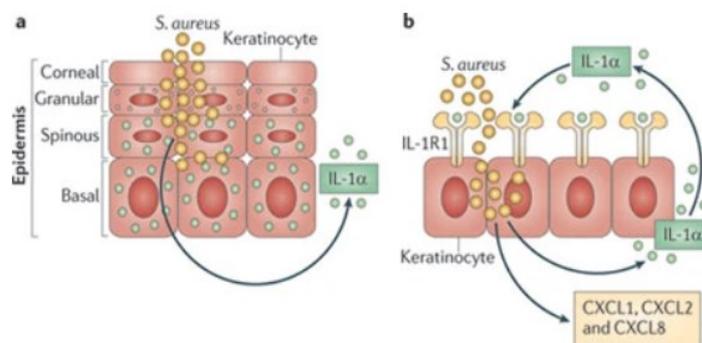


Figura 6 – Liberação de IL1- α em queratinócitos durante a infecção por *S. aureus*:(A) Os queratinócitos presentes na epiderme armazenam interleucina-1 α (IL-1 α) constitutivamente, as quais são prontamente secretadas em reação a danos, processos inflamatórios ou infecções. (B) Em queratinócitos, a presença de *Staphylococcus aureus* desencadeia uma cadeia de sinalização autócrina, orquestrada pela IL-1 α e seu receptor IL-1R1, resultando na síntese acelerada e sustentada de quimiocinas que recrutam neutrófilos, incluindo o ligante 1 de quimiocina CXC (CXCL1), CXCL2 e CXCL8. Fonte: Miller e Cho (2011).

outro lado a síntese de IL-1 β é condicionada primeiramente a ativação de PRRs, como o TLR2, que desencadeia a transcrição de pró-IL-1 β por meio do fator de transcrição NF- κ B e em seguida a produção de pró-IL-1 β . Um estímulo adicional, como efluxo de potássio, disrupção lisossomal ou ativação do receptor P2X7, ativa o

inflamassoma, que, então, promove a ativação da caspase-1. Esta, por sua vez, cliva a pró-IL-1 β liberando IL-1 β em sua forma ativa e secretável (Figura 7) (Bitschar *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017; Miller; Cho, 2011; Hruz *et al.*, 2009; Lizzul *et al.*, 2005; Kupper *et al.*, 2004).

A ativação dos inflamassomas, seguida pela liberação de IL-1 β e a

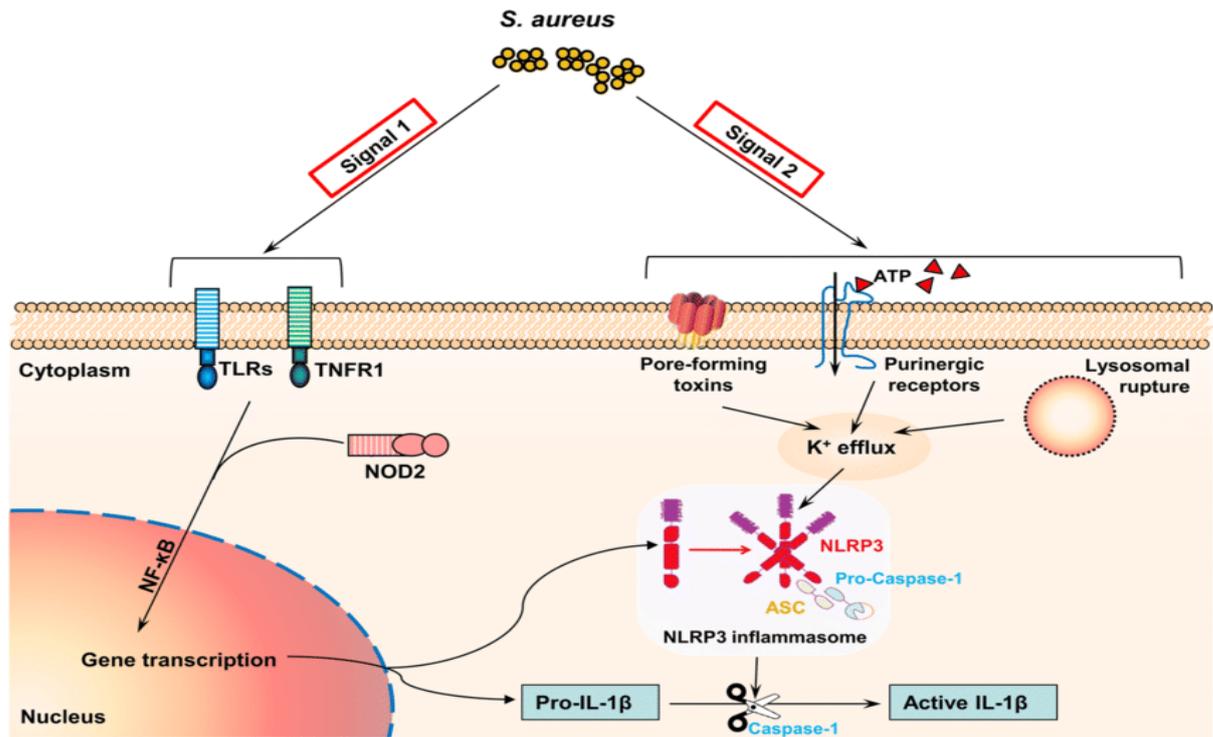


Figura 7 - Produção de IL-1 β pelo inflamassoma durante infecções dérmicas causadas por *Staphylococcus aureus* são essenciais para a resposta imune inicial: Durante infecções cutâneas por *S. aureus*, a síntese e liberação de IL-1 β requerem dois sinais críticos. O primeiro envolve a transcrição de pró-IL-1 β , desencadeada por reconhedores de padrões moleculares, como TLRs e NOD2, e a ação de citocinas inflamatórias, como TNF. O segundo sinal, ativa o inflamassoma NLRP3, levando à oligomerização da proteína ASC e à ativação de caspase-1, que processa IL-1 β para sua forma ativa. Esse mecanismo é essencial para desencadear respostas imunes e pode ser iniciado pela ação de toxinas bacterianas e pela ativação do receptor P2X7. Fonte: Liu *et al.*, (2018).

subsequente indução da produção de IL-6 e IL-23 via NF- κ B, desencadeia uma mobilização coordenada de células imunes na derme e epiderme, propiciando uma resposta imunológica sinérgica e robusta contra as infecções por *S. aureus* (Hatlen; Miller, 2021; Pasparakis *et al.*, 2014). Esse mecanismo envolve uma série de células efetoras, tais como macrófagos, células T $\gamma\delta$, natural killer (NK), células T de memória residentes nos tecidos (TRM) e células T helper 17 (TH17). As células TH17, iniciam a secreção de IL-17A e IL-17F (Ishigame *et al.*, 2009), que por sua vez ativam os receptores específicos de IL-17 em queratinócitos, resultando na síntese de peptídeos antimicrobianos, vitais para a defesa contra agentes patogênicos (Harper *et al.*, 2009).

Além disso, os queratinócitos elevam a produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, como IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF, CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL8, CCL20 além de moléculas de adesão, incluindo P-selectina, E-selectina e ICAM1 no endotélio, bem como L-selectina e LFA1 em neutrófilos, essenciais para migração desses leucócitos para o sítio de infecção (Hedrick *et al.*, 2021) (Fig.8).

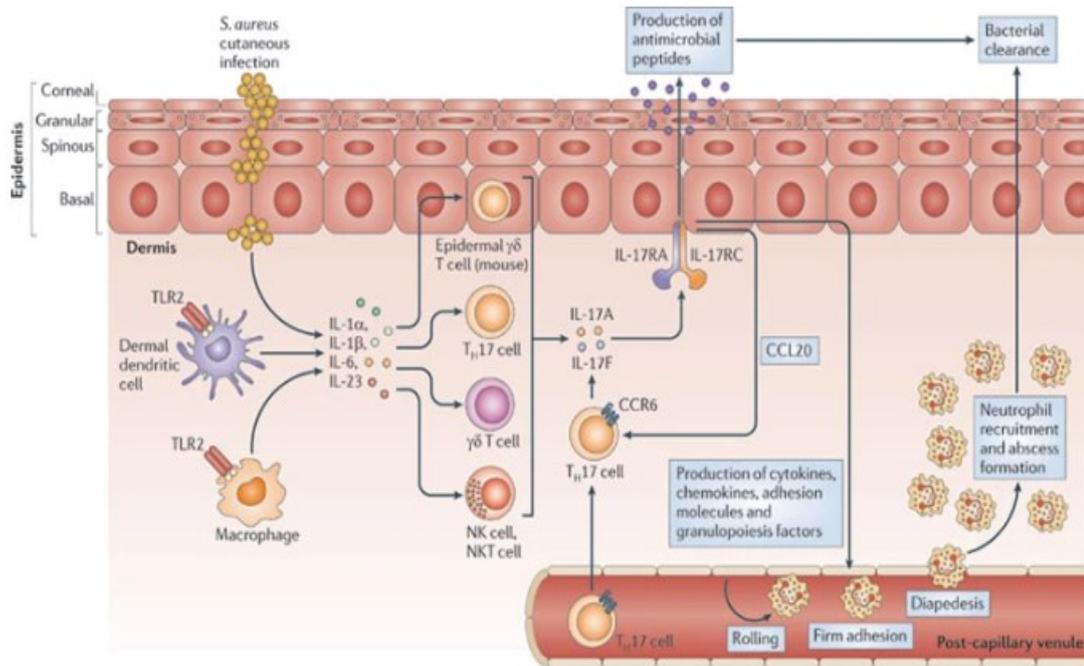


Figura 8 - A resposta imune cutânea contra *S. aureus*: Várias células são responsáveis pela produção de mediadores inflamatórios e peptídeos antimicrobianos. Os queratinócitos, as células dendríticas e macrófagos residentes são as primeiras células ativadas pela presença de *S. aureus* e liberam citocinas como IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL23. Essas citocinas ativam as células T $\gamma\delta$, presentes na epiderme, e células TH17, células natural killer (NK) e células NKT localizadas na derme. Essas células são ativadas pela ligação de MAMPs ao receptor Toll-like 2 (TLR2) e produzem IL-17. Essas interleucinas estimulam os queratinócitos a produzir peptídeos antimicrobianos, como β -defensinas e catelicidinas, que têm atividade bacteriostática e bactericida contra *Staphylococcus aureus*. Além disso, a produção de citocinas e quimiocinas pro-inflamatórias pelas células residentes da pele promove a expressão de moléculas de adesão no endotélio e em neutrófilos que facilitam o recrutamento dessas para a pele. Os neutrófilos formam abscessos, que são cruciais para conter a infecção e promover a eliminação bacteriana. A sinalização envolve também a produção de GM-CSF e G-CSF, que estimulam a granulopoiese de neutrófilos, essencial para a resposta imune eficaz. Fonte: Miller e Cho (2011).

Os macrófagos residentes destacam-se na fagocitose e no *killing* de *S. aureus* (Van Belleghem; Bollyky, 2018). Em condições basais, esses macrófagos produzem mediadores pró-inflamatórios constitutivos, mas essa produção é aumentada após estímulos como citocinas inflamatórias liberadas por queratinócitos, componentes de parede celular bacteriana e DAMPs (Koh; DiPietro, 2011). Esses estímulos direcionam

os macrófagos para um fenótipo pró-inflamatório de "ativação clássica", que é caracterizado pela elevada liberação de mediadores como IL-1, IL-6, IL-12, TNF e aumento na expressão de óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (Feuerstein *et al.*, 2017). Além disso, essas células produzem quimiocinas essenciais para o recrutamento de outras células imunes para o local de inflamação ou lesão (Abtin *et al.*, 2014). Os macrófagos realizam o *clearance* de bactérias, por meio da fagocitose, produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, peptídeos antimicrobianos e proteínas quelantes que sequestram nutrientes essenciais para a sobrevivência bacteriana (Pidwill *et al.*, 2021; Yanez *et al.*, 2017; Pasparakis *et al.*, 2014; Molne *et al.*, 2000).

Os neutrófilos são frequentemente as primeiras células imunes a migrar para o local de uma infecção (Marzano *et al.*, 2019; Molne *et al.*, 2000). Assim como os macrófagos, eles desempenham mecanismos efetores como a fagocitose, onde o neutrófilo engloba a bactéria, desencadeando a produção de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio, como radicais superóxidos, peróxido de hidrogênio, óxido nítrico e ácido hipocloroso (Burn *et al.*, 2021), que são importantes para o controle bacteriano (Miller; Cho, 2011). Além disso, os neutrófilos podem também realizam degranulação para o controle do *S. aureus* (Burn *et al.*, 2021), esse processo envolve a liberação de grânulos contendo moléculas antimicrobianas, tais como defensinas, azurocidina, catepsina, lactoferrina, lisozima, protease-3 e elastase (Marzano *et al.*, 2019). Outro mecanismo efetor importante nos neutrófilos são as armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs), que são compostas por redes intrincadas de cromatina, histonas, DNA, proteases e peptídeos antimicrobianos (AMPs), e que desempenham um papel de destaque na captura de bactérias, constituindo um componente essencial da resposta imunológica a infecções (Papayannopoulos, 2018).

Além disso, durante a fase inflamatória em lesões de pele, onde acontece um intenso influxo de neutrófilos, também ocorre um influxo de monócitos que rapidamente se diferenciam em macrófagos pró-inflamatórios, e que podem passar por alterações fenotípicas conforme a progressão da lesão, se diferenciando em macrófagos com fenótipo de reparação tecidual quando a infecção é contida e inicia-se o processo de resolução (Boniakowski *et al.* 2017, Koh; DiPietro, 2011).

Embora haja uma dinâmica em relação a resposta imune cutânea mediante a infecção por *S. aureus*, doenças de base, como diabetes e obesidade, podem alterar

a capacidade de sistema imune cutâneo na eliminação do *S. aureus*. Nesses pacientes ocorre mudanças no ambiente da lesão cutânea (Gehrke *et al.*, 2023). Esse ambiente tem a angiogênese e função dos fagócitos prejudicadas, produção contínua de citocinas inflamatórias e produção de espécies reativas de oxigênio aumentada (Wei *et al.*, 2022; Dunyach-Remy *et al.*, 2016). Esse ambiente favorece o crescimento de microrganismos com versatilidade metabólica, como o *S. aureus*, que é um problema recorrente em SSTIs em pacientes diabéticos e obesos (Pascaline *et al.*, 2023).

1.5.2 Papel de ROS na infecção por *S. aureus*

O oxigênio atmosférico desempenha um papel fundamental para a sustentação da vida em organismos aeróbicos, com cerca de 95% do oxigênio consumido durante a respiração sendo convertido em água (Hsia *et al.*, 2013). Os 5% restantes, participam na geração de metabólitos reativos, denominados espécies reativas de oxigênio (ROS), que incluem superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, e oxigênio singleto, além de espécies reativas de nitrogênio como o óxido nítrico (Li *et al.*, 2015; Herb; Schramm, 2021). O estresse oxidativo surge quando ocorre um desbalanço entre a produção de ROS e as defesas antioxidantes do organismo. Nesse contexto, há um aumento na produção de ROS, que pode ser tanto na atividade mitocondrial, comum a todas as células durante o transporte de elétrons, quanto nas NADPH oxidases (NOX), (Pizzino *et al.*, 2017), e ineficiência das enzimas antioxidantes, como SOD, catalase e GHS, em remover todo o excesso de ROS produzido (Shadel; Horvath, 2015; Nakai; Tsuruta, 2021).

Inicialmente descobertas em fagócitos por seu papel essencial na geração de *burst* respiratório e eliminação bacteriana, as NADPH oxidases compreendem sete variantes (NOX1-NOX5, Duox1 e Duox2), cada uma com distinções estruturais, variações nos níveis de expressão tecidual e mecanismos de ativação específicos (Yang; Lian, 2020). Notavelmente, o núcleo catalítico de NOX2, um tipo clássico de NADPH oxidase fagocítica, é composto pelas subunidades gp91phox e p22phox, formando o complexo flavocitocromo b558, que é importante na mediação da resposta imune (Mittal *et al.*, 2012; Andrés *et al.*, 2022). A subunidade catalítica gp91phox da NADPH oxidase NOX2 é composta por um domínio transmembranar que inclui dois

citocromos B e uma subunidade p22 acoplada, além de um domínio citoplasmático que contém FAD. A ativação de fagócitos inicia fosforilações que atraem subunidades reguladoras para o domínio citoplasmático, ativando enzimaticamente a NOX2. Essa ativação permite a transferência de elétrons ao oxigênio, formando ROS como o superóxido, através de um sistema heme do FAD, com a redução subsequente por NADPH. O NADP⁺ é convertido de volta para NADPH através da via das pentoses fosfato (Winterbourn *et al.*, 2016). Além disso, o superóxido pode se combinar rapidamente com o óxido nítrico (NO), formando espécies reativas de nitrogênio (RNS) como o peroxinitrito, em um processo até quatro vezes mais ágil do que sua dismutação pela superóxido dismutase (SOD), intensificando o estresse nitrosativo e a carga pró-inflamatória das ROS (Herb; Schramm, 2021; Mittal *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2022).

Já foi demonstrado que algumas morbidades, como diabetes e obesidade, interferem no processo de cicatrização de feridas, além disso o *S. aureus* é recuperado com frequência nas feridas desses pacientes, embora a produção de ROS nessas lesões esteja aumentada (Rowe *et al.*, 2020). Esses estudos sugerem que *S. aureus* pode agir empregando estratégias adaptativas que confere proteção contra o estresse oxidativo (Campbell *et al.*, 2023). Sob condições de hipóxia e elevada presença de ROS, o *S. aureus* ajusta sua expressão gênica para priorizar vias metabólicas como a glicólise e a fermentação, um ajuste mediado pelo regulador SrrAB, o que potencializa sua resistência a estresses oxidativos (Campbell *et al.*, 2023). No entanto, não está claro quais fatores de virulência em *S. aureus* induzidos por ROS são importantes para sua manutenção em feridas. Dessa forma, é necessário compreender como fatores de virulência de *S. aureus* podem ser regulados no ambiente de alta produção de ROS e o papel da NOX nesse contexto.

2 JUSTIFICATIVA

As infecções de pele e tecidos moles, especialmente as causadas por *S. aureus*, são um problema global. Muitos estudos realizados nas últimas décadas elucidaram mecanismos de patogenicidade e resposta do hospedeiro frente a essas infecções. No entanto, as SSTIs continuam sendo um problema, especialmente em pacientes com doença de base, como hiperglicêmicos e obesos. As lesões cutâneas são caracterizadas por serem ambientes ricos em ROS, que são componentes essenciais para o *killing* microbiano. Todavia, *S. aureus* consegue se estabelecer em lesões cutâneas e amplificar o dano tecidual da pele. Sendo assim, acreditamos que embora as ROS contribuam para morte bacteriana, de forma a preservar a integridade do tecido cutâneo, ela também pode induzir fatores de virulência em *S. aureus* que favorece a disseminação desse microrganismo no tecido infectado. Dessa forma, a elucidação dos fatores de virulência induzidos por ROS e suas consequências para a progressão e manutenção de feridas pode estabelecer novos alvos terapêuticos e antimicrobianos para o tratamento de infecções por *S. aureus* em SSTIs.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de espécies reativas de oxigênio (ROS) provenientes de NADPH oxidase na virulência de *S. aureus* em modelos de infecção cutânea *in vivo* e *in vitro*.

3.2 Objetivos específicos

- Padronizar um modelo de úlceras cutâneas em camundongos C57BL/6 induzidas pela infecção subcutânea de *Staphylococcus aureus*;
- Avaliar o papel de NOX2 no *clearence* bacteriano e progressão da cicatrização das feridas;
- Avaliar o papel de NOX2 na fagocitose e *killing* de *S. aureus* em macrófagos derivados da medula óssea (BMDMs);
- Avaliar a expressão de alfa-toxina de *S. aureus* após fagocitose BMDMs.

4 METODOLOGIA

4.1 Comitê de ética

Todos os procedimentos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG. Protocolo 297/2023.

4.2 Animais

Para esse trabalho foram utilizados camundongos C57BL/6, fêmeas, com 6 a 8 semanas que foram adquiridos do Biotério Central da UFMG (Belo Horizonte, Minas Gerais) e camundongos *Gp91^{phox-/-}* (fêmeas, 6-8 semanas) gentilmente cedidos pela professora Leda Quercia Vieira do Departamento de Bioquímica e Imunologia do ICB/UFMG. Todos os animais foram mantidos no biotério NB2 do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas durante a experimentação, em condições controladas de temperatura (28°C a 30°C), umidade (50%), ventilação e ciclos de luz (12h claro-escuro) e com água e ração sem restrição.

4.3 Bactérias

Foi utilizada a linhagem ATCC 6538 - *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach para todos os experimentos no presente projeto. As alíquotas foram cedidas pelo professor Flávio Amaral do Laboratório de Imunofarmacologia, departamento de Bioquímica e Imunologia, UFMG. A bactéria foi cultivada em caldo infusão de coração e cérebro (BHI) e armazenada em alíquotas de 100 uL com 20% de glicerol a -80°C. Para a inoculação, uma alíquota foi semeada em placa com ágar BHI com tempo de cultivo de 24 horas a 37°C. Em seguida, uma colônia foi cultivada em caldo BHI por 24 horas a 37°C. A cultura foi centrifugada e ressuspensa em PBS para preparação do inóculo. O inóculo foi preparado através da medida da absorbância em espectrofotômetro a 600 nm.

4.4 Padronização de modelo de infecção cutânea por *S. Aureus in vivo*

Para padronizar o modelo experimental, animais C57BL6 foram anestesiados com 80 mg/kg de Cetamina e 15 mg/kg de Xilazina (ip), submetidos a depilação manual do dorso e em seguida infectados com três inóculos diferentes de *Staphylococcus aureus*: 10^6 , 10^7 , e 10^8 unidades formadoras de colônia (UFC) no tecido subcutâneo dorsal, em uma distância de 0,5 cm da calda. Os animais infectados foram submetidos à eutanásia nos dias 2 e 8 após a infecção (Figura 9).

As lesões foram fotografadas a cada dois dias para documentação visual, e a área das lesões foi medida com um paquímetro, aplicando a fórmula: altura x comprimento = área da lesão em mm^2 . Nos dias estipulados (2 e 8), além da pesagem dos animais, procedeu-se à eutanásia por deslocamento cervical, após anestesia intraperitoneal seguindo o protocolo inicial. De cada animal, foi coletada uma amostra de tecido cutâneo utilizando um PUNCH dermatológico descartável de 8 mm. Essas amostras foram submetidas a análise bacteriana quantitativa e avaliação da atividade de mieloperoxidase.

