

“Caracterização epidemiológica da nasofaringe de estudantes de cursos de saúde da Universidade Atlântica.”

Cláudia Ribeiro, Andreia Henriques, Inês Tomé, Marcelo Oliveira, Liliana Pereira, Isabel Oliveira, Ana Jaleco
Universidade Atlântica, Barcarena, Lisboa

Resumo

A nasofaringe é um local anatómico humano que possui, habitualmente, como potenciais colonizadoras, algumas bactérias que se podem também tornar patogénicas, principalmente quando os indivíduos colonizados são crianças, idosos ou imunodeprimidos. Devido ao contacto directo que os estudantes de saúde terão com a população e, particularmente, com estes grupos, torna-se relevante perceber o tipo de colonização que possuem. Foi, assim, estudada a prevalência das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus spp*, *Moraxella catarrhalis* e *Neisseria meningitidis*, em exsudados nasofaríngeos de 50 estudantes de cursos de saúde da Universidade Atlântica (Portugal). Verificou-se que 86 % dos alunos (43 alunos) se encontram colonizados, dos quais 46% apresentam colonização, pelo menos, por *S. não aureus* e 28% estão colonizados por *S. aureus*. Apenas 3 alunos se encontram colonizados por *S. pneumoniae*. Identificámos, num aluno, uma bactéria inesperada, *Proteus spp*. Tendo em conta a literatura consultada, a taxa de colonização por *S. aureus* está de acordo com a mesma e a taxa de colonização por *S. pneumoniae* não é relevante (amostra reduzida). Relativamente ao aparecimento de *Proteus spp*, está descrito como agente de sinusites crónicas.

Palavras-Chave: colonização, nasofaringe, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus spp*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus spp*.

Introdução

Várias são as bactérias colonizadoras habituais, comensais, do tracto respiratório superior humano, que estão também descritas como patogénicas ⁽¹⁾. Entre elas estão o *Staphylococcus aureus* (mais patogénico e preocupante ainda se a colonização for por uma estirpe meticilina resistente, que acresce de complicações mais severas ^{(2) (3)}), o *Streptococcus pneumoniae*, o *Haemophilus spp*, a *Moraxella catarrhalis* e a *Neisseria*

meningitidis^{(1) (4) (5)}. Estes comensais podem, rapidamente, causar doenças respiratórias ou sistémicas⁽¹⁾.

O *Staphylococcus aureus* é um Gram positivo, catalase positivo e a espécie mais virulenta do seu género. É a única espécie encontrada no ser humano que produz coagulase. A sua transmissão ocorre por contacto directo com portadores colonizados, sendo a colonização persistente a mais preocupante⁽²⁾. A colonização da nasofaringe por *S. aureus* sensível a antimicrobianos não é preocupante em indivíduos saudáveis, embora o seja em indivíduos imunodeprimidos, crianças e idosos⁽²⁾. Torna-se ainda mais grave, quando a colonização ocorre por espécies MRSA (*Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina), até em indivíduos normais. As espécies MRSA são muito difíceis de combater e bastante comuns em hospitais^{(2) (3) (6)}. A existência de pacientes internados colonizados/infectados por MRSA pode levar à colonização dos profissionais, que por sua vez colonizam outros pacientes e familiares, levando à colonização da comunidade em geral. Os MRSA adquiridos em meio hospitalar são resistentes a um maior número de antibióticos, comparativamente com os MRSA da comunidade, estando descrito que as amostras colhidas na comunidade são, muitas vezes, apenas resistentes à penicilina, enquanto as estirpes das infecções hospitalares são resistentes a um maior número de antibióticos⁽²⁾. Segundo um relatório do Sistema de Vigilância da Resistência Antimicrobiana Europeia (EARSS), o MRSA foi responsável por 0,5% a 44% dos casos de bacteriémia estafilocócica na Europa, com uma incidência de 44% na Grécia e de 0,5% na Islândia⁽⁶⁾. O MRSA pode causar infecções do sistema nervoso central, pneumonia, bacteriémias, endocardite, distúrbios da coagulação, entre outras complicações descritas na literatura⁽⁷⁾, daí a necessidade de controlo apertado na sua propagação, defendendo-se o seu rastreio no pré-internamento⁽⁸⁾. Ainda segundo os mesmos autores, a facilidade de aquisição de resistências a antibióticos, por esta espécie de bactérias, tem vindo a aumentar consideravelmente em todo o mundo.

