

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**PREVALÊNCIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE  
*Staphylococcus aureus* RESISTENTES À  
METICILINA (MRSA) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
DE SANTA MARIA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Mônica de Abreu Rodrigues**

**Santa Maria, RS, Brasil.**

**2013**

**PREVALÊNCIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE  
*Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA  
(MRSA) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA**

**Mônica de Abreu Rodrigues**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Rosmari Hörner**

**Santa Maria, RS, Brasil.**

**2013**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Rodrigues, Mônica de Abreu  
PREVALÊNCIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE  
Staphylococcus aureus RESISTENTES À METICILINA (MRSA) NO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA / Mônica de Abreu  
Rodrigues.-2013.  
66 p.; 30cm

Orientadora: Rosmari Hörner  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2013

1. Staphylococcus aureus 2. Resistência 3. Meticilina  
4. Prevalência I. Hörner, Rosmari II. Título.

---

© 2013

Todos os direitos autorais reservados a Mônica de Abreu Rodrigues. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.  
E-mail: mo17abreu@gmail.com

---

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado**

**PREVALÊNCIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA (MRSA) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA**

elaborada por  
**Mônica de Abreu Rodrigues**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Comissão Examinadora**

**Rosmari Hörner, Dra.**  
(Presidente/Orientadora)

**Daniel Ângelo Sganzerla Graichen, Dr.**(Co-orientador)

**Luciane Noal Calil, Dra.**(UFRGS)

**Maria do Carmo dos Santos Araújo, Dra.**(UFSM)

Santa Maria, 23 de agosto de 2013.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Anita e João Calisto, que deixaram de ser mestres, para me tornar uma mestra.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar sempre presente em minha vida, me mostrando sempre o caminho certo a seguir.

Aos meus pais, Anita e João Calisto, que me deram muito mais que a vida: ensinaram-me a ser a pessoa que sou hoje e a lutar por tudo aquilo que almejo. Obrigada pelas noites sem dormir, pelo amor incondicional, por terem me incentivado e permitido conquistar tudo o que tenho de bom na minha vida. Amo vocês mais do que tudo!

À professora Dra Rosmari Hörner, minha orientadora, pela oportunidade e pela confiança em mim depositada para a realização desta pesquisa. Agradeço por me orientar nas horas difíceis, com sabedoria e competência. Pelo aprendizado que me fez querer mais, e investir no meu projeto de doutorado.

Ao professor Dr Daniel Ângelo Sganzerla Graichen, meu co-orientador, que me ajudou a enxergar a ciência de uma forma diferente. Agradeço pela ajuda e pelos conhecimentos transmitidos.

Ao meu noivo Cristian, por sonhar comigo, antes mesmo do início da faculdade, em realizar esta etapa de nossas vidas. Por nunca me deixar desistir, por sempre estar ao meu lado.

Às minhas irmãs Leticia, Josana e Fernanda, sem esquecer os meus sobrinhos Natália e João Artur, que mesmo de longe sempre me deram forças para trilhar este caminho. Obrigada pelo amor, carinho e cumplicidade.

À minha amiga, ou melhor, minha nova irmã, Lívia Gindri, pelo companheirismo, pela amizade, pelos dias que passamos juntas, esboçando este trabalho, que hoje se tornou realidade. Com certeza este título também é seu!

A todos os colegas do Laboratório de Bacteriologia, por me ensinarem muito mais do que técnicas de identificação microbiológica: ensinaram-me a ser uma pessoa melhor, mais cuidadosa, mais atuante, mais humana. Obrigada pela amizade, em especial de Cláudia, Liliana, Maísa, Silvana, que sempre tinham uma palavra de carinho nas horas felizes e uma de conforto nas horas difíceis para me oferecer!