4.5 Infecção cutânea em camundongos C57BL/6 *GP91^{PHOX}^{-/-}* ou WT tratados com apocinina

Para investigar o papel das espécies reativas de oxigênio (ROS) na infecção cutânea, animais C57BL/6 tratados com apocinina ou animais GP91 phox ^{-/-} foram infectados com um inóculo de 10^7 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de *S. aureus*. A infecção foi realizada seguindo o protocolo estabelecido na padronização do modelo *in vivo*, com os animais sendo eutanasiados nos dias 2 e 8 pós-infecção. O tecido cutâneo foi coletado para análises subsequentes, incluindo avaliação histopatológica, quantificação bacteriana, ensaios de ELISA e quantificação da atividade de mieloperoxidase (MPO).

Os animais tratados com apocinina receberam uma dose de 20 mg/kg diluída em DMSO a 2,5%, administrada um dia antes da infecção. O tratamento com apocinina foi dado a cada 24 horas durante todo período experimental (Figura 9).

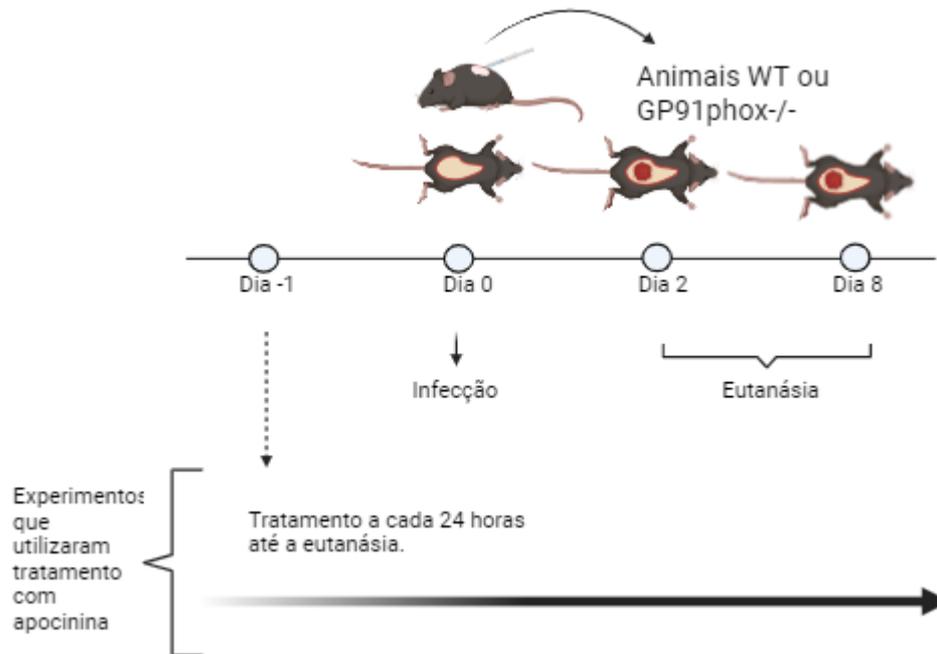


Figura 9 – Desenho experimental para a indução de infecção cutânea em camundongos C57BL/6 e GP91phox^{-/-}: Animais WT (C57BL/6) e GP91phox^{-/-} foram depilados, infectados e eutanasiados em 2 ou 8 dias após a indução da infecção cutânea no dorso do animal. Nos experimentos com tratamento com apocinina utilizamos camundongos C57BL/6 que foram tratados com apocinina 20 mg/kg ou veículo (DMSO 2,5% em solução salina). O tratamento foi realizado diariamente a partir do dia -1 e os animais foram eutanasiados em 2 ou 8 dias após a indução da infecção cutânea no dorso dos animais.

4.6 Recuperação de bactérias

A lesão foi delimitada e cortada através de PUNCH dermatológico de 8 mm. A amostra foi pesada e macerada utilizando cadinho e pistilo. Para quantificação de UFCs, foram realizadas diluições seriadas (1:10), e posteriormente o plaqueamento em ágar manitol hipertônico. As placas foram incubadas a 37°C por vinte e quatro horas. Após esse período, as colônias foram contadas e o resultado foi expresso em UFC/mg de tecido.

4.7 Quantificação da atividade de mieloperoxidase (MPO)

Inicialmente, fragmentos de tecido cutâneo foram coletados, pesados e homogeneizados em solução salina contendo EDTA (na proporção de 100 mg de tecido por 1 mL de solução), seguido de centrifugação a 3000 g por 15 minutos. O

sobrenadante foi descartado, e o pellet resultante foi ressuspendido em uma mistura de NaCl 0,2% p/v e NaCl 1,6% p/v com glicose 5% p/v, ambas as soluções preparadas em água gelada e adicionadas em volumes iguais.

Após uma nova centrifugação nas mesmas condições, o sobrenadante foi novamente descartado, e o pellet foi ressuspendido em tampão fosfato contendo HTAB (Hexadecyltrimethylammonium bromide) a 5% p/v. Essa suspensão foi homogeneizada por 30 segundos. Para garantir a completa lise celular e a liberação de MPO, as amostras foram submetidas a ciclos de congelamento e descongelamento três vezes utilizando nitrogênio líquido, seguidas de uma última centrifugação, após a qual o sobrenadante foi coletado para análise.

A atividade enzimática da MPO no sobrenadante foi determinada por um ensaio colorimétrico, utilizando um leitor de ELISA na leitura de 450 nm, empregando tetrametilbenzidina (1,6 mM) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 0,5 mM) como substratos. As amostras de tecido foram diluídas 20x antes da realização do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades relativas de atividade de MPO, baseando-se na densidade óptica (O.D.) das amostras, indicando uma medida indireta do influxo de neutrófilos para o tecido lesado.

4.8 Coloração de H&E para avaliação histopatológica

Após a eutanásia dos camundongos, amostras de pele das lesões foram coletadas e imediatamente fixadas em formalina tamponada neutra a 10%, com pH ajustado para 7,2, por um período mínimo de 48 horas, assegurando a preservação do tecido para análises histológicas. Subsequentemente, os tecidos foram processados, emblocados em parafina e cortados em seções de 5 μ m de espessura. Estas seções foram então coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina (H&E) para permitir a visualização detalhada da morfologia tecidual. A captura de imagens foi realizada utilizando uma microcâmara Q-Color5 acoplada a um microscópio Olympus BX53, operado pelo software Q-Capture Pro 7.0, o que facilitou a análise detalhada das características histológicas. A avaliação da reação inflamatória nas lesões seguiu um protocolo semiquantitativo, focando na identificação e quantificação de leucócitos infiltrados na derme e hipoderme.

Para quantificar o infiltrado inflamatório, adotou-se um sistema de pontuação

adaptado, sendo: 0 para ausência de inflamação; 1 para inflamação leve; 2 para inflamação moderada, caracterizada por um infiltrado difuso ou focal, incluindo áreas na derme profunda ou hipoderme; 3 para inflamação intensa, com infiltrado intenso ao redor de vasos sanguíneos, glândulas e folículos pilosos na derme profunda e/ou hipoderme; e 4 para inflamação muito intensa, indicando um infiltrado generalizado pela derme. A presença de áreas necróticas foi igualmente avaliada, com pontuações variando de 0 (ausência) a 3 (necrose grave). Além disso, a análise morfológica da epiderme incluiu a avaliação de acantose, disqueratose, papilomatose, exocitose e hiperqueratose, com cada parâmetro sendo classificado como ausente (0) ou presente (1). A pontuação total possível variou de 0 a 14. Essas avaliações histopatológicas foram realizadas de forma cega, garantindo objetividade e precisão nos resultados.

4.9 Modelo experimental *in vitro*

4.9.1 Extração e cultura de macrófagos derivados da medula óssea (BMDMs)

Camundongos C57BL/6 ou *Gp91^{phox} -/-* foram eutanasiados por sobredose de anestésico seguido por deslocamento cervical. O fêmur e a tibia foram removidos, limpos e colocados em placas de Petri, devidamente identificadas e sobre o gelo. Após a retirada de todos os ossos, as epífises foram cortadas (sem quebrar os ossos). Com a agulha acoplada à seringa, foram inseridos 5 mL de PBS 1X em cada osso, pelas duas extremidades, fazendo leve e simultânea fricção. O PBS que passa pelo osso foi coletado em um tubo de 50 mL (Falcon). Esta solução foi centrifugada a 1200 rpm 10 minutos a 4 °C e ressuspenida com o meio DMEM completo. As células foram mantidas em cultura durante 7 dias em placas de petri de 100mm para a diferenciação com suplementação do meio de cultura com sobrenadante de células L929 a fim de se obter uma confluência de 100%. Após a diferenciação, as células foram contadas em câmara de Neuba e foi realizado um cálculo para obter-se uma concentração de 1×10^5 células/poço. Em seguida, 1×10^5 macrófagos foram adicionados por poço em placas de 96 poços em DMEM sem presença de antibiótico para realização dos experimentos de fagocitose e *Killing*.

4.9.2 Ensaio de fagocitose

Os poços contendo 10^5 de BMDMs foram infectados com inóculos de (MOI) 1:10; 1:30 e 1: 100 (célula: bactéria). Trinta minutos após infecção, as células foram incubadas com gentamicina por 15 minutos na concentração de 100 µg/mL para eliminar as bactérias que não foram fagocitadas. Em seguida, o sobrenadante foi descartado, os poços foram lavados com PBS duas vezes e então adicionado 200 µl de TRITON 0,1% para lisar os macrófagos. A seguir foi realizada a diluição seriada com lisado de células e feito o plaqueamento por microgotas em ágar BHI para contagem de UFCs.

4.9.3 Ensaio de *Killing*

Para o ensaio de *killing* as células submetidas ao ensaio de fagocitose por 30 minutos com o MOI de 1:30 (célula: bactéria) foram mantidas a 37°C por 30 ou 60 minutos. A seguir, foi realizado o plaqueamento em diluição seriadas das células lisadas por microgotas em ágar BHI para contagem de UFCs. O *killing* foi verificado pela diferença entre a quantidade de bactérias fagocitadas e quantidade recuperada após 30 e 60 minutos pós-tratamento com gentamicina.

4.10 Avaliação da expressão de alfa-toxina em *S. Aureus* recuperados de macrófagos

Para determinar a expressão de alfa-toxina por *S. aureus*, 1×10^7 BMDMs foram plaqueadas em placas de Petri (100mm) e infectadas com *S. aureus* no (MOI) de 1:100 (célula:bactéria). Após 30 minutos de infecção as células do grupo infectado foram tratadas com gentamicina (100 µg/mL) para eliminar as bactérias externas não fagocitadas, seguida de uma incubação adicional de 15 minutos. Em seguida, foi removido o sobrenadante da placa e realizada a lavagem com PBS por três vezes. Para promover a lise celular, adicionou-se 4 mL de TRITON-X 0,1% às placas de petri. Em seguida, o material lisado foi coletado em tubos Falcon de 15 mL e acrescentou-se 4 mL de salina. Em seguida, o lisado foi submetido a centrifugações seriais para isolar as bactérias: inicialmente a 300xg por 5 minutos a 4°C, no qual foi coletado o

sobrenadante e esse foi submetido a uma centrifugação a 5800xg por 20 minutos. Como controle, realizamos a lise dos macrófagos com 4 mL de TRITON-X 0,1%. Em seguida, adicionamos o microrganismo juntamente com o lisado de células e incubamos o conteúdo por 30 min de forma semelhante a incubação realizada para o grupo infectado. Em seguida, os conteúdos das placas foram submetidos as centrifugações seriais para isolar as bactérias: inicialmente a 300xg por 5 minutos a 4°C, no qual foi coletado o sobrenadante e esse foi submetido a uma centrifugação a 5800xg por 20 minutos. O pellet resultante da última centrifugação foi ressuscitado em 1 mL de solução salina para a realização de diluições seriadas e o plaqueamento em ágar BHI. As colônias foram contadas (UFC/mL) após 24 horas. Para avaliar a expressão gênica, o sedimento bacteriano foi ressuscitado em 1 mL, transferido para tubos de 2 mL e centrifugado a 10.000 RPM a 4°C por 10 minutos. Com a remoção do sobrenadante, os tubos foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80°C para análises posteriores.

4.11 Extração de RNA

Inicialmente, as amostras de bactérias (extraídas como descrito no item anterior) foram homogeneizadas em 500 µL de tampão TE 10:1, e acrescidas de 10 µL de lisostafina (2 mg/mL) e levadas ao vórtex. As amostras foram então incubadas a 37°C em banho-maria por 40 minutos, com inversões periódicas dos tubos para garantir uma incubação uniforme. Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi removido, e 500 µL de trizol (Invitrogen, Brasil) foram adicionados para prosseguir com a lise celular, seguido pela homogeneização com uma pipeta automática.

Adicionou-se 100 µL de clorofórmio refrigerado a cada amostra, incubando-as por 3 minutos à temperatura ambiente. Subsequentemente, 250 µL de isopropanol foram incorporados a aproximadamente 300 µL do sobrenadante transferido para outro tubo, seguido por uma centrifugação a 14.000 rpm por 15 minutos. Para a precipitação do RNA, a suspensão foi mantida a -80°C por 2 horas, seguida de uma centrifugação por 10 minutos. O sobrenadante foi então descartado, e os tubos foram colocados sobre papel absorvente com a boca para baixo, seguido pela adição de 200 µL de etanol 75% para lavar o precipitado de RNA. Após uma centrifugação rápida de

2 minutos, o etanol foi cuidadosamente removido, repetindo-se este passo para assegurar uma limpeza eficaz do RNA.

Finalmente, o RNA precipitado foi ressuspendido em água tratada com DEPC e armazenado a -80°C . A quantificação e análise da pureza do RNA total foram realizadas utilizando-se um espectrofotômetro (Ultrospec 2100 pro) na absorvância de 260 nm, com um fator de diluição de 1:500, garantindo assim a qualidade e a integridade do RNA extraído para posteriores análises moleculares.

4.12 Análise da expressão das toxinas em *S. Aureus*

A síntese do cDNA foi realizada por meio de transcrição reversa. Este processo envolveu a adição de 2 μL de iScript Reverse Transcription Supermix a uma solução previamente tratada com DNase (utilizando o iScript cDNA Synthesis Kit da BIO-RAD). O conjunto da reação foi então incubado em um termociclador conforme o protocolo especificado: inicialmente por 5 minutos a 25°C , seguido por 20 minutos a 46°C , e finalmente 1 minuto a 95°C , período durante o qual a transcrição reversa do mRNA foi completada. Após a conclusão da reação, o cDNA resultante foi armazenado a -20°C para preservação.

Para as etapas de amplificação subsequentes, utilizou-se 2 μL das amostras de cDNA preparadas. A reação de PCR foi conduzida em um volume total de 10 μL , incluindo 5 μL de Power SYBR Green PCR Master Mix 2X (da Applied Biosystems, localizada em Foster City, CA, EUA), 1 μL de primer forward com concentração de 5 μM , 1 μL de primer reverse também a 5 μM , e 1 μL de água ultra-pura Milli-Q. Esta reação de PCR foi executada seguindo o protocolo específico para SYBR Green disponível no sistema de termociclador StepOne (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

4.13 Análises estatísticas

Um teste de normalidade foi aplicado para avaliar se as amostras seguiram uma distribuição Gaussiana. As análises estatísticas entre diversos grupos foram realizadas utilizando ANOVA "one way" e o pós-teste de Tukey. Quando foi necessário comparar apenas dois grupos, recorreu-se ao teste "t". Os dados foram exibidos como

média \pm erro padrão. Adotou-se um nível de significância de $P < 0,05$. Para a realização de todas as análises, foi utilizado o software GraphPad PRISM, GraphPad software Inc.

5 RESULTADOS

5.1 A infecção por *S. Aureus* induz lesão cutânea em camundongos C57BL/6

Para padronização de um modelo experimental de lesão cutânea, camundongos da linhagem C57BL/6 foram infectados com *S. aureus* nos inóculos 10^6 , 10^7 e 10^8 UFC e foi avaliado macroscopicamente o processo de formação de feridas até sua completa cicatrização. Nossos resultados demonstraram que não houve a formação de lesões ulcerativas nos animais NI ou infectados com o inóculo de 10^6 UFC (Fig. 10A-B). No entanto, nos grupos infectados com os inóculos de 10^7 e 10^8 UFC houve formação de feridas a partir do segundo dia após a infecção (Fig. 10A-B). A formação das lesões cutâneas foram inóculo dependente, visto que o inóculos de 10^8 induziram maiores lesões cutâneas que as causadas pelo inóculos de 10^7 . Além disso, a cicatrização nas lesões dos camundongos infectados com 10^7 UFC ocorreu aproximadamente no 13º dia, enquanto, nos infectados com 10^8 UFC, ocorreu por volta do 18º dia, evidenciando uma recuperação mais lenta nos animais infectados com 10^8 UFC. Além disso, no grupo infectado com 10^8 UFC houve uma letalidade de 33,33% dos animais.

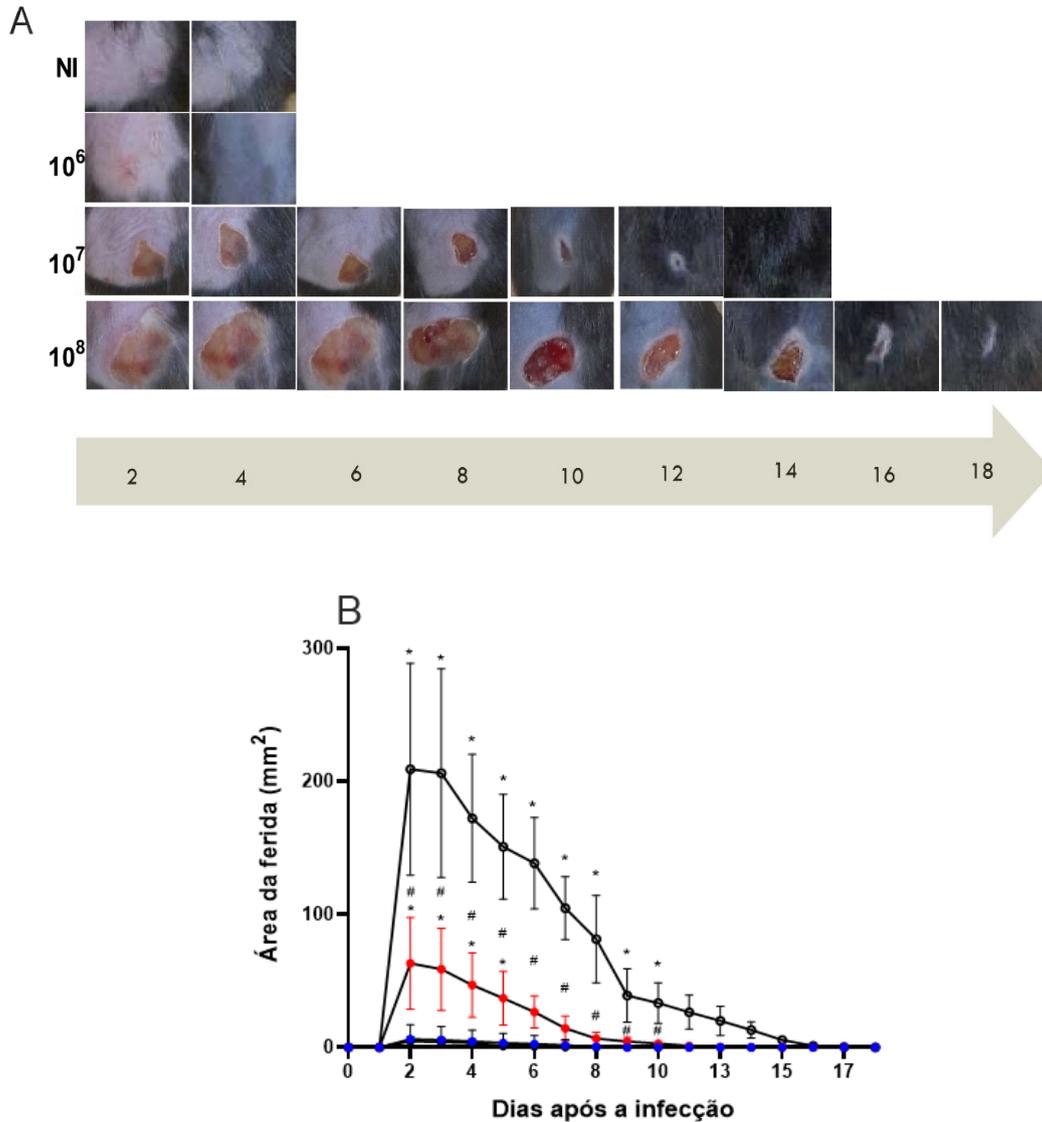


Figura 10 - Progressão da úlcera cutânea e variação de peso corporal em camundongos C57BL/6 infectados subcutaneamente com *S. aureus*: (A) Sequência temporal de fotografias capturadas a cada dois dias, ilustrando a evolução da úlcera cutânea até sua completa cicatrização. (B) Quantificação das dimensões das lesões, utilizando um paquímetro para medir dois eixos (x e y), com os resultados multiplicados para obter uma área expressa em milímetros quadrados (mm²). Diferença significativa 10⁷, 10⁸ em relação ao grupo NI *, Diferença significativa entre os grupos 10⁷ e 10⁸#. Dados representam a média ± DP, n=6 por grupo. *p < 0.05, conforme TWO way ANOVA seguido por teste post hoc de Tukey.

5.2 A lesão cutânea induzida por *S. Aureus* levou a uma proliferação bacteriana e influxo de neutrófilos na área lesionada

Para avaliar a proliferação bacteriana e influxo de neutrófilos para a área da ferida, foi realizada uma análise nas feridas coletadas nos dias 2 e 8 dpi. Nossos resultados mostraram que houve recuperação de *S. aureus* em todos os inóculos avaliados. No inóculo de 10^6 UFC houve recuperação bacteriana no segundo dpi semelhante a carga bacteriana aplicada. Já nos inóculos de 10^7 e 10^8 houve uma alta recuperação bacteriana (Fig. 11A). No oitavo dpi houve redução significativa na recuperação bacteriana para todos os inóculos utilizados (Fig. 11A). De forma interessante, os animais infectados com todos os inóculos apresentaram aumento no influxo de neutrófilos para o local da lesão no segundo dia após a infecção em relação ao grupo NI (Fig. 11B). Os grupos infectados com os inóculos de 10^6 e 10^7 apresentaram redução no MPO 8 dpi em comparação a 2 dpi, no entanto, o grupo infectado com o inóculo de 10^8 manteve as concentrações elevadas de MPO em 8 dpi (Fig. 11B). Como com o inóculo de 10^7 UFC observou-se um a formação de ferida local sem letalidade associada, esse inóculo foi escolhido para as demais análises.