O *Streptococcus pneumoniae* é também Gram positivo, catalase negativo e um patogénico importante para o homem. Faz parte integrante da microflora da nasofaringe, principalmente de crianças, estando descrito que a colonização de crianças por este microrganismo ocorre cedo na vida, possuindo, nestes, uma prevalência de 40%, enquanto nos adultos a sua prevalência ronda os 15%^(9; 10). Este microrganismo pode levar a infecções graves, tais como, meningite bacteriana, sépsis e otite média aguda, sendo que a doença causada pela infecção tem maior probabilidade de ocorrer logo após

a colonização ^(9; 10). A transmissão ocorre por contacto com gotículas e facilmente coloniza novos indivíduos. A colonização torna-se ainda mais grave, se o *S. pneumoniae* for resistente a antibióticos (essencialmente devido ao uso excessivo e inadequado de antibióticos), dificultando o tratamento, no caso de infecção resultante da invasão pelo agente colonizador ⁽¹⁰⁾. Os factores de risco para a infecção após colonização passam por susceptibilidade para infecções do tracto respiratório inferior, crianças com idade inferior a 2 anos, bem com elevada frequência de contacto com creches e/ou cuidados de saúde ⁽¹⁰⁾.

O *Haemophilus spp*, essencialmente da espécie *H. influenzae*, é a principal bactéria que causa infecções em crianças, tais como, meningites bacterianas ⁽¹¹⁾, pneumonia, artrites, entre outras ⁽¹²⁾. São bactérias Gram negativas, em forma de cocobacilos e necessitam de meios de cultura com factores apropriados para que consigam crescer em cultura. O seu modo de transmissão é idêntico às bactérias anteriores. Está descrito que é frequentemente encontrado como colonizador do tracto respiratório de crianças saudáveis, com taxas de prevalência de 60% ⁽¹²⁾, essencialmente nas que frequentam creches, sendo que estas instituições são apontadas como reservatórios destas bactérias, apresentando, algumas delas, resistência a antibióticos com uma prevalência, na Europa, de 9 a 14,5% ⁽¹²⁾.

A *Moraxella catarrhalis* pode igualmente ser encontrada no tracto respiratório superior, principalmente de crianças frequentadoras de creches ⁽¹⁾, e, morfológicamente, caracteriza-se como um cocobacilo Gram negativo ⁽⁴⁾. Apesar de comensal, está associado ao desenvolvimento de otite média aguda, sinusite, conjuntivite, bronquite crónica, pneumonia, endocardite, septicemia e meningite ⁽⁴⁾, em crianças e adultos imunodeprimidos. Surgem cada vez mais como causa de infecções hospitalares, segundo descrito ⁽⁴⁾, estando a tornar-se agentes etiológicos importantes de infecções, quer hospitalares, quer na comunidade.

Uma outra bactéria muito associada como colonizadora do tracto respiratório superior é a *Neisseria meningitidis*. É Gram negativa e apenas coloniza/infecta humanos ⁽⁵⁾. Do seu género, é a que possui maior predilecção pelo tracto respiratório ⁽⁵⁾. Apesar de estar associada a infecções como meningites ⁽⁵⁾, está descrita como colonizadora da nasofaringe de indivíduos saudáveis ^(5; 13). A prevalência da colonização por esta bactéria é de 10 a 35%, em indivíduos saudáveis ⁽⁵⁾. No entanto, nas populações de indivíduos que possuem contacto próximo entre si (estudantes universitários e militares), as taxas sobem exponencialmente, atingindo uma prevalência de 100% ⁽⁵⁾.