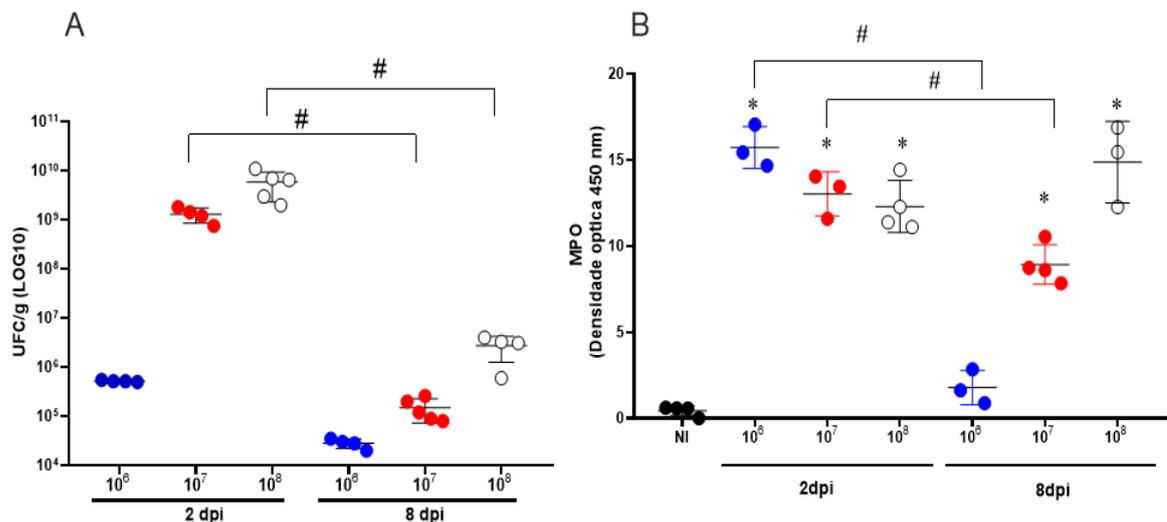
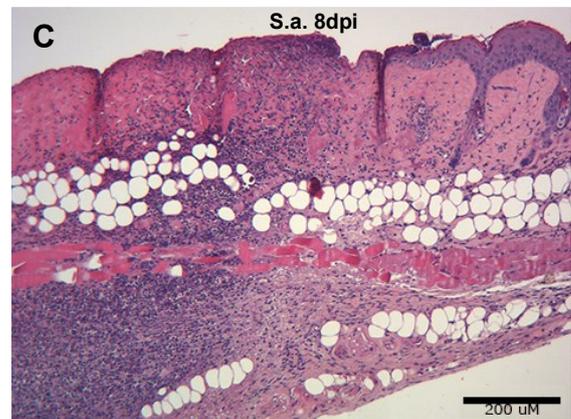
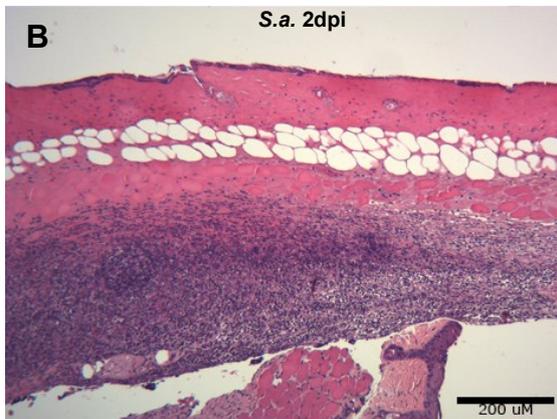
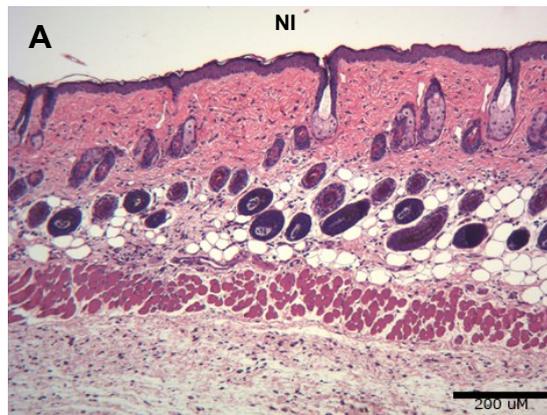


Figura 11 - Avaliação da carga bacteriana e atividade de mieloperoxidase em modelo de infecção subcutânea em camundongos C57BL/6: (A) O eixo X representa os inóculos utilizados e o tempo onde foram aplicados (dois dias e oito dias), enquanto o eixo Y a recuperação bacteriana (Unidades Formadoras de Colônia por grama de tecido). (B) Atividade da mieloperoxidase (MPO). Camundongos foram infectados subcutaneamente com inóculos de *S. aureus* nas concentrações de 10^6 , 10^7 , e 10^8 . A quantificação bacteriana foi realizada utilizando meio ágar manitol hipertônico após 48 horas de crescimento. Dados representam a média \pm DP, n=3 a 6 por grupo. *p < 0.05, conforme ANOVA seguido por teste post hoc de Tukey. # indica diferença entre os grupos ligados.

Após a escolha do inóculo de 10^7 UFC, também avaliamos as características histopatológicas das lesões. Nossos resultados demonstraram a formação de ulceração a partir do 2º dia pós-infecção (dpi) com um escore histopatológico máximo nesse tempo experimental. No 8º dpi houve menor lesão cutânea comparado a lesão observada no 2º dpi, conforme evidenciado pelo menor escore histopatológico considerando parâmetros como ancatose, disqueratose, hiperqueratose, papilomatose, ulceração, infiltrado inflamatório na derme, infiltrado inflamatório no adventício e necrose (Fig. 12A – D).



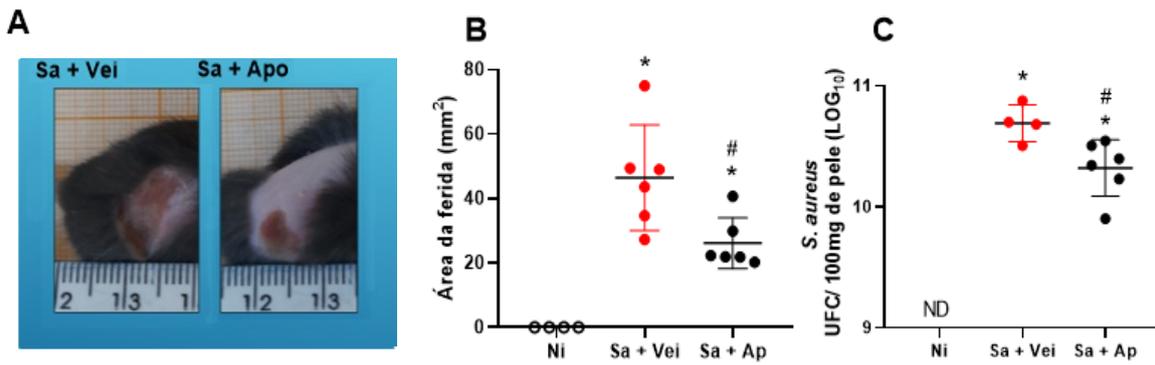


Figura 13 - Avaliação da área da ferida e recuperação bacteriana em modelos de infecção cutânea: (A) Representação visual das úlceras cutâneas em grupos tratados com veículo (Sa + Vei) e tratados com apocinina (Sa + Apo), capturadas 2 dias após a infecção, destacando o efeito dos tratamentos nas lesões. (B) Gráfico ilustrando as dimensões das lesões nos grupos não infectados (NI), infectados e tratados com veículo (Sa), e infectados e tratados com apocinina (Sa+Ap). O tamanho da ferida é expresso em milímetros quadrados (mm²). (C) Distribuição da carga bacteriana nos mesmos grupos do painel B, com a carga expressa em LOG₁₀ por 100 mg de tecido cutâneo, enfatizando as variações resultantes dos tratamentos. Dados representam a média ± DP, n= 3 a 6 por grupo. *p < 0.05, conforme ANOVA seguido por teste post hoc de Tukey em (A), (B). # aponta diferença estatística entre Sa+ap e Sa+vei.

de NOX por apocinina, animais deficientes em GP91phox apresentaram uma área de ferida significativamente menor em comparação aos animais WT (Fig. 14A).

Adicionalmente, a quantidade de bactérias recuperadas das lesões foi inferior nos animais GP91phox em relação aos animais WT (Fig. 14B).

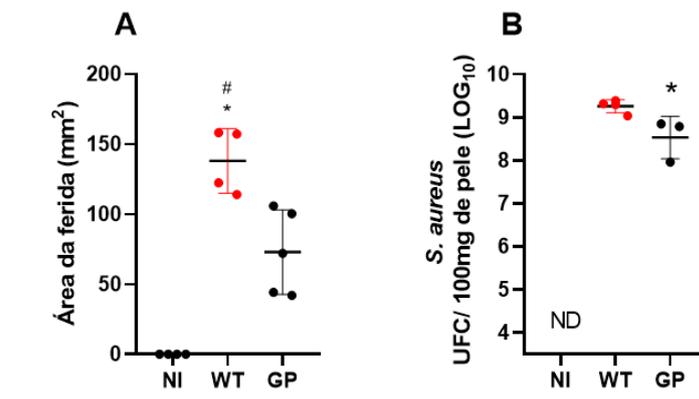
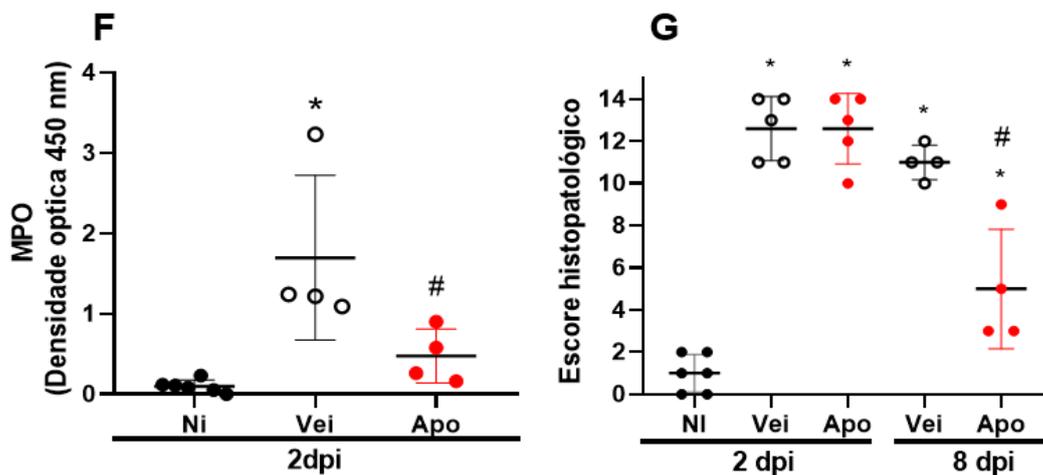


Figura 14 - Avaliação da área da ferida e recuperação bacteriana em modelos de infecção cutânea: (A) Comparação do tamanho das lesões entre camundongos do tipo selvagem (WT) e *Gp91phox*^{-/-} (GP) infectados com *S. aureus*, os resultados foram expressos em mm². (B) Avaliação da carga bacteriana nos grupos de camundongos selvagens (WT) e *GP91phox*^{-/-} os resultados foram expressos em UFC por 100 mg de tecido. Dados representam a média ± DP, n= 3 a 5 por grupo. *p < 0.05, conforme ANOVA seguido por teste post hoc de Tukey em (A), (B).

5.4 Animais tratados com apocinina exibem menor influxo de neutrófilos e resolução mais rápida da ferida comparado a animais tratados com veículo após infecção com *S. Aureus*

A análise histopatológica da lesão cutânea no segundo dpi demonstrou que o *S. aureus* induziu lesão cutânea semelhante no grupo veículo e no tratado com apocinina (Fig. 15A-C e 15F), que foi associada a um aumento de neutrófilo em comparação ao grupo NI e foi semelhante nos dois grupos infectados (Fig. 15G). No entanto, no oitavo dia após a infecção, foi observada uma diminuição na lesão cutânea nos animais tratados com apocinina em comparação aos animais tratados com veículo, conforme quantificado pelo escore histopatológico (Fig. 15D-E). Essa menor lesão cutânea observada no 8dpi no grupo tratado com apocinina foi associada a uma diminuição no influxo de neutrófilos em comparação ao grupo infectado tratado com veículo (Fig. 15. G). Esses resultados demonstram que a inibição da NADPH oxidase contribui para uma cicatrização mais rápida comparado ao grupo infectado tratado com veículo.



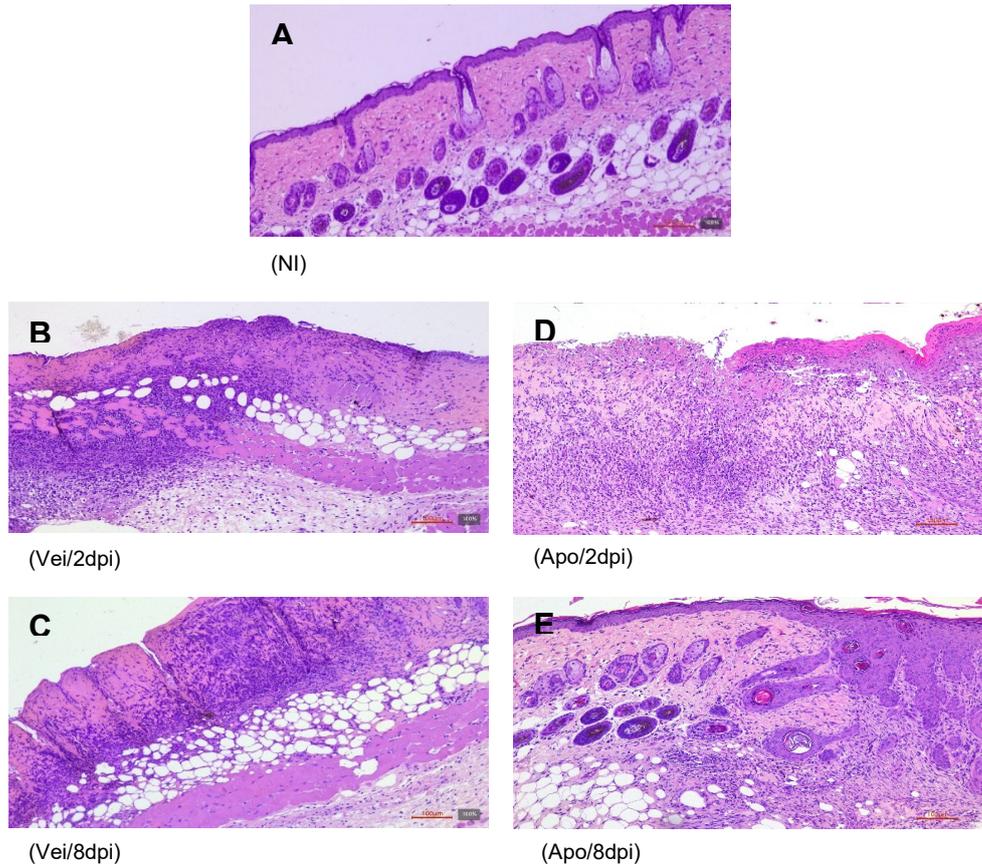


Figura 15 – Análise Comparativa da Estrutura Cutânea e Resposta Inflamatória em Camundongos C57BL/6: Impacto da Apocinina na Infecção por *S. aureus*. (A, B, C, D, E) As lâminas histológicas coradas com Hematoxilina e Eosina (H&E), apresentam seções transversais do tecido cutâneo dorsal de camundongos C57BL/6 sob diferentes condições experimentais. (A) Na ausência de qualquer lesão, é notável a estrutura intacta das diversas camadas cutâneas - epiderme, derme e hipoderme - assim como a presença de tecido muscular liso e tecido adventício subjacentes. Esta imagem serve como um controle, evidenciando a organização normal dos tecidos. (B) Nos animais tratados com o veículo no 2º dia após a infecção (2 dpi), observa-se uma significativa ulceração do tecido cutâneo, caracterizada pela destruição total da epiderme e consequente exposição da derme. Estão presentes grandes áreas de necrose tecidual, acompanhadas de um denso infiltrado inflamatório. (C) Em animais que receberam tratamento com apocinina até o 2º dia após a infecção (2 dpi) não foram observadas diferenças com o grupo veículo. (D) Nos animais tratados com o veículo no 8º dia após a infecção (8 dpi), observa-se uma significativa ulceração do tecido cutâneo, caracterizada pela destruição total da epiderme como nos animais tratados e não tratados até (2dpi). Estão presentes grandes áreas de necrose tecidual, acompanhadas de um denso infiltrado inflamatório. (E) Em animais que receberam tratamento com apocinina até o 8º dia pós-infecção, são visíveis lesões leves na epiderme, com um infiltrado inflamatório moderado tanto na derme quanto na adventícia, além da formação de tecido cicatricial. (F) Este gráfico apresenta a comparação da ativação de MPO entre os grupos tratados com apocinina (Sa+Ap), tratados com veículo (Sa) e não infectados (NI). A atividade da MPO, um marcador chave da resposta inflamatória, é medida para avaliar a extensão da inflamação induzida pela infecção por *S. aureus* e o efeito modulador da apocinina. (G) Este gráfico representa diferenças no escore histopatológico entre os grupos tratados com com apocinina (Apo), tratados com veículo (Vei) e não infectados. O Escore histopatológico pontua de 1 a 14 levando em consideração parâmetros como: acantose, disqueratose, papilomatose, excitose, hiperqueratose, infiltrado inflamatório e necrose. Dados representam a média \pm DP, n= 4 ou 5 por grupo. * $p < 0.05$, conforme ANOVA seguido por teste post hoc de Tukey em (A) e (B). Em (C) * $p < 0.05$, conforme Mann-Whitney test. # aponta diferença estatística entre Apo 8dpi e Vei 8dpi.

5.5 Espécies reativas de oxigênio provenientes de NADPH oxidase aumentam a virulência da *S. Aureus* e contribuem para uma infecção mais grave e maior lesão tecidual

Nosso próximo passo foi avaliar se a ausência de NADPH oxidase poderia interferir na fagocitose e *killing* de *S. aureus* em BMDMs. Para isso, foram diferenciados macrófagos provenientes de animais deficientes para Gp91phox, um componente da NADPH oxidase 2, ou provenientes de animais WT e realizada a fagocitose por 30 minutos e *killing* por 30 e 60 minutos. Nossos dados mostram que houve recuperação em ambos os grupos após 30 minutos de fagocitose (Fig. 16A), no entanto não houve diferença na recuperação bacteriana entre macrófagos provenientes de animais *Gp91phox*^{-/-} quando comparado aos macrófagos derivados de animais WT (Fig. 16A). Ao avaliar o *killing* 30 e 60 minutos após a fagocitose em BMDMs de animais WT foi observado que 30 minutos de *killing* após a fagocitose havia uma recuperação bacteriana menor que a recuperada na fagocitose, o que mostra que houve *killing* bacteriano. No entanto, com 60 minutos de *killing* após a fagocitose, a quantidade de *S. aureus* recuperada é maior que a recuperada no *killing* de 30 minutos (Fig. 16A), o que mostra que o *S. aureus* foi capaz de proliferar dentro do macrófago, o que corrobora que o ambiente do fagossomo pode induzir fatores de virulência no *S. aureus*. De forma interessante, houve menor recuperação bacteriana em BMDM provenientes de animais *Gp91phox*^{-/-} tanto aos 30 quanto aos 60 minutos de *killing* quando comparados aos macrófagos derivados de animais WT, o que mostra que houve maior *killing* bacteriano na ausência de NOX2 (Fig. 16B)

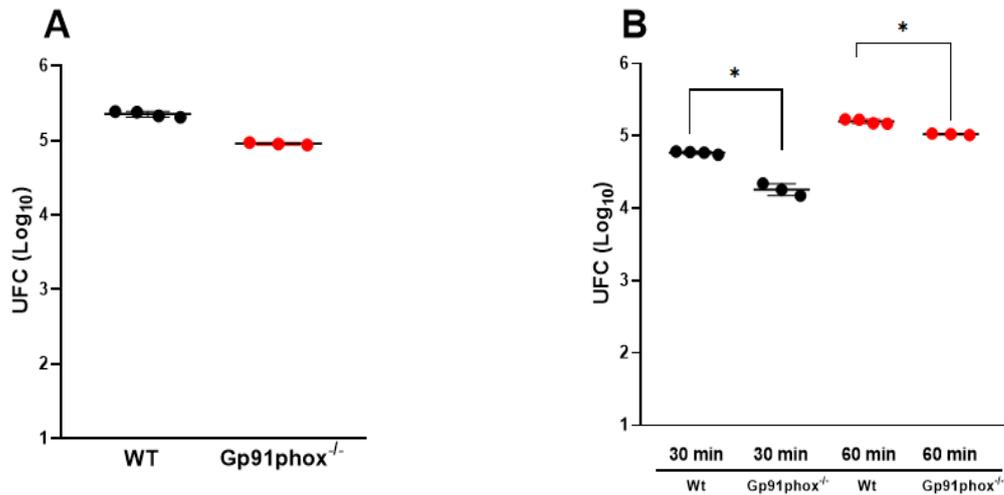


Figura 16 - Análise da eficiência de fagocitose e eliminação bacteriana por macrófagos GP91phox^{-/-} e selvagens (WT): (A) O eixo X representa os grupos de tratamento, enquanto o eixo Y quantifica o percentual de fagocitose e o nível de eliminação bacteriana (log₁₀ UFC). Macrófagos Gp91phox^{-/-} não demonstram diferenças significativas na fagocitose. (B) Macrófagos Gp91phox^{-/-} demonstram maior *killing* bacteriano em comparação com os macrófagos WT aos 30 e 60 minutos pós-infecção. Dados representam a média ± DP, n= 3 ou 4 por grupo. *p < 0.05, conforme ANOVA seguido por teste post hoc de Tukey.

Nosso próximo passo foi avaliar se o fagossomo, que é um ambiente rico em espécies reativas de oxigênio, em especial, proveniente de NADPH oxidase, em macrófagos derivados de medula óssea (BMDMs) poderia alterar a expressão de alfa-toxina em *S. aureus*. Nossos resultados demonstraram que as bactérias que não foram fagocitadas apresentam níveis baixos de expressão de alfa-toxina, no entanto essa expressão aumenta de forma significativa em bactérias recuperadas do fagossomo de BMDMs após 30 minutos de fagocitose (Fig. 17A).

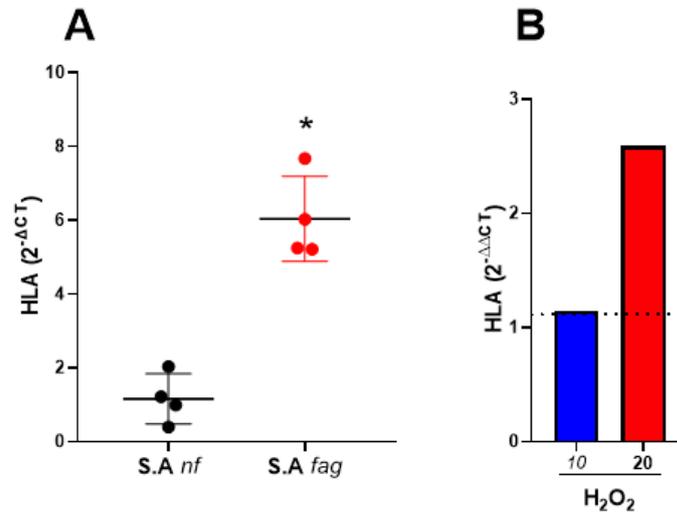


Figura 17 - Comparação da expressão de alfa-toxina em *Staphylococcus aureus* incubados em diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, *Staphylococcus aureus* fagocitados e não-Fagocitados por macrófagos derivados de medula óssea (BMDMs): Na figura (A) o eixo X do gráfico representa os dois grupos experimentais distintos: *S. aureus* fagocitados (S.A fag) e *S. aureus* não fagocitados (S.A nf), refletindo as condições do microrganismo. O eixo Y quantifica a expressão de alfa-toxina, medida através de reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). O *S. aureus* (S.A fag) demonstrou aumento significativo na expressão de alfa-toxina em comparação com *S. aureus* (S.A nf). Dados representam a média \pm DP, n=4 por grupo. *p < 0.05, conforme Mann-Whitney test. (B) O eixo X representa as concentrações de peróxido de hidrogênio testadas, enquanto o eixo Y quantifica a expressão de alfa-toxina, medida através de reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). As bactérias incubadas em uma concentração de 20 μ M por 30 min demonstraram expressar maior quantidade do gene *hla*. Dados representam a média \pm DP, n=4 por grupo. *p < 0.05, conforme Mann-Whitney test.

Após isso realizamos um experimento com *S. aureus* crescidos *overnight* em caldo BHI, testando essas bactérias em duas concentrações de peróxido de hidrogênio (10 μ M e 20 μ M). Para isso, incubamos 1×10^7 UFC em placa de 96 poços, distribuindo um volume final de 100 μ L por poço, e adicionando concentrações de 10 μ M e 20 μ M aos poços. Após 30 min, as bactérias foram congeladas com nitrogênio líquido e consequentemente estocadas em -80°C , para posterior análise por qPCR. Nossos resultados demonstraram, que as bactérias que foram incubadas com maior concentração de peróxido (20 μ M), apresentam maior expressão do gene *hla* (Fig.17B), o que demonstra que concentrações mais elevadas de peróxido de hidrogênio podem elevar a expressão de fatores de virulência em *S. aureus*.

5 DISCUSSÃO

As infecções de pele e tecidos moles (SSTIs) representam uma questão de saúde pública significativa, com o *Staphylococcus aureus* emergindo como um dos patógenos prevalentes nessas infecções (Singh et al., 2016). Curiosamente, apesar da ferida ser um ambiente rico em ROS, como nas feridas em pacientes diabéticos e obesos, o *S. aureus* possui uma alta incidência nessas lesões cutâneas (Gehrke et al., 2023; Dunyach-Remy et al., 2016). De forma interessante, nosso modelo experimental demonstrou que a infecção subcutânea por *S. aureus* é capaz de induzir lesão cutânea e essa lesão é inóculo dependente, sendo mais extensa e com maior tempo para cicatrização nos inóculos maiores.

Nossos resultados também demonstraram que para inóculos maiores, especificamente 10^7 e 10^8 , *S. aureus* conseguiu proliferar na ferida. No entanto, para o inóculo de 10^6 essa proliferação não foi observada. Este resultado indica que a capacidade do sistema imunológico de eliminar *S. aureus* e promover a cicatrização da ferida diminui à medida que o inóculo bacteriano aumenta. Matsumoto e colaboradores (2021), desenvolveram um modelo experimental similar. Os resultados desse estudo revelaram que a gravidade da ulceração estava diretamente relacionada à carga bacteriana do inóculo, e o pico da resposta inflamatória foi registrado no segundo dia após a infecção. Essas observações estão em consonância com os achados de nossa pesquisa, reforçando a consistência entre os estudos.

Já está bem estabelecido que os neutrófilos exercem um papel essencial no *clearance* bacteriano (Matsumoto e colaboradores, 2021). Em nossas condições experimentais, a infecção por *S. aureus* provocou um aumento no influxo de neutrófilos, avaliado pela atividade da mieloperoxidase (MPO), para a ferida nos tempos iniciais (2 dpi), com redução nos tempos mais tardios (8dp), exceto 10^8 , o que foi associado com a maior lesão observada no segundo dpi, com redução da carga bacteriana e lesão no oitavo dpi. Isso demonstra que o *clearance* bacteriano é precedido por um influxo de neutrófilos, sugerindo que o recrutamento dessas células para o sítio infeccioso é essencial para morte bacteriana. Além disso, nossos dados estão em acordo com trabalho publicado por Mölne e colaboradores (2000) demonstrando que os neutrófilos são essenciais para o *clearance* de *S. aureus*, visto que animais submetidos à depleção de neutrófilos apresentam um aumento na

gravidade das lesões cutâneas. Além disso, Matsumoto e colaboradores evidenciaram que a eliminação de *S. aureus* é influenciada pela presença de um infiltrado inflamatório. Nesse estudo, os autores demonstram que os neutrófilos são essenciais para eliminação de *S. aureus* nas infecções intradérmicas, uma vez que quando ocorre depleção de neutrófilos aumenta a carga bacteriana na ferida e o tamanho da lesão.

Após o estabelecimento do modelo, verificamos o impacto das ROS nas úlceras cutâneas. Nossos resultados mostraram que a inibição de NOX pelo tratamento com apocinina ou a ausência de Gp91phox, um componente da NOX2, resultou em redução no tamanho das lesões cutâneas e na carga bacteriana já no segundo dia após a infecção. Além disso, o tratamento com apocinina reduziu de forma importante os tamanhos das lesões cutâneas, evidenciada por uma redução no infiltrado inflamatório e necrose tecidual pontuados no *score* histológico, mostrando que nas infecções cutâneas por *S. aureus* o aumento nas ROS provenientes de NOX2 prejudica o *clearance* bacteriano, a resolução e cicatrização das feridas. Um trabalho realizado por Barbieri e colaboradores (2004) demonstra que a inibição de NOX2 por apocinina tem como consequência a inibição da expressão de ciclooxigenase-2 (COX-2) o que pode justificar um ambiente inflamatório mais moderado em animais tratados com apocinina.

Nossa próxima etapa foi avaliar se a inibição de ROS proveniente de NADPH oxidase poderia interferir na fagocitose e *killing* de *S. aureus*. Estudos anteriores, como o de Spooner e Yilmaz (2011), destacaram a função crítica das espécies reativas de oxigênio (ROS) como mecanismo de eliminação bacteriana dentro do fagossomo. No entanto, outros estudos, como de Hodgson e colaboradores (2015), descreveram que mesmo com amplificação das ROS em fagócitos de pacientes diabéticos, as lesões desses pacientes têm caráter crônico e há um comprometimento na depuração bacteriana. Isso mostra que a exacerbação na produção de ROS além de agir promovendo lesão tecidual direta e através da ativação de vias inflamatórias no hospedeiro, agem também induzindo mecanismos de virulência em *S. aureus* que podem exacerbar a resposta inflamatória e lesão tecidual no hospedeiro. Corroborando os dados desses estudos, nossos resultados indicam que macrófagos de camundongos WT tem uma menor eficácia no *killing* bacteriano que os macrófagos *Gp91phox*^{-/-}. Considerando que a NOX2 é uma das principais vias de produção de

ROS no fagossomo, nossa hipótese é que a alta concentração de ROS no fagossomo induz aumento da expressão do gene *hla* em *S. aureus* facilitando o escape de *S. aureus* do fagossomo.

A partir dos nossos resultados *in vitro* de fagocitose e *killing*, avaliamos se a expressão de alfa toxina, um importante fator de virulência expresso por *S. aureus*, era induzido por ROS presente no fagossomo. Nossos dados revelam que *S. aureus*, uma vez fagocitado, exibe uma expressão do gene *hla* significativamente maior em comparação àqueles não fagocitados, o que evidencia que o ambiente rico em ROS no fagossomo induz a expressão de fatores virulência. Além disso, maiores concentrações de peróxido de hidrogênio estimularam a uma maior expressão de alpha-toxina em *S. aureus* em nossas condições experimentais. Esses resultados alinham-se aos dados publicados por Jarry e colaboradores que demonstraram que a expressão de genes de virulência, como *hla* por *S. aureus* facilitam a fuga do patógeno do fagossomo através da formação de poros na membrana do fagossomo. Adicionalmente, Matsumoto e colaboradores (2021) identificaram que os neutrófilos induzem aumento da expressão de alfa-toxina em *S. aureus*, uma vez que quando a infecção ocorre na epiderme essas bactérias só conseguem alcançar a derme na presença de neutrófilos e isso foi associado a maior expressão de alfa toxina em *S. aureus* na presença de neutrófilos.

Além disso, pesquisa conduzida por Cohen e colaboradores (2018) indicou que a alfa-toxina ativa o inflamassoma NLRP3, sugerindo uma ligação direta entre o aumento da expressão desta toxina e a exacerbação das lesões teciduais. Kennedy e colaboradores (2010) enfatizaram a importância fundamental da alpha-toxina (Hla) em infecções cutâneas, visto que as linhagens de *S. aureus* deficientes no gene *hla* são incapazes de provocar úlceras dermonecróticas em murinos. Em outro estudo, Le e colaboradores (2016) observaram que a neutralização da Hla por anticorpos conduziu a uma redução no tamanho das lesões em tecidos cutâneos de coelhos da Nova Zelândia. Adicionalmente, uma pesquisa conduzida por López de Armentia e colaboradores revelou que a alfa-toxina estimula a formação de autofagossomos via ADAM10, que servem de refúgio para as bactérias no citoplasma, além de facilitar o prolongamento das membranas fagossômicas, o que compromete a eficácia da eliminação bacteriana nesses compartimentos. Esses achados sugerem uma correlação entre a expressão elevada de alpha-toxina e o aumento na prevalência

bacteriana, resultando em feridas maiores com infiltrado inflamatório intensificado. Dessa forma, nossos dados sugerem que o estresse oxidativo exacerbado presente nos fagócitos em feridas pode induzir a expressão de alfa-toxina de *S. aureus*. A alfa-toxina confere a *S. aureus* a capacidade de provocar poros no fagossomo e na membrana plasmática dos fagócitos permitindo o escape e proliferação bacteriana na ferida e exacerbação da inflamação, ativando o inflamassoma NLRP3 (Gordon *et al.*, 2021) e levando a ativação de vias pro-inflamatórias. Nossos dados mostram que um equilíbrio na produção de ROS pode ser fundamental para otimizar a eficácia da eliminação bacteriana, evitando simultaneamente mecanismos de escape bacteriano mediados pela expressão de genes de virulência como o *hla*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABDELRAHMAN, M., MAZZON, E., BAUER, M., BAUER, I., DELBOSC, S., CRISTOL, J. P., PATEL, N. S., CUZZOCREA, S., & THIEMERMANN, C. (2005). NADPH oxidase inhibitors reduce organ injury in hemorrhagic shock. *Shock*, 23, 107–114.

ABTIN, A. et al. Perivascular macrophages mediate neutrophil recruitment during bacterial skin infection. **Nat Immunol**, v. 15, p. 45–53, 2014.

ABTIN, A. et al. Perivascular macrophages mediate neutrophil recruitment during bacterial skin infection. **Nature Immunology**, v. 15, n. 1, p. 45–53, 2014.

AHMAD-MANSOUR, N., LOUBET, P., POUGET, C., DUNYACH-REMY, C., SOTTO, A., LAVIGNE, J. P., & MOLLE, V. (2021). *Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. **Toxins**, 13(10). <https://doi.org/10.3390/TOXINS13100677>

AHMAD-MANSOUR, N.; LOUBET, P.; POUGET, C.; DUNYACH-REMY, C.; SOTTO, A.; LAVIGNE, J.P.; MOLLE, V. *Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. **Toxins (Basel)**. 2021 Sep 23;13(10):677. doi: 10.3390/toxins13100677. PMID: 34678970; PMCID: PMC8540901.

ALI ALGHAMDI, B., AL-JOHANI, I., AL-SHAMRANI, J. M., MUSAMED ALSHAMRANI, H., AL-OTAIBI, B. G., ALMAZMOMI, K., & YUSNORAINI YUSOF, N. (2023). Antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 30(4), 103604. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2023.103604>

ALMUHAYAWI, M. S., ALRUHAILI, M. H., GATTAN, H. S., ALHARBI, M. T., NAGSHABANDI, M., JAOUNI, S. AL, SELIM, S., ALANAZI, A., ALRUWAILI, Y., FARIED, O. A., & ELNOSARY, M. E. (2023). *Staphylococcus aureus* Induced Wound Infections Which Antimicrobial Resistance, Methicillin-and Vancomycin-Resistant: Assessment of Emergence and Cross Sectional Study. **Infection and Drug Resistance**, 16, 5335–5346. <https://doi.org/10.2147/IDR.S418681>

ALONZO, F.; TORRES, V. J. The Bicomponent Pore-Forming Leucocidins of *Staphylococcus aureus*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 78, n. 2, p. 199–230, jun. 2014.

ALTMAN, D.R.; SULLIVAN, M.J.; CHACKO, K.I.; BALASUBRAMANIAN, D.; PAK, T.R.; SAUSE, W.E.; KUMAR, K.; SEBRA, R.; DEIKUS, G.; ATTIE, O.; ROSE, H.; LEWIS, M.; FULMER, Y.; BASHIR, A.; KASARSKIS, A.; SCHADT, E.E.; RICHARDSON, A.R.; TORRES, V.J.; SHOPISIN, B.; VAN BAKEL, H. Genome Plasticity of agr-Defective *Staphylococcus aureus* during Clinical Infection. **Infect Immun**. 2018 Sep 21;86(10):e00331-18. doi: 10.1128/IAI.00331-18. PMID: 30061376; PMCID: PMC6204747.

ÁLVAREZ, A.; FERNÁNDEZ, L.; GUTIÉRREZ, D.; IGLESIAS, B.; RODRÍGUEZ, A.; GARCÍA, P. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Hospitals: Latest Trends and Treatments Based on Bacteriophages. **J Clin Microbiol.** 2019 Nov 22;57(12):e01006-19. DOI: 10.1128/JCM.01006-19.

AMAGAI, M. et al. Staphylococcal exfoliative toxin B specifically cleaves desmoglein 1. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 118, n. 5, p. 845–850, 2002.

ANDRADE, N.C.; LARANJO, M.; COSTA, M.M.; QUEIROGA, M.C. Virulence Factors in *Staphylococcus* Associated with Small Ruminant Mastitis: Biofilm Production and Antimicrobial Resistance Genes. **Antibiotics (Basel)**. 2021 May 25;10(6):633. DOI: 10.3390/antibiotics10060633.

ANDRÉS, C. M. C. et al. The Role of Reactive Species on Innate Immunity. **Vaccines**, v. 10, n. 10, p. 1735, 17 out. 2022.

ARCHER, N.K.; MAZAITIS, M.J.; COSTERTON, J.W.; LEID, J.G.; POWERS, M.E.; SHIRTLIFF, M.E. *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. **Virulence**. 2011; 2, 445–459. 10.4161/viru.2.5.17724.

ARYA R, KIM T, YOUN JW, BAE T, KIM KK. Identification of an antivirulence agent targeting the master regulator of virulence genes in *Staphylococcus aureus*. **Front Cell Infect Microbiol.** 2023 Oct 31;13:1268044. doi: 10.3389/fcimb.2023.1268044. PMID: 38029271; PMCID: PMC10644738.

AUGUSTO, M.F.; DA SILVA FERNANDES, D.C.; DE OLIVEIRA, T.L.R.; CAVALCANTE, F.S.; CHAMON, R.C.; FERREIRA, A.L.P.; NOUÉR, S.A.; Infection Control Group HUCFF/UFRJ; DOS SANTOS, K.R.N. Pandemic clone USA300 in a Brazilian hospital: detection of an emergent lineage among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from bloodstream infections. **Antimicrob Resist Infect Control.**, v. 11, n. 1, art. 114, 14 set. 2022. doi: 10.1186/s13756-022-01154-3. PMID: 36104710; PMCID: PMC9472717.

AULIK, N. A.; HELLENBRAND, K. M.; CZUPRYNSKI, C. J. *Mannheimia haemolytica* and its leukotoxin cause macrophage extracellular trap formation by bovine macrophages. **Infection and immunity**, v. 80, n. 5, p. 1923–1933, maio 2012.

BADDOUR, M. M.; ABUELKHEIR, M. M.; FATANI, A. J. Trends in antibiotic susceptibility patterns and epidemiology of MRSA isolates from several hospitals in Riyadh, Saudi Arabia. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, p. 1–11, 2006.

BALABAN, R. S.; NEMOTO, S.; FINKEL, T. Mitochondria, oxidants, and aging. **Cell**, v. 120, n. 4, p. 483–495, 25 fev. 2005.

BARBIERI, S., CAVALCA, V., ELIGINI, S., BRAMBILLA, M., CAIANI, A., TREMOLI, E., & COLLI, S. (2004). Apocynin prevents cyclooxygenase 2 expression in human monocytes through NADPH oxidase and glutathione redox-dependent mechanisms. **Free Radical Biology & Medicine**, 37, 156–165.

BEAR, A.; LOCKE, T.; ROWLAND-JONES, S.; PECETTA, S.; BAGNOLI, F.; DARTON, T. C. Os papéis de evasão imune da proteína A de *Staphylococcus aureus* e impacto no desenvolvimento de vacinas. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 13, p. 1242702, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1242702>.

BEENKEN, K.E.; BLEVINS, J.S.; SMELTZER, M.S. Mutation of sarA in *Staphylococcus aureus* limits biofilm formation. **Infect. Immun.** 2003; 71, 4206–4211. 10.1128/IAI.71.7.4206-4211.2003.

BERENDS, E.T.; HORSWILL, A.R.; HASTE, N.M.; MONESTIER, M.; NIZET, V.; VON KOCKRITZ-BLICKWEDE, M. Nuclease expression by *Staphylococcus aureus* facilitates escape from neutrophil extracellular traps. **J Innate Immun.** 2010;2:576–586. DOI: 10.1159/000321238.

BERRY, K.A.; VERHOEF, M.T.A.; LEONARD, A.C.; COX, G. *Staphylococcus aureus* adhesion to the host. **Ann N Y Acad Sci.** 2022 Sep;1515(1):75-96. doi: 10.1111/nyas.14807. Epub 2022 Jun 15. PMID: 35705378.

BHAKDI, S.; TRANUM-JENSEN, J. Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. **Microbiological Reviews**, v. 55, n. 4, p. 733–751, dez. 1991.

BHATTACHARYA, M.; BERENDS, E.T.M.; ZHENG, X.; HILL, P.J.; CHAN, R.; TORRES, V.J.; WOZNIAK, D.J. Leukocidins and the Nuclease Nuc Prevent Neutrophil-Mediated Killing of *Staphylococcus aureus* Biofilms. **Infect Immun.** 2020 Sep 18;88(10):e00372-20. DOI: 10.1128/IAI.00372-20.

BITSCHAR, K., WOLZ, C., KRISMER, B., PESCHEL, A., & SCHITTEK, B. (2017). Keratinocytes as sensors and central players in the immune defense against *Staphylococcus aureus* in the skin. **J Dermatol Sci**, 87(3), 215-220. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2017.06.003>

BLAKYTNY, R.; JUDE, E. B. Altered Molecular Mechanisms of Diabetic Foot Ulcers. **The International Journal of Lower Extremity Wounds**, v. 8, n. 2, p. 95–104, 14 maio 2009.

BOISSET, S.; GEISSMANN, T.; HUNTZINGER, E.; FECHTER, P.; BENDRID, N.; POSSEDKO, M.; CHEVALIER, C.; HELFER, A.C.; BENITO, Y.; JACQUIER, A.; GASPIN, C.; VANDENESCH, F.; ROMBY, P. *Staphylococcus aureus* RNAIII coordinately represses the synthesis of virulence factors and the transcription regulator Rot by an antisense mechanism. **Genes Dev.** 2007 Jun 1;21(11):1353-66.

BOLDOCK, E.; SUREWAARD, B.G.J.; SHAMARINA, D. et al. Human skin commensals augment *Staphylococcus aureus* pathogenesis. **Nat Microbiol** 3, 881–890 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0198-3>.

BOLES, B.R.; THOENDEL, M.; ROTH, A.J.; HORSWILL, A.R. Identification of genes involved in polysaccharide-independent *Staphylococcus aureus* biofilm formation. **PLoS ONE** 2010; 5:e10146. DOI: 10.1371/journal.pone.0010146.

BONIAKOWSKI, A. E. et al. Macrophage-Mediated Inflammation in Normal and Diabetic Wound Healing. *J Immunol*, v. 199, n. 1, p. 17–24, jul. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700223>.

BOSE, J.L.; LEHMAN, M.K.; FEY, P.D.; BAYLES, K.W. Contribuição das atividades de hidrolase de mureína Atl AM e GL de *Staphylococcus aureus* na divisão celular, autólise e formação de biofilme. *PLoS One*. 2012; 7:e42244.

BRANDWEIN, J.N.; SCULTHORPE, T.S.; RIDDER, M.J.; BOSE, J.L.; RICE, K.C. Factors impacting the regulation of nos gene expression in *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Spectr*. 2023 Sep 25;11(5):e0168823. DOI: 10.1128/spectrum.01688-23.
BRINKMANN, V. et al. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*, v. 303, n. 5663, p. 1532–1535, 5 mar. 2004.

BRINKMANN, V.; REICHARD, U.; GOOSMANN, C.; FAULER, B.; UHLEMANN, Y.; WEISS, D.S.; WEINRAUCH, Y.; ZYCHLINSKY, A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004; 303:1532–1535. DOI: 10.1126/science.1092385.

BRODELL, L. A.; ROSENTHAL, K. S. Skin structure and function: The body's primary defense against infection. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, v. 16, n. 2, p. 113–117, 2008.

BRONESKY, D.; WU, Z.; MARZI, S.; WALTER, P.; GEISSMANN, T.; MOREAU, K.; VANDENESCH, F.; CALDELARI, I.; ROMBY, P. *Staphylococcus aureus* RNAIII and Its Regulon Link Quorum Sensing, Stress Responses, Metabolic Adaptation, and Regulation of Virulence Gene Expression. *Annual Review of Microbiology*. v. 70, n. 1, p. 299-316, 8 set. 2016. DOI: 10.1146/annurev-micro-102215-095708.