Numa perspectiva de saúde pública, é importante perceber qual o impacto do contacto de profissionais de saúde directamente com doentes colonizados. Não foram efectuados registos desta natureza no nosso país, embora um estudo tenha sido realizado, também em Portugal, no qual foi investigada a prevalência de colonização por *Staphylococcus aureus* em estudantes universitários⁽¹⁴⁾. Neste cenário, o principal objectivo do nosso estudo é obter a prevalência de estudantes de saúde colonizados com *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus spp*, *Moraxella catarrhalis* e *Neisseria meningitidis*. Foi também considerado importante perceber se existe relação entre essa colonização, mediante o tipo de bactérias colonizadoras, e a realização de estágios curriculares ou existência de outros tipos de contacto com indivíduos mais susceptíveis de possuírem essas bactérias como colonizadores. Estes indivíduos mais susceptíveis são, segundo a literatura^(2; 4; 5; 11), as crianças, idosos, indivíduos imunodeprimidos, nos quais as complicações serão mais gravosas, caso seja o profissional a transmitir a colonização (colonizado após contacto com fonte colonizadora) dos microrganismos referidos.

Material e Métodos

População em estudo

Este estudo foi realizado a 50 alunos de cursos de saúde da Universidade Atlântica. A amostra foi escolhida por conveniência e todos os participantes assinaram um consentimento informado. Preencheram ainda um inquérito, através do qual foram recolhidos dados demográficos, como idade e sexo, bem como algumas informações relevantes para o estudo (se os participantes já tinham frequentado estágio, se possuem contacto com instituições de saúde ou creches, se estavam a ser medicados com antibióticos no acto da colheita, a frequência de infecções respiratórias). A média de idades dos participantes é 19 - 20 anos, sendo que mais de metade (70%) eram raparigas.

Colheita das amostras

O produto estudado foi o exsudado da nasofaringe, colhido através da introdução de uma zaragatoa estéril (DELTALAB) ao longo da narina do participante até se sentir uma resistência, rodando depois ligeiramente a zaragatoa. A zaragatoa com o exsudado foi depois transportada em meio de Stuart (DELTALAB), com o objectivo de manter os microrganismos viáveis.

Processamento laboratorial e identificação bacteriana

Os exsudados foram semeados em vários meios de cultura, de modo a cobrir os microrganismos que se poderiam encontrar na nasofaringe. A metodologia utilizada no estudo foi a microbiologia clássica (sementeira em meio sólido, com posterior identificação das colónias obtidas). Semeou-se as amostras, usando a zaragatoa, em gelose de columbia com sangue (Biomérieux), tida como meio universal e que permite visualizar a existência de hemólise (por vezes, o *S. aureus* apresenta hemólise⁽¹⁵⁾); em gelose de chocolate (Biomérieux), rica em factores essenciais ao crescimento de *Haemophilus spp* e *Neisseria spp*; gelose de Chapman (Biomérieux), que permite a identificação presuntiva de *S. aureus*. Após semeados, os meios foram incubados a 35 - 37°C^(12; 15) durante 18-24 horas⁽¹²⁾, em atmosfera de aerobiose, excepto a gelose de columbia com sangue, que foi incubada em capnofilia (atmosfera ideal para o desenvolvimento de *S. pneumoniae*)^(1; 12; 15). Realizaram-se colorações de Gram de esfregaços dos exsudados⁽¹⁵⁾, de modo a obter uma presunção das características das bactérias presentes. Após incubação dos meios e observação das colónias suspeitas, foram realizados testes de catalase⁽¹⁵⁾ e testes de coagulase (Biomérieux), às colónias suspeitas de *Staphylococcus spp* ou *Staphylococcus aureus* (com crescimento em gelose de sangue e Chapman – as colónias não típicas de *S. aureus* que cresceram neste meio foram consideradas *S. não aureus*) e testes da optoquina⁽¹⁵⁾, apenas às colónias suspeitas de *Streptococcus pneumoniae* – às quais também se efectuaram testes da catalase⁽¹⁵⁾ (e prova do desoxicolato de sódio, às colónias duvidosas para o teste da optoquina, segundo Sá Leão *et al.*⁽¹⁶⁾). Foi ainda realizada a coloração de Gram de cada colónia suspeita para se perceber a morfologia da mesma^(3; 15). Devido ao aparecimento de colónias suspeitas de *Proteus spp*, em gelose de columbia com sangue (devido ao “swarming” e cheiro característico), isolou-se uma colónia em meio de CLED (Biomérieux) e em Kligler (Biomérieux) e testou-se, usando como testes bioquímicos, o Ureia-Indol (Biomérieux) e o teste da oxidase⁽¹⁵⁾ (Biomérieux).