BUKOWSKI, M.; WLADYKA, B.; DUBIN, G. Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins (Basel)*. 2010 May;2(5):1148-65. doi: 10.3390/toxins2051148. Epub 2010 May 25. PMID: 22069631; PMCID: PMC3153237.

BURIAN, M. et al. The Protective Effect of Microbiota on *S. aureus* Skin Colonization Depends on the Integrity of the Epithelial Barrier. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 137, n. 4, p. 976–979, 1 abr. 2017.

BURN, G. L., FOTI, A., MARSMAN, G., PATEL, D. F., & Zychlinsky, A. (2021). The Neutrophil. *Immunity*, 54(7), 1377-1385. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.06.006>

BUVELOT, H. et al. *Staphylococcus aureus*, phagocyte NADPH oxidase and chronic granulomatous disease. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 41, n. 2, p. 139–157, 1 mar. 2017.

BYRD, Allyson L.; BELKAID, Yasmine; SEGRE, Julia A. The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, v. 16, p. 143–155, 2018. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.157>.

CAMPBELL, A. E. et al. Variable staphyloxanthin production by *Staphylococcus aureus* drives strain-dependent effects on diabetic wound-healing outcomes. *Cell*

Reports, v. 42, n. 10, 113281, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113281>.

CAMPBELL, K. L.; LICHTENSTEIGER, C. A. STRUCTURE AND FUNCTION OF THE SKIN. Em: **Small Animal Dermatology Secrets**. [s.l.] Elsevier, 2004. p. 1–9.

CHAIBENJAWONG, P.; FOSTER, S.J. Tolerância à dessecação em *Staphylococcus aureus*. **Arch Microbiol.** 2011; 193:125–135. DOI: 10.1007/s00203-010-0653-x.

CHAIGNON, P.; SADOVSKAYA, I.; RAGUNAH, C.; RAMASUBBU, N.; KAPLAN, J.B.; JABBOURI, S. Susceptibility of staphylococcal biofilms to enzymatic treatments depends on their chemical composition. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 2007; 75:125–132. DOI: 10.1007/s00253-006-0790-y.

CHAMBERS, H.F.; DELEO, F.R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nat Rev Microbiol.** 2009;7:629–641. DOI: 10.1038/nrmicro2200.

CHANG, S.; SIEVERT, D.M.; HAGEMAN, J.C.; et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. **N Engl J Med.** 2003; 248(14):1342–1347.

CHATTERJEE, S.S.; JOO, H.S.; DUONG, A.C.; DIERINGER, T.D.; TAN, V.Y.; SONG, Y.; FISCHER, E.R.; CHEUNG, G.Y.; LI, M.; OTTO, M. Sistema essencial de exportação de toxinas de *Staphylococcus aureus*. **Nat Med.** 2013; 19:364–367.

CHAVAKIS, T.; WIECHMANN, K.; PREISSNER, K.T.; HERRMANN, M. *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial “secretable expanded repertoire adhesive molecules” (SERAM) in disturbing host defense systems. **Thromb Haemost.** 2005; 94:278–85.

CHEN, H. et al. Exploring the Role of *Staphylococcus aureus* in Inflammatory Diseases. **Toxins**, v. 14, n. 2, p. 2–42, 2022.

CHEN, X.; HU, C.; SHU, Z.; WANG, X.; ZHAO, Y.; SONG, W.; CHEN, X.; JIN, M.; XIU, Y.; GUO, X.; KONG, X.; JIANG, Y.; GUAN, J.; GONGGA, L.; WANG, L.; WANG, B. Isovanillic acid protects mice against *Staphylococcus aureus* by targeting vWbp and Coa. **Future Microbiol.** 2023 Jul;18:735-749. DOI: 10.2217/fmb-2022-0219.

CHEN, Y., FISCHBACH, M. & BELKAID, Y. Skin microbiota–host interactions. **Nature** 553, 427–436 (2018). <https://doi.org/10.1038/nature25177>

CHEUNG, A.L.; KOOMEY, J.M.; BUTLER, C.A.; PROJAN, S.J.; FISCHETTI, V.A. Regulation of exoprotein expression in *Staphylococcus aureus* by a locus (sar) distinct from agr. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 1992 Jul 15;89(14):6462-6. DOI: 10.1073/pnas.89.14.6462.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 547-569, 2021. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/21505594.2021.1878688>.

CHEUNG, G.Y.; RIGBY, K.; WANG, R.; QUECK, S.Y.; BRAUGHTON, K.R.; WHITNEY, A.R.; TEINTZE, M.; DELEO, F.R.; OTTO, M. Staphylococcus epidermidis strategies to avoid killing by human neutrophils. **PLoS Pathog.** 2010 Oct 7;6(10):e1001133. doi: 10.1371/journal.ppat.1001133. PMID: 20949069; PMCID: PMC2951371.

CHIEN, Y.; MANNA, A.C.; CHEUNG, A.L. SarA level is a determinant of agr activation in Staphylococcus aureus. **Mol Microbiol.** 1998 Dec;30(5):991-1001. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1998.01126.x.

CHO, H. et al. Calprotectin Increases the Activity of the SaeRS Two Component System and Murine Mortality during Staphylococcus aureus Infections. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 7, p. 1–23, 2015.

CHOU, P. Y., et al. (2019). The effect of skin grafting on hyperglycemia-induced delayed diabetic wound healing. **Wound Repair Regen**, 27(5), 489-497. <https://doi.org/10.1111/wrr.12749>

CHOUDHARY, K. S. et al. The Staphylococcus aureus two-component system AgrAC displays four distinct genomic arrangements that delineate genomic virulence factor signatures. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. MAY, p. 1082, 25 maio 2018.

CHOW, O. A. et al. Statins enhance formation of phagocyte extracellular traps. **Cell host & microbe**, v. 8, n. 5, p. 445–454, 18 nov. 2010.

CHRISTNER, M.; FRANKE, G.C.; SCHOMMER, N.N.; WENDT, U.; WEGERT, K.; PEHLE, P.; KROLL, G.; SCHULZE, C.; BUCK, F.; MACK, D.; AEPFELBACHER, M.; ROHDE, H. The giant extracellular matrix-binding protein of Staphylococcus epidermidis mediates biofilm accumulation and attachment to fibronectin. **Mol Microbiol.** 2010; 75:187–207.

CILDIR, G.; AKINCILAR, S. C.; TERGAONKAR, V. Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. **Trends in Molecular Medicine**, v. 19, n. 8, p. 487-500, 2013. ISSN 1471-4914. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.05.001>.

CLARKE, S.R.; FOSTER, S.J. Surface adhesins of Staphylococcus aureus. **Adv Microb Physiol.** 2006; 51:187–224.

CLARKE, S.R.; HARRIS, L.G.; RICHARDS, R.G.; FOSTER, S.J. Analysis of Ebh, a 1.1-megadalton cell wall-associated fibronectin-binding protein of Staphylococcus aureus. **Infect Immun.** 2002; 70:6680–7.

CLAUSEN, M.L.; AGNER, T. Antimicrobial peptides, infections and the skin barrier. **Curr Probl Dermatol.**, v. 49, p. 38–46, 2016.

COATES, M.; BLANCHARD, S.; MACLEOD, A.S. Innate antimicrobial immunity in the skin: A protective barrier against bacteria, viruses, and fungi. **PLoS Pathog.**, v. 14, n. 12, e1007353, 2018. doi: 10.1371/journal.ppat.1007353.

COHEN, T.S.; BOLAND, M.L.; BOLAND, B.B.; TAKAHASHI, V.; TOVCHIGRECHKO, A.; LEE, Y.; WILDE, A.D.; MAZAITIS, M.J.; JONES-NELSON, O.; TKACZYK, C.; RAJA, R.; STOVER, C.K.; SELLMAN, B.R. *S. aureus* Evades Macrophage Killing through NLRP3-Dependent Effects on Mitochondrial Trafficking. **Cell Reports**, v. 22, n. 9, p. 2431–2441, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.02.027>.

CROSBY, H. A. et al. The *Staphylococcus aureus* ArlRS two-component system regulates virulence factor expression through MgrA. **Molecular Microbiology**, v. 113, n. 1, p. 103–122, 1 jan. 2020.

CROSBY, H.A.; KWIECINSKI, J.; HORSWILL, A.R. *Staphylococcus aureus* Aggregation and Coagulation Mechanisms, and Their Function in Host-Pathogen Interactions. **Adv Appl Microbiol.** 2016;96:1-41. DOI: 10.1016/bs.aambs.2016.07.018.

CROSBY, H.A.; SCHLIEVERT, P.M.; MERRIMAN, J.A.; KING, J.M.; SALGADO-PABÓN, W.; HORSWILL, A.R. The *Staphylococcus aureus* global regulator MgrA modulates clumping and virulence by controlling surface protein expression. **PLoS Pathog.** 2016 May 4;12(5):e1005604. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005604.

CUATRECASAS, P.; FUCHS, S.; ANFINSEN, C.B. Catalytic properties and specificity of the extracellular nuclease of *Staphylococcus aureus*. **J Biol Chem.** 1967; 242:1541–1547.

CUNNINGHAM, L.; CATLIN, B.W.; DE GARILHE, M.P. A Deoxyribonuclease of *Micrococcus pyogenes*. **Journal of the American Chemical Society.** 1956; 78:4642–4645. DOI: 10.1021/ja01597a032.

DA SILVA, R. A., ARENAS, N. E., LUIZA, V. L., BERMUDEZ, J. A. Z., & CLARKE, S. E. (2023). Regulations on the Use of Antibiotics in Livestock Production in South America: A Comparative Literature Analysis. **Antibiotics**, 12(8), 1303. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS12081303/S1>

DASARIP, N.; NORDENGRÜNM; VILHENAC; STEILEU; ABDURRAHMANG; SURMANK; DHOPLEV; LAHRBERGJ.; BACHERTC; SKERKAC; VOLKERU; BROKERBM; ZIPFELPF. *Staphylococcus aureus*'s protease SplB targets host complement components and inhibits complement-mediated opsonophagocytic bacterial clearance. **J Bacteriol.** 204:e00184-21. DOI: 10.1128/JB.00184-21

DAVID, P., Singh, S., & ANKAR, R. (2023). A Comprehensive Overview of Skin Complications in Diabetes and Their Prevention. **Cureus**, 15(5), e38961. <https://doi.org/10.7759/cureus.38961>

DE JONG, N.W.M.; VAN KESSEL, K.P.M.; VAN STRIJP, J.A.G. Evasão imune por *Staphylococcus aureus*. **Microbiol Spectr**, v. 7, n. 2, mar. 2019. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0061-2019. PMID: 30927347.

DE MACEDO, G. M. C.; NUNES, S.; BARRETO, T. Skin disorders in diabetes mellitus: An epidemiology and physiopathology review. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2016.

DE VOR, L.; ROOIJAKKERS, S.H.M.; VAN STRIJP, J.A.G. Staphylococci evade the innate immune response by disarming neutrophils and forming biofilms. **FEBS Lett.** 2020 Aug;594(16):2556-2569. DOI: 10.1002/1873-3468.13767.

DEL GIUDICE, Pascal. “Skin Infections Caused by Staphylococcus aureus.” **Acta dermato-venereologica** vol. 100,9 adv00110. 20 Apr. 2020, doi:10.2340/00015555-3466.

DENG, L. et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. **Oxidative Med Cell Longev**, v. 2021, p. 1-11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/8852759>.

DEURENBERG, R.H.; STOBERINGH, E.E. The evolution of Staphylococcus aureus. **Infect Genet Evol.** 2008;8(6):747–763.

DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of Staphylococcus aureus. **American Society for Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 16–34, 2000.

DOTTO, C.; LOMBARTE SERRAT, A.; LEDESMA, M.; VAY, C.; EHLING-SCHULZ, M.; SORDELLI, D.O.; GRUNERT, T.; BUZZOLA, F. Salicylic acid stabilizes Staphylococcus aureus biofilm by impairing the agr quorum-sensing system. **Sci Rep.** 2021 Feb 3;11(1):2953. doi: 10.1038/s41598-021-82308-y. PMID: 33536503; PMCID: PMC7858585.

DUNYACH-REMY, C., et al. (2016). Staphylococcus aureus Toxins and Diabetic Foot Ulcers: Role in Pathogenesis and Interest in Diagnosis. **Toxins (Basel)**, 8(7), 209. <https://doi.org/10.3390/toxins8070209>

DURAN-REYNALS, F. Studies on a certain spreading factor existing in bacteria and its significance for bacterial invasiveness. **J Exp Med.** 1933 Jul 31;58(2):161-81. doi: 10.1084/jem.58.2.161. PMID: 19870187; PMCID: PMC2132283.

DURUPT, F., MAYOR, L., BES, M., REVERDY, M. E., VANDENESCH, F., THOMAS, L., & ETIENNE, J. (2007). Prevalence of Staphylococcus aureus toxins and nasal carriage in furuncles and impetigo. **British Journal of Dermatology**, 157(6), 1161–1167. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2133.2007.08197.X>

DWORZAŃSKI, J. et al. Glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) activity in patients with diabetes mellitus type 2 infected with Epstein-Barr virus. **PLoS ONE**, v. 15, n. 3, p. e0230374, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230374>.

EDELSTEIN, M.; KEARNS, A.; CORDERY, R. Panton-Valentine Leukocidin associated Staphylococcus aureus infections in London, England: clinical and socio-demographic characterisation, management, burden of disease and associated costs. **J Infect Public Health**. 2011 Aug;4(3):145-53. doi: 10.1016/j.jiph.2011.04.001. Epub 2011 Jun 17. PMID: 21843861.

EIFFLER, I.; BEHNKE, J.; ZIESEMER, S.; MÜLLER, C.; HILDEBRANDT, J.P. Staphylococcus aureus α -toxin-mediated cation entry depolarizes membrane potential and activates p38 MAP kinase in airway epithelial cells. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**. 2016 Sep 1;311(3):L676-85. doi: 10.1152/ajplung.00090.2016. Epub 2016 Aug 5. PMID: 27496896.

EL-SAYED, Amr et al. "Microbiota's role in health and diseases." **Environmental science and pollution research international** vol. 28,28 (2021): 36967-36983. doi:10.1007/s11356-021-14593-z.

ESPER, R. M. R., et al. (2019). Leptin replacement improves macrophage functionality and wound healing in diabetic mice. **Am J Pathol**, 189(4), 871-881. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2018.12.010>

ESPOSITO, E., et al. (2019). Identification of an antimicrobial-responsive domain within the HIV-1 vpr gene and validation of the drug potential of a vpr-derived peptide. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 63(1), e01733-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01733-18>

ESPOSITO, S.; NOVIELLO, S.; LEONE, S. Epidemiology and microbiology of skin and soft tissue infections. **Curr Opin Infect Dis**, v. 29, n. 2, p. 109–115, 2016.

ESSERS, L.; RADEBOLD, K. Rapid and reliable identification of Staphylococcus aureus by a latex agglutination test. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 12, n. 5, p. 641–643, 1980.

FALCONE, M. et al. Diabetes and acute bacterial skin and skin structure infections. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 174, 2021.

FAVAZZO, L. J. et al. The response of nor and nos contributes to Staphylococcus aureus virulence and metabolism. **Journal of Bacteriology**, v. 201, n. 9, 1 maio 2019.

FEDTKE, I.; GÖTZ, F.; PESCHEL, A. Bacterial evasion of innate host defenses - The Staphylococcus aureus lesson. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 294, n. 2–3, p. 189–194, 2004.

FEUERSTEIN, R.; KOLTER, J.; HENNEKE, P. Dynamic interactions between dermal macrophages and Staphylococcus aureus. **J Leukoc Biol**, v. 101, p. 99–106, 2017.

FEUERSTEIN, R.; SEIDL, M.; PRINZ, M.; HENNEKE, P. MyD88 in macrophages is critical for abscess resolution in staphylococcal skin infection. **J Immunol**, v. 194, p. 2735–2745, 2015.

FITZPATRICK, F.; HUMPHREYS, H.; O'GARA, J.P. Evidence for icaADBC-independent biofilm development mechanism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **J. Clin. Microbiol.** 2005; 43(4):1973–1976. DOI: 10.1128/JCM.43.4.1973-1976.2005.

FLOWERS, L.; GRICE, E. A. The Skin Microbiota: Balancing Risk and Reward. **Cell Host Microbe**, v. 28, n. 2, p. 190–200, 12 ago. 2020.

FOSTER, T.J.; GEOGHEGAN, J.A.; GANESH, V.K.; HOOK, M. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. **Nat Rev Microbiol.** 2014; 12:49–62.

FOURNIER B, KLIER A, RAPOPORT G. 2001. The two-component system ArlS-ArlR is a regulator of virulence gene expression in *Staphylococcus aureus*. **Mol Microbiol** 41:247–261.

FOURNIER, B., KLIER, A., & RAPOPORT, G. (2001). The two-component system ArlS-ArlR is a regulator of virulence gene expression in *Staphylococcus aureus*. **Molecular Microbiology**, 41(1), 247–261. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02515.x>

FRIEDRICH, E. E., et al. (2019). Diabetic foot ulceration: Wound physiology and wound-healing trajectories. **Journal of Diabetes Research**, 2019, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2019/6928936>

FRYKBERG, R. G.; BANKS, J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 9, p. 560–582, set. 2015.

GALLO, R. L. Human Skin Is the Largest Epithelial Surface for Interaction with Microbes. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 137, n. 6, p. 1213-1214, jun. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5814118/>.

GAO, Y.; POUDEL, S.; SEIF, Y.; SHEN, Z.; PALSSON, B.O. Elucidating the CodY regulon in *Staphylococcus aureus* USA300 substrains TCH1516 and LAC. **mSystems**. 2023 Aug 31;8(4):e0027923. DOI: 10.1128/msystems.00279-23. Epub 2023 Jun 13. PMID: 37310465; PMCID: PMC10470025.

GARCÍA-NAFRÍA, J.; TATE, C.G. Structure determination of GPCRs: cryo-EM compared with X-ray crystallography. **Biochem Soc Trans.** 2021 Nov 1;49(5):2345-2355. DOI: 10.1042/BST20210431.

GEBHARDT, T.; WAKIM, L. M.; EIDSMO, L.; READING, P. C.; HEATH, W. R.; CARBONE, F. R. Memory T cells in nonlymphoid tissue that provide enhanced local immunity during infection with herpes simplex virus. **Nature Immunology**, v. 10, n. 5, p. 524-530, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ni.1718>.

GEHRKE, A. E. et al. *Staphylococcus aureus* Adaptation to the Skin in Health and Persistent/Recurrent Infections. **Antibiotics (Basel)**, v. 12, n. 10, p. 1520, out. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12101520>.

GEIGER, T.; FRANÇOIS, P.; LIEBEKE, M.; FRAUNHOLZ, M.; GOERKE, C.; KRISMER, B.; SCHRENZEL, J.; LALK, M.; WOLZ, C. A resposta rigorosa de *Staphylococcus aureus* e seu impacto na sobrevivência após fagocitose através da indução da expressão intracelular de PSMs. **PLoS Pathog.** 2012; 8:e1003016.

GENITO, C.J.; DARWITZ, B.P.; GREENWALD, M.A.; WOLFGANG, M.C.; THURLOW, L.R. Hyperglycemia potentiates increased *Staphylococcus aureus* virulence and resistance to growth inhibition by *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiol Spectr.** 2023 Dec 12;11(6):e0229923. doi: 10.1128/spectrum.02299-23. Epub 2023 Nov 7. PMID: 37.

GENSOLLEN, T.; IYER, S.S.; KASPER, D.L.; BLUMBERG, R.S. Como a colonização pela microbiota no início da vida molda o sistema imunológico. **Ciência.** 2016; 352:539–544. doi: 10.1126/science.aad9378.

GHERARDI, G. (2023). *Staphylococcus aureus* Infection: Pathogenesis and Antimicrobial Resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, 24(9), 8182. <https://doi.org/10.3390/IJMS24098182>

GILL, S.R.; FOUTS, D.E.; ARCHER, G.L.; MONGODIN, E.F.; DEBOY, R.T.; RAVEL, J.; PAULSEN, I.T.; KOLONAY, J.F.; BEANAN, M.; DODSON, R.J.; DAUGHERTY, S.C.; MADUPU, R.; ANGIUOLI, S.V.; DURKIN, A.S.; HAFT, D.H.; VAMATHEVAN, J.; KHOURI, H.; UTTERBACK, T.; LEE, C.; DIMITROV, G.; JIANG, L.; QIN, H.; WEIDMAN, J.; TRAN, K.; KANG, K.; HANCE, I.R.; NELSON, K.E.; FRASER, C.M. Insights into the evolution of virulence and resistance from whole-genome analysis of an initial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. **J Bacteriol.** 2005; 187:2426–38.

GIMBLET, C.; MEISEL, J.; LOESCHE, M.; CARVALHO, E.; SCOTT, P.; GRICE, E. Cutaneous Leishmaniasis Induces a Transmissible Dysbiotic Skin Microbiota that Promotes Skin Inflammation. **Cell Host & Microbe**, v. 22, n. 1, p. 13-24.E4, 12 jul. 2017.

GINHOUX, F. et al. Langerhans cells arise from monocytes in vivo. **Nat Immunol**, v. 7, p. 265-273, 2006.

GKOGKOLOU, P.; BÖHM, M. **Advanced glycation end products: Keyplayers in skin aging? Dermato-Endocrinology**, jul. 2012.

GKOGKOLOU, P.; BÖHM, M. Skin disorders in diabetes mellitus. **JDDG - Journal of the German Society of Dermatology**, v. 12, n. 10, p. 847–864, 1 out. 2014.

GLADSTONE, G.P.; VAN HEYNINGEN, W.E. Staphylococcal leucocidins. **Br J Exp Pathol.** 1957 Apr; 38(2):123-37. PMID: 13426414; PMCID: PMC2082194.

GODKOWICZ, M.; DRUSZCZYŃSKA, M. NOD1, NOD2, and NLRC5 Receptors in Antiviral and Antimycobacterial Immunity. **Vaccines MDPI**, 1 set. 2022.

GORDON, Y. C. C.; Bae, J. S.; Otto, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 547-569, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>.

GOSSELIN, D. et al. Environment drives selection and function of enhancers controlling tissue-specific macrophage identities. **Cell**, v. 159, n. 6, p. 1327-1340, 2014.

GRANDO, K.; NICASTRO, L.K.; TURSI, S.A.; DE ANDA, J.; LEE, E.Y.; WONG, G.C.L.; TÜKEL, Ç. Phenol-Soluble Modulins From *Staphylococcus aureus* Biofilms Form Complexes With DNA to Drive Autoimmunity. **Front Cell Infect Microbiol**. 2022 May 11;12:884065. doi: 10.3389/fcimb.2022.884065. PMID: 35646719; PMCID: PMC9131096.