Análise estatística

Após a obtenção dos resultados, os mesmos foram inseridos numa base de dados e tratados estatisticamente com o programa SPSS (versão 17.0). O teste do χ^2 foi usado para avaliar a significância estatística dos resultados⁽³⁾. Consideraram-se resultados significativamente estatísticos quando o valor de prova (p) < 0,05⁽³⁾.

Resultados

Após a realização das colheitas dos exsudados nasofaríngeos dos 50 alunos e seu processamento, identificaram-se bactérias distintas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus não aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Proteus spp.* Verificou-se que 86 % dos alunos (43 alunos) se encontram colonizados (figura 1). Destes, nem todos apresentam o mesmo tipo de colonização, embora quase metade deles (46%) apresentem

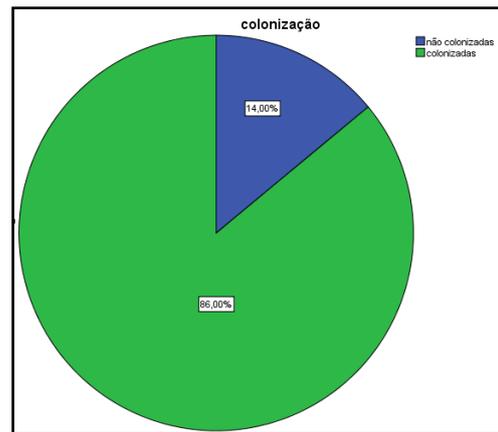


Figura 1 - Percentagens obtidas de indivíduos colonizados e não colonizados na nasofaringe pelas bactérias pesquisadas.

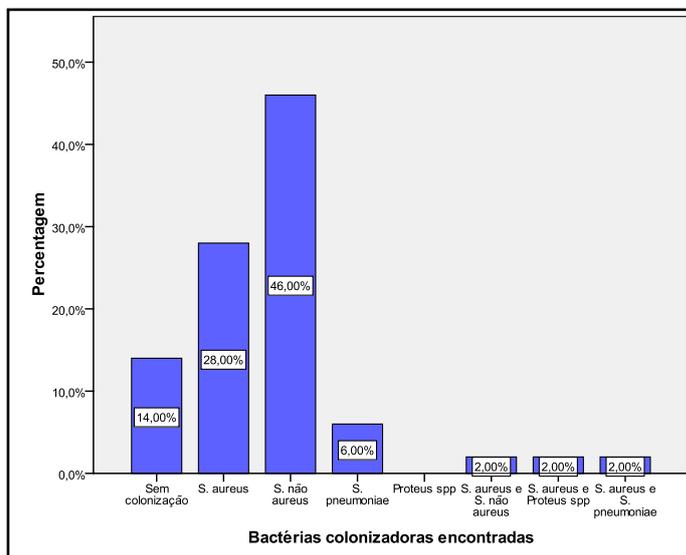


Figura 2 - Percentagens de colonização obtidas para cada espécie de bactéria (ou espécies de bactérias - alguns alunos encontra-se colonizados por mais do que uma espécie de bactéria).

encontrar na nasofaringe, o *Proteus spp.*, na amostra de um aluno, embora o resultado não seja visível no gráfico acima por ser apenas um aluno.

Relativamente à questão do contacto (frequência de estágio ou outro tipo de contacto), dado recolhido pelo inquérito, verificou-se que 90,91 % dos alunos (20 alunos) que admitiram não ter contacto com fontes de possível contaminação

colonização, pelo menos, por bactérias *S. não aureus* (figura 2). A segunda bactéria que mais coloniza os estudantes colonizados é o *S. aureus* (figura 2). A distribuição percentual das restantes bactérias colonizadoras pelos alunos encontra-se também ilustrada na figura 2.

Identificou-se ainda uma bactéria que não se esperava

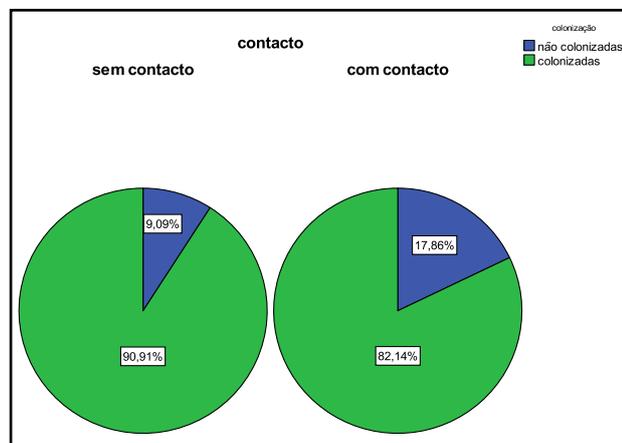


Figura 3 - Comparação das percentagens de colonização obtidas entre os alunos que admitem contacto e os que não o admitem.

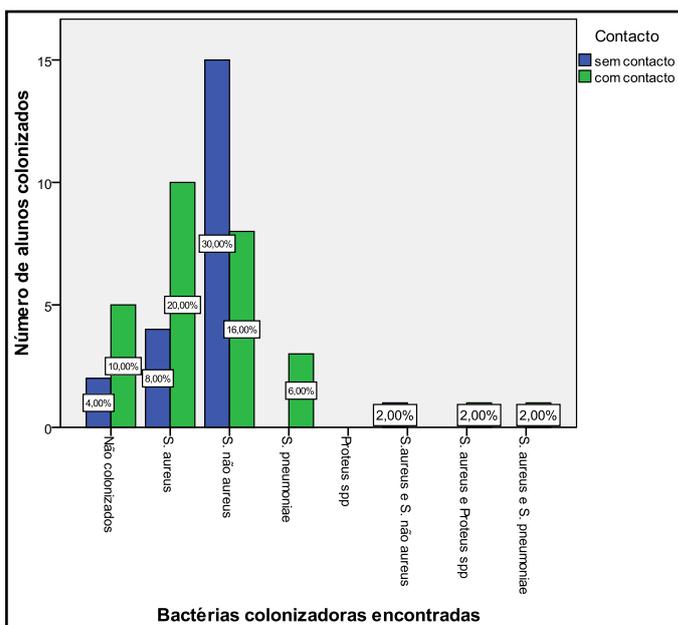


Figura 4 - Comparação da prevalência de colonização, em função do tipo de bactéria (s) colonizadora (s).

(figura 4). Os restantes microrganismos que estão a colonizar os alunos (indicados na figura 4), não apresentam diferenças de prevalências significativas, quando se analisa a variável contacto, ou ausência deste.

De seguida, tentou-se perceber qual o tipo de contacto que influencia que alunos expostos estejam colonizados por *S. aureus* e alunos não expostos estejam colonizados por bactérias *S. não aureus*. Como é visível na figura 5, verificou-se que não é o estágio o tipo de contacto responsável por este facto, uma vez que não

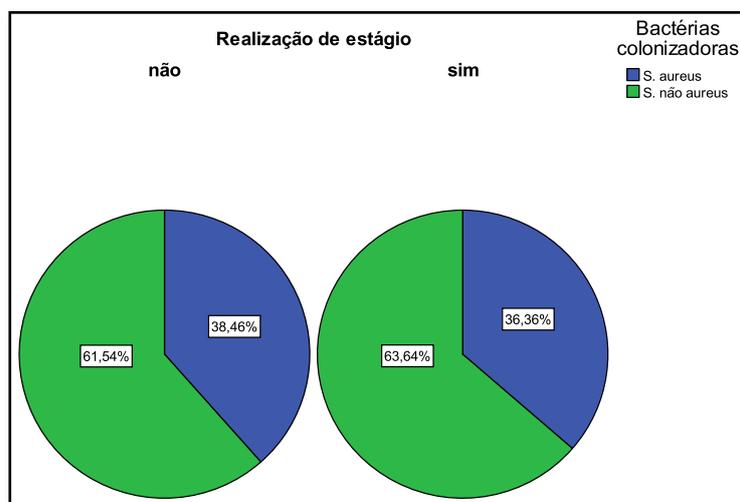


Figura 5 - Relação entre o tipo de bactérias colonizadoras do género *Staphylococcus* e a realização de estágio curricular.

existem diferenças estatisticamente significativas entre os 2 grupos (estágio sim e estágio não) ($p = 0,45$). Não foi possível averiguar qual o tipo de contacto relacionado.