GRICE, E. A.; SEGRE, J. A. The skin microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 4, p. 244-253, abr. 2011. Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrmicro2537>.

GRICE, E.A.; et al. Diversidade topográfica e temporal do microbioma da pele humana. **Ciência**. 2009; 324:1190–1192.

GUO, H.; TONG, Y.; CHENG, J.; ABBAS, Z.; LI, Z.; WANG, J.; ZHOU, Y.; SI, D.; ZHANG, R. Biofilm and Small Colony Variants-An Update on *Staphylococcus aureus* Strategies toward Drug Resistance. **Int J Mol Sci**. 2022 Jan 22;23(3):1241. doi: 10.3390/ijms23031241. PMID: 35163165; PMCID: PMC8835882.

GUO, X.; WANG, L.; ZHANG, J.; LIU, Q.; WANG, B.; LIU, D.; GAO, F.; LANZI, G.; ZHAO, Y.; SHI, Y. Thwarting resistance: MgrA inhibition with methylophiopogonanone A unveils a new battlefield against *S. aureus*. **NPJ Biofilms Microbiomes**. 2024 Feb 27;10(1):15. DOI: 10.1038/s41522-024-00485-w.

GUPTA RK, ALBA J, XIONG YQ, BAYER AS, LEE CY. 2013. MgrA activates expression of capsule genes, but not the alpha-toxin gene in experimental *Staphylococcus aureus* endocarditis. **J Infect Dis** 208:1841–1848.

GUPTA, A.; KUMAR, P. Assessment of the histological state of the healing wound. **Plastic and Aesthetic Research**, v. 2, n. 5, p. 239, 2015.

GUPTA, R.K.; LUONG, T.T.; LEE, C.Y. RNAIII of the *Staphylococcus aureus* agr system activates global regulator MgrA by stabilizing mRNA. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2015 Nov 10;112(45):14036-41. DOI: 10.1073/pnas.1509251112. Epub 2015 Oct 26. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Dec 29;112(52):E7306. PMID: 26504242; PMCID: PMC4653210.

GUPTA, S. et al. Infections in Diabetes Mellitus and Hyperglycemia. **Infectious Disease Clinics of North America**, set. 2007.

HAAG, A. F.; BAGNOLI, F. The Role of Two-Component Signal Transduction Systems in *Staphylococcus aureus* Virulence Regulation. **Current topics in microbiology and immunology**, v. 409, p. 145–198, 2017.

HARPER, E. G., et al. (2009). Th17 cytokines stimulate CCL20 expression in keratinocytes in vitro and in vivo: implications for psoriasis pathogenesis. **J. Invest. Dermatol.**, 129, 2175–2183.

HASSOUN, A.; LINDEN, P.K.; FRIEDMAN, B. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. **Crit Care.** 2017 Aug 14;21(1):211. DOI: 10.1186/s13054-017-1801-3.

HEDRICK, M. N., et al. (2009). O CCR6 é necessário para inflamação semelhante à psoríase induzida por IL-23 em camundongos. **J. Clin. Invest.**, 119, 2317–2329.
HEILMANN, C. Adhesion mechanisms of staphylococci. **Adv Exp Med Biol.** 2011; 715:105–23.

HENRY, L. P. et al. The microbiome extends host evolutionary potential. **Nature Communications**, v. 12, n. 5, p. 1–13, 2021.

HENRY, L. P.; BRUIJNING, M.; FORSBERG, S. K. G.; AYROLES, J. F. The microbiome extends host evolutionary potential. **Nature**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-25315-x>.

HERB, M.; SCHRAMM, M. Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 2, p. 1–39, 1 fev. 2021.

HERSH, A. L. et al. National trends in ambulatory visits and antibiotic prescribing for skin and soft-tissue infections. **Archives of Internal Medicine**, v. 168, n. 14, p. 1585–1591, 2008.

HILL, D. C., MOSS, R. H., SYKES-MUSKETT, B., CONNER, M., & O'CONNOR, D. B. (2018). Stress and eating behaviors in children and adolescents: Systematic review and meta-analysis. **Appetite**, 123, 14–22. <https://doi.org/10.1016/J.APPET.2017.11.109>

HINDY, J.R.; HADDAD, S.F.; KANJ, S.S. New drugs for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. **Curr Opin Infect Dis.** 2022 Apr 1;35(2):112-119. doi: 10.1097/QCO.0000000000000800. PMID: 34812745.

HOEFFEL, G.; WANG, Y.; GRETER, M.; SEE, P.; TEO, P.; MALLERET, B.; LEBOEUF, M.; LOW, D.; OLLER, G.; ALMEIDA, F.; CHOY, S. H. Y.; GRISOTTO, M.; RENIA, L.; CONWAY, S. J.; STANLEY, E. R.; CHAN, J. K. Y.; NG, L. G.; SAMOKHVALOV, I. M.; MERAD, M.; GINHOUX, F. Adult Langerhans cells derive predominantly from embryonic fetal liver monocytes with a minor contribution of yolk sac-derived macrophages. **Journal of Experimental Medicine**, v. 209, n. 6, p. 1167-1181, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1084%2Fjem.20120340>.

HOWDEN, B.P., GIULIERI, S.G., WONG FOK LUNG, T. et al. *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation. **Nat Rev Microbiol** 21, 380–395 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00852-y>

HRUZ, P., et al. (2009). NOD2 contributes to cutaneous defense against *Staphylococcus aureus* through α -toxin-dependent innate immune activation. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, 106, 12873–12878.

HSIEH, R.C.; LIU, R.; BURGİN, D.J.; OTTO, M. Understanding mechanisms of virulence in MRSA: implications for antivirulence treatment strategies. **Expert Rev Anti Infect Ther**. 2023 Jul-Dec;21(9):911-928. DOI: 10.1080/14787210.2023.2242585.

HU, W.; SHANG, R.; YANG, J.; CHEN, C.; LIU, Z.; LIANG, G.; HE, W.; LUO, G. Skin $\gamma\delta$ T Cells and Their Function in Wound Healing. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9035842/>.

HUANG, Z. et al. Aptasensors for *Staphylococcus aureus* Risk Assessment in Food. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 2585, 16 set. 2021.

HUNTZINGER, E.; BOISSET, S.; SAVEANU, C.; BENITO, Y.; GEISSMANN, T.; NAMANE, A.; LINA, G.; ETIENNE, J.; EHRESMANN, B.; EHRESMANN, C.; JACQUIER, A.; VANDENESCH, F.; ROMBY, P. *Staphylococcus aureus* RNAIII and the endoribonuclease III coordinately regulate spa gene expression. **EMBO J**. 2005 Feb 23;24(4):824-35.

HUSSAIN, K.; BANDYOPADHYAY, A.; ROBERTS, N.; MUGHAL, N.; MOORE, L.S.P.; FULLER, L.C. Panton-Valentine leucocidin-producing *Staphylococcus aureus*: a clinical review. **Clin Exp Dermatol**. 2022 Dec;47(12):2150-2158. doi: 10.1111/ced.15392. Epub 2022 Oct 11. PMID: 36040400.

IBBERSON, C.B.; JONES, C.L.; SINGH, S.; WISE, M.C.; HART, M.E.; ZURAWSKI, D.V.; HORSWILL, A.R. A hialuronidase de *Staphylococcus aureus* é um fator de virulência regulado por CodY. **Infect Immun**. 2014; 82:4253–4264. DOI: 10.1128/IAI.01812-14.

IBRAHEIM, H.K.; FAYEZ, R.A.; JASIM, A.S.; GHARBAN, H.A.J. Role of nuc gene in *Staphylococcus aureus* to phagocytic activity in different cattle infections. **Open Vet J**. 2023 Aug;13(8):1021-1026. DOI: 10.5455/OVJ.2023.v13.i8.8.

IDREES, M.; SAWANT, S.; KARODIA, N.; RAHMAN, A. *Staphylococcus aureus* Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. **Int J Environ Res Public Health**. 2021 Jul 16;18(14):7602. doi: 10.3390/ijerph18147602.

IMANISHI, I.; NICOLAS, A.; CAETANO, A.C.B.; et al. Exfoliative toxin E, a new *Staphylococcus aureus* virulence factor with host-specific activity. **Sci Rep**. 9, 16336 (2019). DOI: 10.1038/s41598-019-52777-3.

ISHIGAME, H., et al. (2009). Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucoepithelial bacterial infection and allergic responses. **Immunity**, 30, 108–119.

JAIN, R.; TIKOO, S.; EGAWA, G.; WENINGER, W. Encyclopedia of Immunobiology. *Elsevier*, v. 3, p. 493–504, 2016.

JAPPA, L. S., & KUTRE, S. R. (2018). A clinical and bacteriological study of bacterial folliculitis. **Panacea Journal of Medical Sciences**, 8(2), 54. <https://doi.org/10.18231/2348-7682.2018.0014>

JARRY, T.M.; MEMMI, G.; CHEUNG, A.L. The expression of alpha-haemolysin is required for Staphylococcus aureus phagosomal escape after internalization in CFT-1 cells. **Cell Microbiol.**, v. 10, n. 9, p. 1801-14, set. 2008. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2008.01166.x. Epub 29 abr. 2008. PMID: 18466345.

JAYASINGHE, L.; BAYLEY, H. The leukocidin pore: evidence for an octamer with four LukF subunits and four LukS subunits alternating around a central axis. **Protein Sci.** 2005; 14:2550–2561. DOI: 10.1110/ps.051648505.

JEMEC, G. B. E. (2012). Hidradenitis suppurativa. **The New England Journal of Medicine**, 366(2), 158–164.

JENUL, C.; HORSWILL, A. R. Regulation of Staphylococcus aureus virulence. **Microbiology spectrum**, v. 6, n. 1, 12 abr. 2018.

JENUL, C.; HORSWILL, A. R. Regulation of Staphylococcus aureus virulence. **Microbiology spectrum**, v. 6, n. 1, 12 abr. 2018.

JENUL, C.; HORSWILL, A.R. Regulation of Staphylococcus aureus Virulence. **Microbiol Spectr.** 2019 Apr 5;7(2):GPP3-0031-2018. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0031-2018.

JEVONS, M.P. “Celbenin”-resistant staphylococci. **Br Med J.** 1961;1:124–125.

JIANG, Q., LI, X., QU, X., LIU, Y., ZHANG, L., SU, C., GUO, X., CHEN, Y., ZHU, Y., JIA, J., BO, S., LIU, L., ZHANG, R., XU, L., WU, L., WANG, H., & WANG, J. (2014). The incidence, risk factors and characteristics of pressure ulcers in hospitalized patients in China. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, 7(5), 2587–2594.

JIANG, Y. et al. Cytokinocytes: the diverse contribution of keratinocytes to immune responses in skin. **JCI Insight**, v. 5, n. 20, e142067, 2020. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.142067>

JOHNSON, M. K. (2020). Impetigo. **Advanced Emergency Nursing Journal**, 42(4), 262–269. <https://doi.org/10.1097/TME.0000000000000320>

KABASHIMA, K. et al. A anatomia imunológica da pele. **Nat Rev Immunol**, v. 19, n. 1, p. 19–30, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0084-5>.

KABASHIMA, K.; HONDA, T.; GINHOUX, F.; EGAWA, G. The immunological anatomy of the skin. **Nature Reviews Immunology**, [s.l.], v. 19, n. 1, p.19-30, jan. 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41577-018-0084-5>.

KARIUKI, J. W., JACOBS, J., NGOIANG, M. P., & HOWLAND, O. (2023). Antibiotic use by poultry farmers in Kiambu County, Kenya: exploring practices and drivers of potential overuse. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, 12(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13756-022-01202-Y>

KATAYAMA, Y.; ITO, T.; HIRAMATSU, K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob Agents Chemother.** 2000;44(6):1549–1555.

KENNEDY, E.A.; et al. Microbioma da pele antes do desenvolvimento de dermatite atópica: a colonização precoce por estafilococos comensais aos 2 meses está associada a um menor risco de dermatite atópica ao 1 ano. **J Allergy Clin Immunol.** 2017; 139:166–172. doi: 10.1016/j.jaci.2016.07.029.

KHADKA, V.D.; KEY, F.M.; ROMO-GONZÁLEZ, C.; MARTÍNEZ-GAYOSSO, A.; CAMPOS-CABRERA, B.L.; GERÓNIMO-GALLEGOS, A.; LYNN, T.C.; DURÁN-McKINSTER, C.; CORIA-JIMÉNEZ, R.; LIEBERMAN, T.D.; GARCÍA-ROMERO, M.T. The Skin Microbiome of Patients With Atopic Dermatitis Normalizes Gradually During Treatment. **Front Cell Infect Microbiol.** 2021 Sep 24;11:720674. doi: 10.3389/fcimb.2021.720674. PMID: 34631601; PMCID: PMC8498027.

KHAN, M. F. Brief history of *Staphylococcus aureus*: a focus to antibiotic resistance. **EC Microbiology**, v. 5, n. 2, p. 36–39, 2017.

KIEDROWSKI, M.R.; CROSBY, H.A.; HERNANDEZ, F.J.; MALONE, C.L.; McNAMARA, J.O., 2nd; HORSWILL, A.R. *Staphylococcus aureus* Nuc2 is a functional, surface-attached extracellular nuclease. **PLoS ONE** 2014; 9:e95574. DOI: 10.1371/journal.pone.0095574.

KIEDROWSKI, M.R.; CROSBY, H.A.; HERNANDEZ, F.J.; MALONE, C.L.; McNAMARA, J.O. 2nd; HORSWILL, A.R. *Staphylococcus aureus* Nuc2 is a functional, surface-attached extracellular nuclease. **PLoS One.** 2014 Apr 21;9(4):e95574. DOI: 10.1371/journal.pone.0095574.

KIEDROWSKI, M.R.; KAVANAUGH, J.S.; MALONE, C.L.; MOOTZ, J.M.; VOYICH, J.M.; SMELTZER, M.S.; BAYLES, K.W.; HORSWILL, A.R. Nuclease modulates biofilm formation in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **PLoS One.** 2011;6:e26714. DOI: 10.1371/journal.pone.0026714.

KIM, J. J., & Jo, E. K. (2013). NLRP3 inflammasome and host protection against bacterial infection. **J Korean Med Sci**, 28(10), 1415-1423. <https://doi.org/10.3346/jkms.2013.28.10.1415>

KINKEL, T. L. et al. The *Staphylococcus aureus* SrrAB two-component system promotes resistance to nitrosative stress and hypoxia. **mBio**, v. 4, n. 6, 12 nov. 2013. KIRBY, W.M. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin-resistant staphylococci. **Science.** 1944;99:452–453. DOI: 10.1126/science.99.2579.452.

KLOOS, W.E.; BANNERMAN, T.L. Staphylococcus and Micrococcus. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; et al. (Eds.). **Manual of clinical microbiology**. 6. ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1995. p. 282-298.

KOBAYASHI, S. D.; DELEO, F. R. Staphylococcus aureus protein A promotes immune suppression. **mBio**, v. 4, n. 5, p. 4–6, 2013.

KOENIG, R.L.; RAY, J.L.; MALEKI, S.J.; SMELTZER, M.S.; HURLBURT, B.K. Staphylococcus aureus AgrA binding to the RNAIII-agr regulatory region. **J Bacteriol.** 2004;186:7549–7555.

KOHL, T. J.; DIPIETRO, L. A. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. **Expert Rev Mol Med**, v. 13, e23, jul. 2011.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR., W.C.W. **Diagnóstico microbiológico**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. 1465.

KURODA, M.; OHTA, T.; UCHIYAMA, I.; BABA, T.; YUZAWA, H.; KOBAYASHI, I.; CUI, L.; OGUCHI, A.; AOKI, K.; NAGAI, Y.; LIAN, J.; ITO, T.; KANAMORI, M.; MATSUMARU, H.; MARUYAMA, A.; MURAKAMI, H.; HOSOYAMA, A.; MIZUTANI-UI, Y.; TAKAHASHI, N.K.; SAWANO, T.; INOUE, R.; KAITO, C.; SEKIMIZU, K.; HIRAKAWA, H.; KUHARA, S.; GOTO, S.; YABUZAKI, J.; KANEHISA, M.; YAMASHITA, A.; OSHIMA, K.; FURUYA, K.; YOSHINO, C.; SHIBA, T.; HATTORI, M.; OGASAWARA, N.; HAYASHI, H.; HIRAMATSU, K. Whole genome sequencing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Lancet**. 2001; 357:1225–1240. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04403-2.

LA VECCHIA, A. et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus in children in a tertiary care pediatric hospital in Milan, Italy, 2017–2021. **Italian Journal of Pediatrics**, v. 48, n. 1, p. 1–8, 2022.

LABENS, R.; RAIDAL, S.; BORGES-NIELSEN, C.; PYECROFT, S.; PANT, S.D.; DE RIDDER, T. Wound healing of experimental equine skin wounds and concurrent microbiota in wound dressings following topical propylene glycol gel treatment. **Front Vet Sci**. 2023 Dec 14;10:1294021. doi: 10.3389/fvets.2023.1294021. PMID: 38155761; PMCID: PMC10752953.

LADE, H.; CHUNG, S.H.; LEE, Y.; JOO, H.S.; KIM, J.S. Genotypes of Staphylococcus aureus Clinical Isolates Are Associated with Phenol-Soluble Modulin (PSM) Production. **Toxins (Basel)**. 2022 Aug 15;14(8):556. doi: 10.3390/toxins14080556. PMID: 36006218; PMCID: PMC9412541.

LADHANI, S. Recent developments in staphylococcal scalded skin syndrome. **Clin Microbiol Infect**. 2001 Jun;7(6):301-7. doi: 10.1046/j.1198-743x.2001.00258.x. PMID: 11442563.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clin Microbiol Rev**. 2018 Sep 12;31(4):e00020-18. DOI: 10.1128/CMR.00020-18.

LE, K.Y.; DASTGHEYB, S.; HO, T.V.; OTTO, M. Molecular determinants of staphylococcal biofilm dispersal and structuring. **Front Cell Infect Microbiol.** 2014; 4:167.

LEE, H.-J.; KIM, M. Skin Barrier Function and the Microbiome. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 21, p. 13071, out. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9654002/>.

LEI, M.G.; GUDETA, D.D.; LUONG, T.T.; LEE, C.S. MgrA negatively impacts *Staphylococcus aureus* invasion of epithelial cells through capsule regulation and FnbA. **Infect Immun.** 2019;87:e00590-19. DOI: 10.1128/IAI.00590-19.

LEUBE, A. et al. Phagocytic Activity Is Impaired in Type 2 Diabetes Mellitus and Increases after Metabolic Improvement. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, p. e23366, ago. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023366>.

LI D, CHEUNG A. 2008. Repression of hla by rot Is Dependent on sae in *Staphylococcus aureus*. **Infect Immun** 76:. <https://doi.org/10.1128/iai.01069-07>

LI, H., ZHOU, X., HUANG, Y., LIAO, B., CHENG, L., & REN, B. (2021). Reactive Oxygen Species in Pathogen Clearance: The Killing Mechanisms, the Adaption Response, and the Side Effects. **Frontiers in Microbiology**, 11, 622534. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.622534>

LI, L. et al. ROS and Autophagy: Interactions and Molecular Regulatory Mechanisms. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 35, n. 5, p. 615–621, 25 jul. 2015.

LIN, J. et al. Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization among a community-based diabetes population in Foshan, China. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 8, n. 3, p. 383–391, 2017.

LIN, J. et al. Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization among a community-based diabetes population in Foshan, China. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 8, n. 3, p. 383–391, 2017.

LIN, X.; LI, Y.Z.; CHEN, T.; MIN, S.H.; WANG, D.F.; DING, M.M.; JIANG, G. Effects of wearing personal protective equipment during COVID-19 pandemic on composition and diversity of skin bacteria and fungi of medical workers. **J Eur Acad Dermatol Venereol.** 2022 Sep;36(9):1612-1622. doi: 10.1111/jdv.18216. Epub 2022 May 18. PMID: 35538594; PMCID: PMC9348071.

LIPSKY, B. A. et al. Skin and soft tissue infections in hospitalised patients with diabetes: Culture isolates and risk factors associated with mortality, length of stay and cost. **Diabetologia**, v. 53, n. 5, p. 914–923, maio 2010.

LIU Y, MANNA AC, PAN CH, KRIKSUNOV IA, THIEL DJ, CHEUNG AL, ZHANG G. Structural and function analyses of the global regulatory protein SarA from *Staphylococcus aureus*. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** 2006;103:2392–2397

LIU, Q., MAZHAR, M., & MILLER, L. S. (2018). Immune and Inflammatory Responses to Staphylococcus aureus Skin Infections. **Current Dermatology Reports**, 7(4), 338–349. <https://doi.org/10.1007/S13671-018-0235-8/FIGURES/4>

LIU, Q.; YEO, W.; BAE, T. The SaeRS Two-Component System of Staphylococcus aureus. **Genes** 2016, 7, 81. <https://doi.org/10.3390/genes7100081>.

LIU, T. et al. NF- κ B signaling in inflammation. Signal Transduction and Targeted Therapy. **Springer Nature**, v.2, 2017.

LIU, T., et al. The IL-23/IL-17 Pathway in Inflammatory Skin Diseases: From Bench to Bedside. **Front Immunol**, 11, 594735.2006 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.594735>

LOU, Q. et al. Role of the SaeRS two-component regulatory system in Staphylococcus epidermidis autolysis and biofilm formation. **BMC Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 1–15, 24 jun. 2011.

LOUREIRO, A.; PAIS, C.; SAMPAIO, P. Relevance of Macrophage Extracellular Traps in C. albicans Killing. **Frontiers in immunology**, v. 10, 4 dez. 2019.

LUONG, T.T.; DUNMAN, P.M.; MURPHY, E.; PROJAN, S.J.; LEE, C.S. Transcription profiling of the mgrA regulon in Staphylococcus aureus. **J Bacteriol.** 2006;188(5):1899-1910. DOI: 10.1128/jb.188.5.1899-1910.2006.

MAHMOOD, S.N.; BOWE, W.P. Atualização sobre dieta e acne: os carboidratos surgem como os principais culpados. **J Drogas Dermatol.** 2014; 13:428–435.

MAKRIS, G.; WRIGHT, J.D.; INGHAM, E.; HOLANDA, K.T. O hialuronato liase de Staphylococcus aureus - um fator de virulência? **Microbiology**. 2004; 150:2005–2013. DOI: 10.1099/mic.0.26980-0.

MANCHANDA, M., et al. (2023). Metabolic Reprogramming and Reliance in Human Skin Wound Healing. **J Invest Dermatol**, 143(10), 2039-2051. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2023.02.039>

MANNA, A. C.; CHEUNG, A. L. SarU, a sarA homolog, is repressed by SarT and regulates virulence genes in Staphylococcus aureus. **Infection and Immunity**, v. 71, n. 1, p. 343–353, 2003.