Observou-se ainda crescimento de colónias em alguns meios de cultura de chocolate (com especificidade para bactérias do género *Haemophilus* e *Neisseria*), mas não foi possível a sua identificação.

estavam colonizados e 82,14% (23 alunos) dos que admitem contacto, estavam colonizados (χ^2 revelou um valor de $p = 0,19$) (figura 3). Relacionando a existência de contacto com o tipo de colonização, observa-se uma diferença acentuada de prevalências apenas entre os alunos colonizados com *S. aureus* ou *S. não aureus* (χ^2

revelou valor de $p = 0,02$)

Discussão

A caracterização epidemiológica da nasofaringe dos estudantes de cursos de saúde da Universidade Atlântica foi um estudo pioneiro em Portugal e revelou alguns dados importantes. Entre os alunos colonizados (figura 1), a distribuição da colonização por género é equitativa, não existindo diferenças estatisticamente significativas que relacionem o género com a existência de colonização (o valor obtido, no teste do χ^2 foi $p = 0,46$). Logo, a diferença de géneros não influencia a existência ou não de colonização da nasofaringe, o que seria de esperar porque a exposição de homens e mulheres a estas bactérias, sendo comensais, é feita de igual modo. Como descrito nos resultados, dentro dos alunos colonizados, as bactérias mais prevalentes, nos alunos participantes, são os *S. não aureus* (embora a amostra seja relativamente pequena para que se possam extrapolar os resultados para a população) e a segunda mais prevalente, o *S. aureus*, facto que está de acordo com a literatura, que indica que o ser humano é um reservatório natural de *S. aureus* ⁽²⁾. Alguns alunos estão colonizados por mais do que uma bactéria em simultâneo (figura 2), o que está de acordo com a literatura consultada, na qual, todas elas, estão descritas como bactérias potenciais colonizadoras da nasofaringe ^(2; 9; 10). As bactérias da espécie *S. pneumoniae* identificadas são em pequeno número (apenas 3 alunos colonizados), o que não permite uma análise estatística significativa e conclusiva.

Um género de bactéria não esperado foi encontrado no exsudado nasofaríngeo de um aluno, o *Proteus spp.* De facto não estávamos à espera de encontrar este resultado surpreendente, uma vez que este género de bactérias não é conhecido como agente colonizador da nasofaringe, embora esteja descrito que não é tão incomum assim a sua existência na flora nasofaríngea, podendo estar presente na nasofaringe de indivíduos que possuem sinusites crónicas ⁽¹⁷⁾ (poderá ser o caso do aluno, que informou que é comum ter episódios alérgicos). Não consideramos a hipótese de contaminação durante a colheita ou processamento da amostra, porque a colheita foi repetida, assim como o processamento, e o segundo resultado obtido confirmou a primeira identificação.

Após levantamento das prevalências, correlacionaram-se as taxas de colonização com os dados recolhidos no inquérito, essencialmente no que diz respeito ao contacto com potenciais fontes de agentes colonizadores. É importante perceber se a existência ou não de contacto – durante o estágio ou em contacto com as outras fontes potenciais portadoras de colonização – está relacionada com a existência de colonização. Pela análise estatística efectuada, não existe relação directa entre a existência de colonização

para quem assume que tem contacto com potenciais colonizados e a ausência de colonização para quem assume ausência de contacto, porque os alunos que ainda não foram a estágio (e não têm outro tipo de contacto), não apresentam diferenças estatisticamente significativas, no que diz respeito à percentagem de colonização, dos alunos que admitem contacto (o χ^2 revelou um $p = 0,19$) (ver figura 3). Era de esperar este resultado, uma vez que os participantes apenas consideram o contacto directo e não o contacto indirecto, em comunidade com os indivíduos portadores, tendo ainda maior peso o facto de na faculdade onde foi realizado o estudo, além dos estudantes de saúde participantes, existir um grande número de alunos de outros cursos, também de saúde (que não participaram no estudo) que acabam por “funcionar” como transmissores de agentes para os indivíduos participantes, que pensam não possuir contacto.

Apesar de não existir relação directa de contacto com colonização (no geral), tentou-se perceber, apenas nos indivíduos colonizados, se existe alguma relação entre a existência de contacto, ou ausência dele, e o tipo de bactérias colonizadoras. Verificou-se que apenas existiam diferenças significativas nas taxas de colonização entre os indivíduos que estavam colonizados por *S. aureus* ou *S. não aureus* (o teste do χ^2 revelou que esta conclusão é estatisticamente significativa, obtendo-se um valor de prova, aproximadamente de 0,02). Os indivíduos que admitem não ter contacto directo com fontes colonizadoras estão maioritariamente colonizados por *S. não aureus*, enquanto os indivíduos que admitem contacto estão maioritariamente colonizados com *S. aureus* (figura 4). Tal facto é justificado pela elevada exposição a locais (quer durante o estágio, quer em outras actividades) com indivíduos colonizados, tais como hospitais, lares e creches, que levam à sua colonização. Apesar disto, nenhum dos alunos nos quais foi detectada a colonização por *S. aureus*, possuía uma colonização por *S. aureus* meticilina resistente, perigo de saúde pública.

Não foi possível, devido ao tamanho reduzido da amostra, perceber qual o tipo de contacto que justifica a diferença de colonização por este género de bactérias em função de o aluno possuir ou não contacto (*S. aureus/S. não aureus vs contacto*), apenas se chegou à conclusão que não seria por influência do estágio, uma vez que as percentagens de colonização são idênticas nos alunos colonizados que já foram a estágio e nos alunos que ainda não o realizaram, e estatisticamente não possuem significado (o valor de prova obtido para esta comparação revelou-se de 0,45).

As taxas de colonização da nasofaringe pelas outras bactérias, não permitem a realização de cálculos estatísticos porque são muito baixas e a amostra muito pequena.

Obtivemos ainda crescimento de colónias no meio de cultura de chocolate PVX, que permite o crescimento de bactérias do género *Haemophilus* e *Neisseria*, mas não foi possível identificar as bactérias presentes. Seria interessante, caso o estudo tenha seguimento, perceber de que bactérias se tratam, de forma a completá-lo e caracterizar totalmente a nasofaringe dos participantes.

Conclusão

A principal conclusão a retirar deste trabalho é a taxa de prevalência obtida de indivíduos colonizados com bactérias do género *Staphylococcus*. De facto, o Homem é um reservatório natural de *S. aureus*⁽²⁾, uma vez que 28% dos alunos estão colonizados por esta bactéria, o que está de acordo com o descrito na literatura consultada (prevalência descrita na população de 25 a 50%)⁽²⁾. Conclui-se ainda que o contacto influencia o tipo de colonização, embora se tenha verificado que não foi a realização ou não de estágio, que contribuiu para esta diferença, mas não foi possível perceber qual a sua causa (familiares profissionais de saúde, crianças frequentadoras de creches, lares de idosos, frequência de deslocação a unidades de cuidados de saúde) devido ao pequeno tamanho da amostra. Relativamente à prevalência dos outros microrganismos descritos como colonizadores da nasofaringe, não foi possível concluir sobre a sua taxa de prevalência, quer devido ao tamanho da amostra, quer devido à impossibilidade de identificação de algumas bactérias. Seria interessante repetir o estudo com uma amostra de participantes maior, de modo a tirar conclusões acerca destas bactérias, bem como verificar se existem alterações de prevalências nasofaríngeas, ao longo do tempo de curso e concomitante aumento das situações de contacto, quer em estágios curriculares, quer em outras situações do dia-a-dia que influenciem alterações na flora nasofaríngea.

A identificação de um microrganismo inesperado, o *Proteus spp*, permitiu enriquecer os nossos conhecimentos ao nível da microbiota da nasofaringe.

Agradecimentos

Queremos agradecer à Universidade Atlântica, o financiamento e cedência de espaço físico para a realização do projecto. Agradecemos ainda todo o apoio dedicado, por parte das docentes do curso, enumeradas nos autores do estudo, que permitiu que o conseguíssemos realizar da forma mais científica possível. Um bem-haja a todas.