MARIATHASAN, S., et al. Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. **Nature**. 2006; 440:228–232. DOI: 10.1038/nature04515.

MARRIF, H. I.; AL-SUNOUSI, S. I. Pancreatic beta cell mass death. **Front Pharmacol.**, v. 7, n. APR, p. 83, 6 abr. 2016.

MARZANO, A. V. et al. Mechanisms of inflammation in neutrophil-mediated skin diseases. **Frontiers in Immunology** - Frontiers Media S.A., v.10, n.5, 2019.

MARZANO, A. V., et al. (2019). Mechanisms of Inflammation in Neutrophil-Mediated Skin Diseases. **Front Immunol**, 10, 1059. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01059>

MASHRUWALA, A. A.; BOYD, J. M. The Staphylococcus aureus SrrAB Regulatory System Modulates Hydrogen Peroxide Resistance Factors, Which Imparts Protection to Aconitase during Aerobic Growth. **PLoS ONE**, v. 12, n. 1, 1 jan. 2017.

MASHRUWALA, A. A.; VAN DE GUCHTE, A.; BOYD, J. M. Impaired respiration elicits SrrAB-dependent programmed cell lysis and biofilm formation in Staphylococcus aureus. **eLife**, v. 6, p. 1–29, 2017.

MATSUMOTO, A. et al. Interaction between Staphylococcus Agr virulence and neutrophils regulates pathogen expansion in the skin. **Cell Host & Microbe**, v. 29, n. 6, p. 930-940.e4, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.03.007>.

MAZMANIAN, S.K.; LIU, G.; TON-THAT, H.; SCHNEEWIND, O. Staphylococcus aureus sortase, uma enzima que ancora proteínas de superfície à parede celular. **Ciência**. 1999; 285:760–3.

MATSUI, T.; AMAGAI, M. Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum. *Int. Immunol.*, v. 27, p. 269–280, 2015.

McGUINNESS, W.A.; MALACHOWA, N.; DELEO, F.R. Vancomycin Resistance in Staphylococcus aureus. **Yale J Biol Med**. 2017 Jun 23;90(2):269-281.

McNAMARA, P.J.; MILLIGAN-MONROE, K.C.; KHALILI, S.; PROCTOR, R.A. Identification, cloning, and initial characterization of rot, a locus encoding a regulator of virulence factor expression in Staphylococcus aureus. **J Bacteriol**. 2000;182:3197–3203.

MELEHANI, J.H.; JAMES, D.B.; DUMONT, A.L.; TORRES, V.J.; DUNCAN, J.A. Staphylococcus aureus Leukocidin A/B (LukAB) Kills Human Monocytes via Host NLRP3 and ASC when Extracellular, but Not Intracellular. **PLoS Pathog**. 2015; 11:e1004970. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004970.

MELISH, M.E.; GLASGOW, L.A. Síndrome da pele escaldada estafilocócica: A síndrome clínica expandida. **J Pediatr**. 1971; 78:958–967. doi: 10.1016/S0022-3476(71)80425-0.

MEMPEL, M. et al. Toll-like receptor expression in human keratinocytes: nuclear factor kappaB controlled gene activation by Staphylococcus aureus is Toll-like receptor 2 but not toll-like receptor 4 or platelet activating factor receptor dependent. *J Invest Dermatol.*, v. 121, n. 6, p. 1389–1396, 2003. doi: 10.1111/j.1523-1747.2003.12630.x.

MILLER, L. G. et al. Prospective investigation of nasal mupirocin, hexachlorophene body wash, and systemic antibiotics for prevention of recurrent community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 2, p. 1084–1086, 2012.

MILLER, L. S., & CHO, J. S. (2011). Immunity against *Staphylococcus aureus* cutaneous infections. **Nature Reviews Immunology**, 11(8), 505–518. <https://doi.org/10.1038/nri3010>

MILLER, L.S. Toll-like receptors in skin. *Adv Dermatol.*, v. 24, p. 71–87, 2008. doi: 10.1016/j.yadr.2008.09.004.

MINICH, A.; LIŠKOVÁ, V.; KORMANOVÁ, L.; KRAHULEC, J.; ŠARKANOVÁ, J.; MIKULÁŠOVÁ, M.; LEVARSKI, Z.; STUHLÍK, S. Role of RNAIII in resistance to antibiotics and antimicrobial agents in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **Int J Mol Sci.** 2022 Sep 21;23(19):11094. DOI: 10.3390/ijms231911094.

MIOT, H. A. et al. Profile of dermatological consultations in Brazil (2018). **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 93, n. 6, p. 916–928, 1 nov. 2018.

MISTRY, R. D. (2013). Skin and soft tissue infections. **Pediatric Clinics of North America**, 60(5), 1063–1082. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2013.06.011>

MÖLNE, L., VERDRENGH, M., & TARKOWSKI, A. (2000). Role of neutrophil leukocytes in cutaneous infection caused by *Staphylococcus aureus*. **Infection and Immunity**, 68(11), 6162–6167. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.11.6162-6167.2000>

MORFELDT, E.; TAYLOR, D.; VON GABAIN, A.; ARVIDSON, S. Activation of alpha-toxin translation in *Staphylococcus aureus* by the trans-encoded antisense RNA, RNAIII. **EMBO J.** 1995 Sep 15;14(18):4569-77.

MORINAGA, N.; KAIHOU, Y.; NODA, M. Purification, cloning and characterization of variant LukE-LukD with strong leukocidal activity of staphylococcal bi-component leukotoxin family. **Microbiol Immunol.** 2003; 47:81–90.

MORRISON, J.; ANDERSON, K.; BEENKEN, K.; SMELTZER, M.; DUNMAN, P. The staphylococcal accessory regulator, SarA, is an RNA-binding protein that modulates the mRNA turnover properties of late-exponential and stationary phase *Staphylococcus aureus* cells. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. v. 2, 2012. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00026.

MUNOZ, L. D.; SWEENEY, M. J.; JAMESON, J. M. Skin Resident $\gamma\delta$ T Cell Function and Regulation in Wound Repair. **Int J Mol Sci**, v. 21, n. 23, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7729629/>.

MYRICK, B. A.; ELLNER, P. D. Evaluation of the latex slide agglutination test for identification of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 275–277, 1982.

NAIK, N.; BOULADOUX, B.; WILHELM, W.; MOLLOY, M.; SALCEDO, S.; KASTENMULLER, K.; DEMING, D.; QUINONES, Q.; KOO, K.; CONLAN, C.; SPENCER, S.; HALL, H.; DZUTSEV, D.; KONG, K.; CAMPBELL, C.; TRINCHIERI, T.; SEGRE, S.; BELKAID, B. Compartmentalized Control of Skin Immunity by Resident Commensals. **Science**, v. 337, n. 6098, p. 1115-1119, 31 ago. 2012. doi: 10.1126/science.1225152. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1225152>.

NAIK, S. One Size Does Not Fit All: Diversifying Immune Function in the Skin. **The Journal of Immunology**, v. 208, n. 2, p. 227–234, 15 jan. 2022.

NAKAMURA, K.; WILLIAMS, M.R.; KWIECINSKI, J.M.; HORSWILL, A.R.; GALLO, R.L. Staphylococcus aureus Enters Hair Follicles Using Triacylglycerol Lipases Preserved through the Genus Staphylococcus. **J Invest Dermatol.** 2021 Aug;141(8):2094-2097. doi: 10.1016/j.jid.2021.02.009. Epub 2021 Mar 9. PMID: 33705795; PMCID: PMC8316282.

NAKAMURA, Y.; OSCHERWITZ, J.; CEASE, K.B.; et al. A toxina delta do Staphylococcus induz doenças alérgicas da pele ao ativar mastócitos. **Nature.** 2013; 503(7476):397–401.

NATHAN, C.; DING, A. Nonresolving Inflammation. **CellElsevier B.V**, v.140, n.6, 2010.

NEWSHOLME, P. et al. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. **Biochemical Journal - Portland Press Ltd**, v.473, n.24, 2016.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The Dynamics of the Skin's Immune System. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 20, n. 8, p. 1811, 18 abr. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6515324/>.

NGUYEN, M.T.; LUQMAN, A.; BITSCHAR, K.; HERTLEIN, T.; DICK, J.; OHLSEN, K.; BRÖKER, B.; SCHITTEK, B.; GÖTZ, F. Staphylococcal (phospho)lipases promote biofilm formation and host cell invasion. **Int J Med Microbiol.** 2018 Aug;308(6):653-663. doi: 10.1016/j.ijmm.2017.11.013. Epub 2017 Nov 29. PMID: 29203111.

NOBLE, W.C. The dispersal of staphylococci in hospital wards. **J Clin Pathol.** 1962;15:552–558.

NOGUEIRA-MACHADO, J. A.; MARTINS CHAVES, M. From hyperglycemia to AGE-RAGE interaction on the cell surface: a dangerous metabolic route for diabetic patients. **Expert. Opin. Ther. Targets**, v. 12, n. 7, p. 871–882, jul. 2008.

NORDENGRÜN, M.; ABDURRAHMAN, G.; TREFFON, J.; WÄCHTER, H.; KAHL, B.C.; BRÖKER, B.M. Allergic Reactions to Serine Protease-Like Proteins of Staphylococcus aureus. **Front Immunol.** 2021 Mar 23;12:651060. doi: 10.3389/fimmu.2021.651060. PMID: 33833764; PMCID: PMC8021911.

O'GARA, J.P. ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus. **FEMS Microbiol. Lett.** 2007; 270(2):179–188. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2007.00688.x.

OHBAYASHI, T.; IRIE, A.; MURAKAMI, Y.; NOWAK, M.; POTEMPA, J.; NISHIMURA, Y.; SHINOHARA, M.; IMAMURA, T. Degradation of fibrinogen and collagen by staphopains, cysteine proteases released from Staphylococcus aureus. **Microbiology (Reading)**. 2011 Mar;157(Pt 3):786-792. doi: 10.1099/mic.0.044503-0. Epub 2010 Nov 16. PMID: 21081759.

OKUMURA, C. Y. M.; NIZET, V. Subterfuge and Sabotage: Evasion of Host Innate Defenses by Invasive Gram-Positive Bacterial Pathogens. **Annual review of microbiology**, v. 68, p. 439, 8 set. 2014.

OLANIYI, R. et al. Staphylococcus aureus-Associated Skin and Soft Tissue Infections: Anatomical Localization, Epidemiology, Therapy and Potential Prophylaxis BT - Staphylococcus aureus: Microbiology, Pathology, Immunology, Therapy and Prophylaxis. Em: BAGNOLI, F.; RAPPUOLI, R.; GRANDI, G. (Eds.). **Current Topics in Microbiology and Immunology**. Cham: Springer International Publishing, 2016. v. 409p. 199–227.

OLIVEIRA, A.A.; MELO, C.B.; AZEVEDO, H.C. Diagnóstico e determinação microbiológica da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 10, n. 1, p. 226-230, jan./mar. 2009.

OLIVEIRA, D.; BORGES, A.; SIMÕES, M. Staphylococcus aureus Toxinas e sua atividade molecular em doenças infecciosas. **Toxinas**. 2018; 10:252. doi: 10.3390/toxinas10060252.

OLIVEIRA, G.C., et al. Staphylococcus aureus em pacientes portadores de dermatite atópica: colonização e perfil de resistência antimicrobiana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALERGIA E IMUNOLOGIA, 46., 2019, Recife, **Anais** [...] Recife: 2019. p.101.

OLIVIER, A. C. et al. Role of rsbU and staphyloxanthin in phagocytosis and intracellular growth of Staphylococcus aureus in human macrophages and endothelial cells. **J Infect Dis**, v. 200, n. 9, p. 1367-1370, nov. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/606012>.

OTTO, M. Community-associated MRSA: what makes them special? **Int J Med Microbiol**. 2013 Aug;303(6-7):324-30. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.007.

OTTO, M. et al. Inhibition of virulence factor expression in Staphylococcus aureus by the Staphylococcus epidermidis agr pheromone and derivatives. **FEBS Letters**, v. 450, n. 3, p. 257–262, 7 maio 1999.

OTTO, M. Phenol-soluble modulins. **Int J Med Microbiol**. 2014 Mar;304(2):164-9. doi: 10.1016/j.ijmm.2013.11.019. Epub 2013 Dec 1. PMID: 24447915; PMCID: PMC4014003.

OTTO, M., STEELE-MORTIMER, O., & SUBTIL, A. (2014). Staphylococcus aureus toxins This review comes from a themed issue on Host-microbe interactions: bacteria Edited by. **Current Opinion in Microbiology**, 17, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.11.004>

OTTO, M. Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Annu Rev Microbiol.**, v. 64, p. 143-162, 2010. doi: 10.1146/annurev.micro.112408.134309. PMID: 20825344.

P, OTUN, O.; CONG, X.; HOH, F.; BRUNEL, L.; VERDIÉ, P.; GRISSON, C.M.; PEYSSON, F.; JEANNOT, S.; DURROUX, T.; BECHARA, C.; GRANIER, S.; LEYRAT, C. Structural insights into recognition of chemokine receptors by *Staphylococcus aureus* leukotoxins. **Elife**. 2022 Mar 21;11:e72555. doi: 10.7554/eLife.72555. PMID: 35311641; PMCID: PMC9005193.

PAHARIK, A. E. et al. The Spl Serine Proteases Modulate *Staphylococcus aureus* Protein Production and Virulence in a Rabbit Model of Pneumonia. **mSphere**, v. 1, n. 5, 2016.

PANDEY, A., SHEN, C., FENG, S., & MAN, S. M. (2021). Cell biology of inflammasome activation. **Trends in Cell Biology**, 31(11), 924-939. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2021.06.010>

PAPAYANNOPOULOS, V. (2018). Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. **Nat Rev Immunol**, 18, 134–147. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.105>

PAPAYANNOPOULOS, V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. **Nature Reviews Immunology** 2017 18:2, v. 18, n. 2, p. 134–147, 9 out. 2017.

PASPARAKIS, M.; HAASE, I.; NESTLE, F. O. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 5, p. 289–301, 2014.

PAULANDER, W.; VARMING, A.N.; BOJER, M.S.; FRIBERG, C.; BÆK, K.; INGMER, H. The agr quorum sensing system in *Staphylococcus aureus* cells mediates death of sub-population. **BMC Res Notes**. 2018 Jul 24;11(1):503. doi: 10.1186/s13104-018-3600-6. PMID: 30041686; PMCID: PMC6057012.

PAVLOU, S. et al. Sustained high glucose exposure sensitizes macrophage responses to cytokine stimuli but reduces their phagocytic activity. **BMC Immunol**, v. 19, n. 24, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12865-018-0261-0>.

PENG, H.L.; NOVICK, R.P.; KREISWIRTH, B.; KORNBLUM, J.; SCHLIEVERT, P. Cloning, characterization, and sequencing of an accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. **J Bacteriol**. 1988;170:4365–4372.

PENG, Q.; TANG, X.; DONG, W.; SUN, N.; YUAN, W. A Review of Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* and Its Regulation Mechanism. **Antibiotics (Basel)**. 2022 Dec 22;12(1):12. DOI: 10.3390/antibiotics12010012.

PENG, Q.; TANG, X.; DONG, W.; SUN, N.; YUAN, W. A Review of Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* and Its Regulation Mechanism. **Antibiotics (Basel)**. 2022 Dec 22;12(1):12. DOI: 10.3390/antibiotics12010012. PMID: 36671212; PMCID: PMC9854888.

PERARO, M.D.; VAN DER GOOT, F.G. Pore-forming toxins: ancient, but never really out of fashion. **Nat Rev Microbiol**. 2016; 14:77–92. DOI: 10.1038/nrmicro.2015.3.

PETER, C. et al. Migration to apoptotic "find-me" signals is mediated via the phagocyte receptor G2A. **J Biol Chem**, v. 283, n. 9, p. 5296-5305, 2008.

PIDWILL, G. R. et al. The Role of Macrophages in Staphylococcus aureus Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. January, p. 1–30, 2021a.

PIDWILL, G.R.; GIBSON, J.F.; COLE, J.; RENSHAW, S.A.; FOSTER, S.J. The Role of Macrophages in Staphylococcus aureus Infection. **Front Immunol.** 2021 Jan 19;11:620339. doi: 10.3389/fimmu.2020.620339. PMID: 33542723; PMCID: PMC7850989.

PILSCZEK, F. H. et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to Staphylococcus aureus. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, n. 12, p. 7413–7425, 15 dez. 2010.

PINEGIN, B. et al. The role of mitochondrial ROS in antibacterial immunity. **J Cell Physiol**, v. 233, n. 5, p. 3745-3754, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcp.26117>.

POLK, C.; SAMPSON, M.M.; ROSHDY, D.; DAVIDSON, L.E. Skin and Soft Tissue Infections in Patients with Diabetes Mellitus. **Infect Dis Clin North Am.** 2021 Mar;35(1):183-197. doi: 10.1016/j.idc.2020.10.007. Epub 2020 Dec 7. PMID: 33303332.

PRAGMAN AA, YARWOOD JMT, TRIPP TJ, SCHLIEVERT PM. 2004. Characterization of Virulence Factor Regulation by SrrAB, a Two-Component System in *Staphylococcus aureus*. **J Bacteriol** 186:. <https://doi.org/10.1128/jb.186.8.2430-2438.2004>

PRAGMAN, A. A. et al. Characterization of Virulence Factor Regulation by SrrAB, a Two-Component System in Staphylococcus aureus. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 8, p. 2430–2438, abr. 2004.

PRAGMAN, A.A.; YARWOOD, J.M.; TRIPP, T.J.; SCHLIEVERT, P.M. Characterization of virulence factor regulation by SrrAB, a two-component system in Staphylococcus aureus. **J Bacteriol.** 2004 Apr;186(8):2430-8. DOI: 10.1128/JB.186.8.2430-2438.2004.

PRATTEN, JONATHAN; FOSTER, SIMON J.; CHAN, PAN F.; WILSON, MICHAEL; NAIR, SEAN P. *Staphylococcus aureus* accessory regulators: expression within biofilms and effect on adhesion. **Microbes and Infection**, Volume 3, Issue 8, 2001, Pages 633-637, ISSN 1286-4579, [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01418-6](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01418-6).

PRESCOTT, S. L. et al. The skin microbiome: Impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. **World Allergy Organization Journal** BioMed Central Ltd, v.10, n.1, 22 ago. 2017.

PRINCE, A. Staphylococcus aureus metabolites promote IL-10. **Nat Microbiol.** 2020 Oct;5(10):1183-1184. doi: 10.1038/s41564-020-00791-x. PMID: 32963374.

RAPUN-ARAIZ, B. et al. Systematic Reconstruction of the Complete Two-Component Sensorial Network in Staphylococcus aureus. **mSystems**, v. 5, n. 4, 25 ago. 2020.

RASHKI GHALEHNOO, Z., & GHALEHNOO, Z. R. (2018). Diseases caused by *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Medical and Health Research**, 4, 65–67. Recuperado de www.medicalsciencejournal.com

RAY, G. T.; SUAYA, J. A.; BAXTER, R. Incidence, microbiology, and patient characteristics of skin and soft-tissue infections in a U.S. population: A retrospective population-based study. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1–11, 2013.

RECSEI, P.; KREISWIRTH, B.; O'REILLY, M.; SCHLIEVERT, P.; GRUSS, A.; NOVICK, R.P. Regulation of exoprotein gene expression in *Staphylococcus aureus* by agar. **Mol Gen Genet**. 1986;202:58–61.

REGASSA, L.B.; NOVICK, R.P.; BETLEY, M.J. Glucose and nonmaintained pH decrease expression of the accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. **Infect. Immun**. 1992;60:3381–3388.

RHODE, H.; BURANDT, E.C.; SIEMSEN, N.; FROMMELT, L.; BURDELSKI, C.; WURSTER, S.; et al. Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. **Biomaterials** 2007; 28:1711–1720. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.11.046.

RICHARDSON, A. R.; DUNMAN, P. M.; FANG, F. C. The nitrosative stress response of *Staphylococcus aureus* is required for resistance to innate immunity. **Molecular Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 927–939, ago. 2006.

RICHARDSON, A. R.; LIBBY, S. J.; FANG, F. C. A nitric oxide-inducible lactate dehydrogenase enables *Staphylococcus aureus* to resist innate immunity. **Science (New York, N.Y.)**, v. 319, n. 5870, p. 1672–1676, 21 mar. 2008.

RODRIGUES, M.; KOSARIC, N.; BONHAM, C. A.; GURTNER, G. C. Wound Healing: A Cellular Perspective. **Physiological Reviews**, 2018. v. 98, n. 1, p. 665–705. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>.

ROSENBACH FJ (1884) Microorganismen bei den Wund-Infektionen. **Krankheiten des Menschen**. pp. 1–122.

ROTH, R. R.; JAMES, W. D. Microbial Ecology of the Skin. **Annual Review of Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 441–464, out. 1988.

ROUNTREE, P.M. The effect of desiccation on the viability of *Staphylococcus aureus*. **J Hyg (Lond)**. 1963;61:265–272.

ROUX, A.; TODD, D.A.; VELÁZQUEZ, J.V.; CECH, N.B.; SONENSHEIN, A.L. CodY-mediated regulation of the *Staphylococcus aureus* Agr system integrates nutritional and population density signals. **J Bacteriol**. 2014 Mar;196(6):1184-96. DOI: 10.1128/JB.00128-13. Epub 2014 Jan 3. PMID: 24391052; PMCID: PMC3957711.

RUDRA, P.; BOYD, J. M. Metabolic control of virulence factor production in *Staphylococcus aureus*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 55, p. 81–87, 1 jun. 2020.

SAGHALEINI, S. H., DEHGHAN, K., SHADVAR, K., SANAIE, S., MAHMOODPOOR, A., & OSTADI, Z. (2018). Pressure Ulcer and Nutrition. **Indian Journal of Critical Care Medicine: Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine**, 22(4), 283–289. https://doi.org/10.4103/ijccm.IJCCM_277_17

SANFORD, J. A.; GALLO, R. L. Functions of the skin microbiota in health and disease. **Semin Immunol**, v. 25, n. 5, p. 370–377, nov. 2013.

SANTOS, A. L. et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar Staphylococcus aureus: visiting a strain of clinical importance. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43(6), p. 413–423, 2007.

SAWYER, D. T.; WILLIAMS, R. J. P. Reactivity of Hydrogen Peroxide, Alkyl Hydroperoxides, and Peracids. **Oxygen Chemistry**, 16 jan. 1992.

SCHAUMBURG, F.; PAULY, M.; SCHUBERT, G.; SHITTU, A.; TONG, S.; LEENDERTZ, F.; PETERS, G.; BECKER, K. Characterization of a novel thermostable nuclease homolog (NucM) in a highly divergent Staphylococcus aureus clade. **J Clin Microbiol**. 2014 Nov;52(11):4036-8. DOI: 10.1128/JCM.02327-14.