Referências bibliográficas

1. *Characteristics of Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis and Staphylococcus aureus isolated from the nasopharynx of healthy children attending day-care centres in the Czech Republic.* **ZEMLICKOVA, H., et al.** s.l. : Epidemiol. Infect, 2006, Vol. 134, pp. 1179-1187.
2. *The Changing Epidemiology of Staphylococcus aureus ?.* **Chambers, H. F.** s.l. : Emerging Infectious Diseases, Março - Abril de 2001, Vol. 7, pp. 178-182. 2.
3. *Prevalence oh metacilin-resistant ond methicillin-sensitive Staphylococcus aureus nasal coolonization among patients at the time of admission to the hospital.* **Bodh, Panhotra R., Anil, Anil K. e Abdulrahman, Al Mulhim S.** s.l. : Ann Saudi Med, 2055, Vol. 4, pp. 304-308.
4. *Susceptibilidade antimicrobiana de Moraxella catarrhalis isolada de infecções do trato respiratório.* **Silva, Carlos H. P. de Menezes.** s.l. : RBAC, 2006, Vol. 38(3), pp. 179-181.
5. *Cellular and molecular biology of Neisseria meningitidis colonization and invasive disease.* **HILL, Darryl J., et al.** s.l. : Clinical SCIENCE, 2010, Vol. 118, pp. 547-564.
6. *Methicillin resistant Staphylococcus auresus in Europe.* **Tiemersma, E W, et al.** s.l. : Emerg Infect Dis, 2004, Vol. 9, pp. 1627-1634.
7. *Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic Era.* **Chambers, H. F. e DeLeo, F.** s.l. : Nat Ver Microbiol, 2009, Vol. 7 (9), pp. 629-641.
8. *Staphylococcus aureus Nasal Carriage and its Controbutins Factors.* **Sivaraman, Karthikeyan, Venkataraman, Nitya e Cole, Alexander M.** s.l. : Future Microbiol, 2009, pp. 999-1008.
9. *Detection of Streptococcus pneumoniae. Strain Cocolonization in the Nasopharynx.* **Brugger, S, Hathaway, L. e Muhlemann, K.** s.l. : Journal of CLinical Microbiology, 2009, Vol. 47, pp. 1750-1756. 6.
10. *Nasopharyngeal COLonization and Penicillin Resistence Among Pneumococcal Strains: A Worldwide 2004 Update.* **Cardozo, Déa M., et al.** s.l. : The Brazilian Journal of Infectious Desiases, 2006, Vol. 10 (4), pp. 293-303.
11. *The descriptive epidemiology of Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae nasopharyngeal carriage in children and adults in Kilifi District, Kenya.* **Abdullahi, Osman, et al.** Kenya : Pediatr Infect Dis J, 2008, Vol. 27 (1), pp. 59-64.
12. *NASOPHARYNGEAL COLONIZATION BY HAEMOPHILUS INFLUENZAE IN CHILDREN ATTENDING DAY-CARE CENTERS, IN RIBEIRÃO PRETO, STATE OF*

SÃO PAULO, BRAZIL. **Silva, Maria E. N., et al.** s.l. : Brazilian Journal of Microbiology, 2006, Vol. 37, pp. 33-38.

13. *Epidemiology of Nasopharyngeal Carriage of Neisseria meningitidis in Healthy Dutch Children.* **Bogaert, D., et al.** s.l. : Clinical Infectious Diseases, 2005, Vol. 40, pp. 899-902.

14. *Staphylococcus aureus nasal and hand carriage among students from a Portuguese Heath School.* **Marques, J, et al.** s.l. : British Journal of Biomedical Science, 2010.

15. *Orientações para a elaboração de um manual de boas práticas em bacteriologia.* **Jorge, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo.** s.l. : Programa Nacional de Controlo de Infecção - Ministério da Saúde, 2004.

16. *Highly Penicillin-Resistant Multidrug-Resistant Pneumococcus-Like Strains Colonizing Children in Oeiras, Portugal: Genomic Characteristics and Implications for Surveillance.* **Simões, Alexandra S., et al.** s.l. : JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 2010, Vol. 48, pp. 238-246.

17. *The microbiology of acute and chronic sinusitis and otitis media:a review.* **PB, van Cauwenberge, AM, Vander Mijnsbrugge e KJ., Ingels.** Bélgica : Eur Arch Otorhinolaryngol, 1993.