SCHLAG, M.; BISWAS, R.; KRISMER, B.; KOHLER, T.; ZOLL, S.; YU, W.; SCHWARZ, H.; PESCHEL, A.; GOTZ, F. Papel do ácido teicóico da parede estafilocócica no direcionamento da principal autolisina Atl. **Mol Microbiol**. 2010; 75:864–73.

SCHMIDT, K. A. et al. SarT, a repressor of α -hemolysin in Staphylococcus aureus. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 8, p. 4749–4758, 2001.

SCHEMPP, C.M.; EMDE, M.; WÖLFLE, U. Dermatologia em Darwinjahr. *J Dtsch Dermatol Ges*, v. 7, p. 750-758, 2009.

SCHMIDT, K.A.; MANNA, A.C.; GILL, S.; CHEUNG, A.L. SarT, a repressor of alpha-hemolysin in Staphylococcus aureus. **Infect Immun**. 2001;69:4749–4758.

SEVERN, M.M.; HORSWILL, A.R. Staphylococcus epidermidis and its dual lifestyle in skin health and infection. **Nat Rev Microbiol**. 2023 Feb;21(2):97-111. doi: 10.1038/s41579-022-00780-3. Epub 2022 Aug 30. PMID: 36042296; PMCID: PMC9903335.

SHADEL, G. S.; HORVATH, T. L. **Mitochondrial ROS Signaling in Organismal Homeostasis**. CellPress, v.163, n.3, 22 out. 2015.

SHAW, L.; GOLENKA, E.; POTEMPA, J.; FOSTER, S.J. The role and regulation of the extracellular proteases of Staphylococcus aureus. **Microbiology** 2004; 150:217–228. DOI: 10.1099/mic.0.26634-0.

SHIRSHIN, E.A.; GURFINKEL, Y.I.; PRIEZZHEV, A.V.; FADEEV, V.V.; LADEMANN, J.; DARVIN, M.E. Two-photon autofluorescence lifetime imaging of human skin papillary dermis in vivo: Assessment of blood capillaries and structural proteins localization. *Sci. Rep.*, v. 7, p. 1171, 2017. doi: 10.1038/s41598-017-01238-w.

SIERADZKI, K.; ROBERTS, R.B.; HABER, S.W.; et al. The Development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *N Engl J Med.* 1999;340(7):517–523.

SIMÕES, Q. J. A. Organization of the Skin Immune System and Compartmentalized Immune Responses in Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 32, n. 4, p. e00034-18, 31 jul. 2019.

SINHA, S.; LIN, G.; FERENCZI, K. The skin microbiome and the gut-skin axis. *Revista Clínica de Dermatologia*, v. 39, n. 5, p. 829-839, set.-out. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0738081X21001930?via%3DiHub>.

SMAGUR, J.; GUZIK, K.; BZOWSKA, M.; KUZAK, M.; ZAREBSKI, M.; KANTYKA, T.; WALSKI, M.; GAJKOWSKA, B.; POTEMPA, J. Staphylococcal cysteine protease staphopain B (SspB) induces rapid engulfment of human neutrophils and monocytes by macrophages. *Biol Chem.* 2009; 390:361–371. DOI: 10.1515/BC.2009.047.

SMITH, R.N.; MANN, N.J.; BRAUE, A.; MAKELAINEN, H.; VARIGOS, G.A. Uma dieta com baixa carga glicêmica melhora os sintomas em pacientes com acne vulgar: um ensaio clínico randomizado. *Sou J Clin Nutr.* 2007; 86:107–115. doi: 10.1093/ajcn/86.1.107.

SMYTHE, P.; WILKINSON, H. N. The Skin Microbiome: Current Landscape and Future Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 4, p. 3950, fev. 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9963692/>.

SOMERVILLE, G.A.; PROCTOR, R.A. At the crossroads of bacterial metabolism and virulence factor synthesis in *Staphylococci*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2009;73:233–248.

SOLANO, C.; ECHEVERZ, M.; LASA, I. Biofilm dispersion and quorum sensing. *Current Opinion in Microbiology*, v. 18, p. 96-104, Apr. 2014. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.02.008>.

SOUZA, G. A. A. D. et al. Perfil microbiológico de infecções de pele e partes moles em pacientes internos de um hospital universitário. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, v. 6, n. 1, 4 jan. 2016.

SPAAN, A. N., G VAN STRIJP, J. A., & TORRES, V. J. (2017). Leukocidins: staphylococcal bi-component pore-forming toxins find their receptors. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.27>

SPAAN, A.N.; SUREWAARD, B.G.; NIJLAND, R.; VAN STRIJP, J.A. Neutrophils Versus *Staphylococcus aureus*: A Biological Tug of War. **Annu Rev Microbiol.** 2013; 67:629–650. DOI: 10.1146/annurev-micro-092412-155746.

SPAAN, A.N.; VAN STRIJP, J.A.G.; TORRES, V.J. Leukocidins: staphylococcal bi-component pore-forming toxins find their receptors. **Nat Rev Microbiol.** 2017 Jul; 15(7):435-447. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.27.

SPAN, A.N.; et al. Differential Interaction of the Staphylococcal Toxins Pantone-Valentine Leukocidin and gamma-Hemolysin CB with Human C5a Receptors. **J Immunol.** 2015;195:1034–1043. doi: 10.4049/jimmunol.1500604.

STELZNER, K.; BOYNY, A.; HERTLEIN, T.; SROKA, A.; MOLDOVAN, A.; PAPROTKA, K.; KESSIE, D.; MEHLING, H.; POTEMPA, J.; OHLSEN, K.; FRAUNHOLZ, M.J.; RUDEL, T. Intracellular *Staphylococcus aureus* employs the cysteine protease staphopain A to induce host cell death in epithelial cells. **PLoS Pathog.** 2021 Sep 2;17(9):e1009874. doi: 10.1371/journal.ppat.1009874. PMID: 34473800; PMCID: PMC8443034.

STENTZEL, S.; TEUFELBERGER, A.; NORDENGRÜN, M.; KOLATA, J.; SCHMIDT, F.; VAN CROMBRUGGEN, K.; MICHALIK, S.; KUMPFMÜLLER, J.; TISCHER, S.; SCHWEDER, T.; et al. Proteínas semelhantes à serina protease estafilocócicas são marca-passos de reações alérgicas das vias aéreas ao *Staphylococcus aureus*. **J Allergy Clin Immunol.** 2017; 139:492–500.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.045.

STENTZEL, S.; TEUFELBERGER, A.; NORDENGRÜN, M.; KOLATA, J.; SCHMIDT, F.; VAN CROMBRUGGEN, K.; MICHALIK, S.; KUMPFMÜLLER, J.; TISCHER, S.; SCHWEDER, T.; HECKER, M.; ENGELMANN, S.; VÖLKER, U.; KRYSKO, O.; BACHERT, C.; BRÖKER, B.M. Staphylococcal serine protease-like proteins are pacemakers of allergic airway reactions to *Staphylococcus aureus*. **J Allergy Clin Immunol.** 2017 Feb;139(2):492-500.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.045. Epub 2016 May 10. PMID: 27315768.

SUAYA, J. A. et al. Skin and Soft Tissue Infections and Associated Complications among Commercially Insured Patients Aged 0-64 Years with and without Diabetes in the U.S. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 2013.

SUD, M. et al. LMSD: LIPID MAPS structure database. **Bioinformatics**, v. 35, n. 18, p. 3510-3512, 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/35/18/3510/5317166?login=false>.

SUGAWARA, N.; TOMITA, T.; SATO, T.; KAMIO, Y. Assembly of *Staphylococcus aureus* leukocidin into a pore-forming ring-shaped oligomer on human polymorphonuclear leukocytes and rabbit erythrocytes. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 1999; 63:884–891. DOI: 10.1271/bbb.63.884.

SULTAN, A.R.; HOPPENBROUWERS, T.; LEMMENS-DEN TOOM, N.A.; SNIJDERS, S.V.; VAN NECK, J.W.; VERBON, A.; DE MAAT, M.P.M.; VAN WAMEL, W.J.B. During the Early Stages of *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation, Induced Neutrophil Extracellular Traps Are Degraded by Autologous Thermonuclease. **Infect Immun.** 2019 Nov 18;87(12):e00605-19. DOI: 10.1128/IAI.00605-19.

SUREWAARD, B.; DE HAAS, C.; VERVOORT, F.; RIGBY, K.; DELEO, F.; OTTO, M.; VAN STRIJP, J.; NIJLAND, R. As modulinas solúveis de alfa-fenol estafilocócicas contribuem para a lise de neutrófilos após a fagocitose. **Cell Microbiol.** 2013; 15:1427–1437.

TABAN, Q. et al. Scavenger receptors in host defense: from functional aspects to mode of action. **Cell Communication and Signaling** BioMed Central Ltd, v.20, n.1, 1 dez. 2022.

TAM, K.; SCHULTZ, M.; REYES-ROBLES, T.; VANWALSCAPPEL, B.; HORTON, J.; ALONZO, F. 3rd; WU, B.; LANDAU, N.R.; TORRES, V.J. *Staphylococcus aureus* Leukocidin LukED and HIV-1 gp120 Target Different Sequence Determinants on CCR5. **mBio.** 2016 Dec 13;7(6):e02024-16. doi: 10.1128/mBio.02024-16. PMID: 27965453; PMCID: PMC5156306.

TAM, K.; Torres, V. J. *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0039-2018>.

TAM, K.; TORRES, V. J. *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, p. 139–148, abr. 2019.

TAM, K.; TORRES, V.J. *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. **Microbiol Spectr.** 2019 Mar;7(2):GPP3-0039-2018. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0039-2018.

TAN L, LI SR, JIANG B, HU XM, LI S. Therapeutic Targeting of the *Staphylococcus aureus* Accessory Gene Regulator (agr) System. **Front Microbiol.** 2018 Jan 25;9:55. doi: 10.

TANG, J.; ZHOU, R.; SHI, X.; KANG, M.; WANG, H.; CHEN, H. Two thermostable nucleases coexisted in *Staphylococcus aureus*: evidence from mutagenesis and in vitro expression. **FEMS Microbiol Lett.** 2008; 284:176–183. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01198.x.

TEGMARK, K.; KARLSSON, A.; ARVIDSON, S. Identification and characterization of SarH1, a new global regulator of virulence gene expression in *Staphylococcus aureus*. **Mol Microbiol.** 2000;37:398–409.

THOENDEL, M.; HORSWILL, A.R. Identification of AgrD residues of *Staphylococcus aureus* necessary for the biosynthesis of autoinducing peptides. **J Biol Chem.** 2009;284:21828–21838.

THOMER, L.; SCHNEEWIND, O.; MISSIAKAS, D. Pathogenesis of Staphylococcus aureus Bloodstream Infections. **Annu Rev Pathol.** 2016 May 23;11:343-64. DOI: 10.1146/annurev-pathol-012615-044351.

TOMIC-CANIC, M.; BURGESS, J.L.; O'NEILL, K.E.; STRBO, N.; PASTAR, I. Skin Microbiota and its Interplay with Wound Healing. **Am J Clin Dermatol.** 2020 Sep;21(Suppl 1):36-43. doi: 10.1007/s40257-020-00536-w. PMID: 32914215; PMCID: PMC7584558.

TONG, S.Y.; DAVIS, J.S.; EICHENBERGER, E. et al. Infecções por Staphylococcus aureus: epidemiologia, fisiopatologia, manifestações clínicas e manejo. **Clin Microbiol Rev.** 2015; 28(3):603–661.

TONG, P.L. et al. The skin immune atlas: three-dimensional analysis of cutaneous leukocyte subsets by multiphoton microscopy. *J. Invest. Dermatol.*, v. 135, p. 84–93, 2015.

TOSETTI, B.; WARD, B.; GRUMME, D.; HERB, M.; SCHRAMM, M.; UTERMÖHLEN, O.; HEUKAMP, L.C.; KRÖNKE, M.; KRUT, O. NOX2 Deficiency Permits Sustained Survival of S. aureus in Macrophages and Contributes to Severity of Infection. **Front Immunol.** 2021 Mar 22;12:633629. doi: 10.3389/fimmu.2021.633629. PMID: 33868252; PMCID: PMC8044967.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 4 ed. v. 1. 2005.

TSOMPANIDOU, E.; DENHAM, E.L.; BECHER, D.; DE JONG, A.; BUIST, G.; VAN OOSTEN, M.; MANSON, W.L.; BACK, J.W.; VAN DIJL, J.M.; DREISBACH, A. Papéis distintos de modulinas solúveis em fenol na disseminação de Staphylococcus aureus em superfícies molhadas. **Appl Environ Microbiol.** 2013; 79:886–895.

TURNER, N.A.; SHARMA-KUIKEL, B.K.; MASKARINEC, S.A. et al. Staphylococcus aureus resistente à meticilina: uma visão geral da pesquisa básica e clínica. **Nat Rev Microbiol** 17, 203–218 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0147-4>.

UBUKATA, K.; NONOGUCHI, R.; MATSUHASHI, M.; et al. Expression and inducibility in Staphylococcus aureus of the mecA gene, which encodes a methicillin-resistant S. aureus-specific penicillin-binding protein. **J Bacteriol.** 1989;171(5):2882–2885.

ULLAH, A.; KHAN, A.; AL-HARRASI, A.; ULLAH, K.; SHABBIR, A. Caracterização da estrutura tridimensional e estudo de inibição da toxina esfoliativa D de Staphylococcus aureus. **Front Pharmacol.** 2022; 13:800970. doi: 10.3389/fphar.2022.800970.

ULRICH, M. et al. The staphylococcal respiratory response regulator SrrAB induces ica gene transcription and polysaccharide intercellular adhesin expression, protecting Staphylococcus aureus from neutrophil killing under anaerobic growth conditions. **Molecular Microbiology**, v. 65, n. 5, p. 1276–1287, set. 2007.

VAN BELLEGHEM, J. D., & BOLLYKY, P. L. (2018). Macrophages and innate immune memory against Staphylococcus skin infections. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, 115(47), 11865–11867. <https://doi.org/10.1073/pnas.1816935115>

VAN HAL, S.; LODISE, T.; PATERSON, D. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. **Clin Infect Dis**. 2012;54(6):755–771.

VAN HAL, S.J.; JENSEN, S.O.; VASKA, V.L. et al. Preditores de mortalidade em Bacteremia por *Staphylococcus aureus*. **Clin Microbiol Rev**. 2012; 25(2):362–386.
 VAN KESSE, K. P. M.; BESTEBROER, J.; VAN STRIJP, J. A. G. Neutrophil-mediated phagocytosis of *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. SEP, p. 1–12, 2014.

VAN KAER, L. How Superantigens Bind MHC. **The Journal of Immunology**, v. 201, n. 7, p. 1817-1818, 2018. Disponível em: <https://journals.aai.org/jimmunol/article/201/7/1817/107130/How-Superantigens-Bind-MHC>.

VAN SORGE, N. M. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Bacterial Nitric-oxide Synthase Affects Antibiotic Sensitivity and Skin Abscess Development. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 9, p. 6417, 3 mar. 2013.

VENKATAKRISHNAN, A.J.; et al. Molecular signatures of G-protein-coupled receptors. **Nature**. 2013;494:185–194. doi: 10.1038/nature11896.

VESTERGAARD, M.; FREES, D.; INGMER, H. Antibiotic Resistance and the MRSA Problem. **Microbiol Spectr**. 2019 Mar;7(2). DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0057-2018.

VILLANUEVA, M.; GARCIA, B.; VALLE, J.; RAPUN, B.; RUIZ DE LOS MOZOS, I.; SOLANO, C.; MARTI, M.; PENADES, J.R.; TOLEDO-ARANA, A.; LASA, I. Sensory deprivation in *Staphylococcus aureus*. **Nat Commun**. 2018;9:523.

VOLPE, C. M. O. et al. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. **Cell Death & Disease** 2018 9:2, v. 9, n. 2, p. 1–9, 25 jan. 2018.

VON HOVEN, G.; HUSMANN, M. *Staphylococcus aureus* α -Toxin's Close Contacts Ensure the Kill. **Trends Microbiol**. 2019 Feb;27(2):89-90. doi: 10.1016/j.tim.2018.11.010. Epub 2018 Dec 13. PMID: 30554769.

VON KÖCKRITZ-BLICKWEDE, M. et al. Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. **Blood**, v. 111, n. 6, p. 3070–3080, 15 mar. 2008.

WANG, B., MCHUGH, B. J., QURESHI, A., CAMPOPIANO, D. J., CLARKE, D. J., FITZGERALD, J. R., DORIN, J. R., WELLER, R., & DAVIDSON, D. J. (2017). IL-1 β -Induced Protection of Keratinocytes against *Staphylococcus aureus*-Secreted Proteases Is Mediated by Human β -Defensin 2. **The Journal of Investigative Dermatology**, 137(1), 95. <https://doi.org/10.1016/J.JID.2016.08.025>

Wang, Z., et al. (2020). Skin wound closure delay in metabolic syndrome correlates with SCF deficiency in keratinocytes. **Sci Rep**, 10, 21732. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78474-9>

WEI, R., et al. (2022). Hyperglycemia in diabetic skin infections promotes Staphylococcus aureus virulence factor Aureolysin: Visualization by molecular imaging. **ACS Sensors**, 7(11), 3416-3421. <https://doi.org/10.1021/acssensors.2c01565>

WEST, A. P. et al. TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS. **Nature**, v. 472, n. 7344, p. 476–480, 28 abr. 2011.

WILGUS, T. A.; ROY, S.; MCDANIEL, J. C. Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions. **Advances in Wound Care**, v. 2, n. 7, p. 379–388, set. 2013.

WINTERBOURN, C. C.; KETTLE, A. J.; HAMPTON, M. B. Reactive Oxygen Species and Neutrophil Function. **Annu. Rev. Biochem**, 6 abr. 2016.

WOLF, K.; MÜLLER, R.; BORGMANN, S.; BRÖCKER, E.; FRIEDL, P. Amoeboid shape change and contact guidance: T-lymphocyte crawling through fibrillar collagen is independent of matrix remodeling by MMPs and other proteases. **Blood**, v. 102, n. 9, p. 3262-3269, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006497120539268?via%3Dihub>.

WOODLEY, D.T. Distinct fibroblasts in the papillary and reticular dermis: Implications for wound healing. **Dermatol. Clin.**, v. 35, p. 95–100, 2017. doi: 10.1016/j.det.2016.07.004.

WONG, R. et al. The dynamic anatomy and patterning of skin. **Experimental Dermatology**, v. 25, n. 2, p. 92-98, fev. 2016. doi:10.1111/exd.12832. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/exd.12832>.

WU, D. et al. Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. **Science**, v. 332, n. 6026, p. 243-247, abr. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1201475>. PMID: 21436399; PMCID: PMC3144160.

XIANG, H.; YANG, P.; WANG, L.; LI, J.; WANG, T.; XUE, J.; WANG, D.; MA, H. Isovitexin Is a Direct Inhibitor of Staphylococcus aureus Coagulase. **J Microbiol Biotechnol**. 2021 Oct 28;31(10):1350-1357. DOI: 10.4014/jmb.2105.05013.

XU, S. X.; MCCORMICK, J. K. Staphylococcal superantigens in colonization and disease. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 2, n. April, p. 52, 2012. YAGI, S.; WAKAKI, N.; IKEDA, N.; TAKAGI, Y.; UCHIDA, H.; KATO, Y.; MINAMINO, M. Presença de toxina esfoliativa estafilocócica A em soros de pacientes com dermatite atópica. **Clin Exp Allergy**. 2004; 34:984–993. doi: 10.1111/j.1365-2222.2004.1687.x.

YAMAZAKI, Y.; NAKAMURA, Y.; NÚÑEZ, G. Role of the microbiota in skin immunity and atopic dermatitis. **Allergology International**, v. 66, n. 4, p. 539-544, 2017. ISSN 1323-8930. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.alit.2017.08.004>.

YANEZ, D. A. et al. The role of macrophages in skin homeostasis. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 469, n. 3–4, p. 455–463, abr. 2017.

YANG, S.; LIAN, G. ROS and diseases: role in metabolism and energy supply. **Molecular and Cellular Biochemistry Springer**, v.467, n.5, 1 abr. 2020.

YANG, F. et al. Staphylococcus aureus α -toxin impairs early neutrophil localization via electrogenic disruption of store-operated calcium entry. **Cell Reports**, v. 42, n. 11, 2023. ISSN 2211-1247. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113394>.

YARWOOD, J.M.; McCORMICK, J.K.; SCHLIEVERT, P.M. Identification of a novel two-component regulatory system that acts in global regulation of virulence factors of Staphylococcus aureus. **J Bacteriol.** 2001 Feb;183(4):1113-23. DOI: 10.1128/JB.183.4.1113-1123.2001.

YEH, C.; FLATLEY, E.; ELKATTAWY, O.; BERGER, L.; RAO, B. Exercício em dermatologia: influência do exercício no envelhecimento da pele, câncer de pele, psoríase, úlceras venosas e alopecia androgenética. **J Am Acad Dermatol.** 2021 doi: 10.1016/j.jaad.2021.07.023.

YOO, E. S., YU, J., & SOHN, J. W. (2021). Neuroendocrine control of appetite and metabolism. **Experimental & Molecular Medicine**, 53(4), 505–516. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00597-9>

YOSHIDA, T.; BECK, L. A.; DE BENEDETTO, A. Skin barrier defects in atopic dermatitis: From old idea to new opportunity. **Allergology International - Japanese Society of Allergology**, v.12, n.2, 1 jan. 2022.

YOUSEFI, S. et al. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. **Nature medicine**, v. 14, n. 9, p. 949–953, set. 2008.

YOUSEFI, S. et al. Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps. **Cell death and differentiation**, v. 16, n. 11, p. 1438–1444, 2009.

ZHANG, C. et al. Skin immunity: dissecting the complex biology of our body's outer barrier. **Mucosal Immunology - Springer Nature**, v.15, 1 abr. 2022.

ZHANG, W.; PAJULAS, A.; KAPLAN, M. H. $\gamma\delta$ T Cells in Skin Inflammation. **Crit Rev Immunol**, v. 42, n. 5, p. 43-56, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10439530/>.

ZHU, Z.; HU, Z.; LI, S.; FANG, R.; ONO, H.K.; HU, D.L. Molecular Characteristics and Pathogenicity of Staphylococcus aureus Exotoxins. **Int J Mol Sci.** 2023 Dec 28;25(1):395. doi: 10.3390/ijms25010395. PMID: 38203566; PMCID: PMC10778951.

ZIELINSKA, A. K. et al. SarA-mediated repression of protease production plays a key role in the pathogenesis of Staphylococcus aureus USA300 isolates. **Molecular Microbiology**, v. 86, n. 5, p. 1183–1196, 2012.