Agradeço também às minhas estagiárias, Aniélen e Camille, pela amizade e companheirismo sempre demonstrados no decorrer deste período. Não poderia

deixar de lembrar e agradecer por nossos dias de execução de técnicas, que muitas vezes, se estendiam até a noite chegar. A marca de vocês certamente se faz visível em minha dissertação.

Ao Hospital Universitário de Santa Maria e às farmacêuticas do Setor de Microbiologia do Laboratório de Análises Clínicas, que me proporcionaram executar este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, desta universidade, pelo apoio sempre concedido para a realização desta pesquisa.

Enfim, a todos os amigos que direta ou indiretamente contribuíram para que meu sonho se tornasse possível.

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas  
Universidade Federal de Santa Maria

### **PREVALÊNCIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA (MRSA) NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA**

AUTORA: MÔNICA DE ABREU RODRIGUES

ORIENTADORA: ROSMARI HÖRNER

CO-ORIENTADOR: DANIEL ÂNGELO SGANZERLA GRAICHEN

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 23 de agosto de 2013.

*Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) são relatados mundialmente como patógenos de elevada prevalência na etiologia de infecções, tanto nosocomiais como comunitárias. Este trabalho teve por objetivo determinar a prevalência dos MRSA no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), de 2007 a 2011, bem como avaliar o perfil de sensibilidade frente à vancomicina de isolados de MRSA, coletados de maio a dezembro de 2011. Analisaram-se retrospectivamente, dados clínicos de todos os pacientes diagnosticados com infecções por MRSA entre janeiro de 2007 e dezembro de 2011. Durante este período, 1.852 amostras de *S. aureus* foram isoladas no HUSM, sendo que 616 (33,3%) foram resistentes à oxacilina. Houve uma redução significativa nas taxas de prevalência deste patógeno que passou de 43,4% em 2007 para 33,9% em 2008, 30,4% em 2009, 28,1% em 2010 e 27,5% em 2011. As infecções foram mais prevalentes em pacientes do sexo masculino, com idades entre 41 e 70 anos, internados na Clínica Médica (16,28%), Unidade de Terapia Intensiva adulto (15,13%), Ambulatório (13%), Pronto Atendimento adulto (12,67%) e Clínica Cirúrgica (12,5%). Houve maior isolamento dos MRSA em amostras de sangue (16,9%), seguido de secreção traqueal (16,5%), urina (10,4%), escarro (8,7%), secreção de ferida operatória (8,1%) e de membro inferior (7,8%). Já para a determinação da sensibilidade à vancomicina, foram coletadas prospectivamente 125 amostras de *S. aureus* de maio a dezembro de 2011, das quais 31 (24,8%) foram MRSA. A concentração inibitória mínima (CIM) da vancomicina foi determinada através de metodologia convencional manual de microdiluição em caldo. A CIM mais frequente dentre todos os *S. aureus* foi a de 1 µg/mL, apresentada por 53,6% das cepas, enquanto que dentre os MRSA, houve maior frequência da CIM de 2 µg/mL (48,4%). Portanto todos os isolados pertencentes ao presente estudo foram sensíveis a este antimicrobiano de escolha para infecções causadas por cepas MRSA. Desta forma, diante das altas taxas de morbidade e mortalidade associadas a estas infecções, este estudo demonstrou a importância do reconhecimento da prevalência e do perfil de sensibilidade à vancomicina dos MRSA, para que medidas eficazes para o tratamento e controle dos MRSA sejam efetivadas.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus*. Resistência. Meticilina. Prevalência.



## ABSTRACT

Master's Dissertation  
Graduate Program in Pharmaceutical Sciences  
Federal University of Santa Maria

### **PREVALENCE AND PROFILE OF SENSITIVITY METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* (MRSA) IN UNIVERSITY HOSPITAL OF SANTA MARIA**

AUTHOR: MÔNICA DE ABREU RODRIGUES

GUIDANCE: ROSMARI HÖRNER

CO-ADVISOR: DANIEL ÂNGELO SGANZERLA GRAICHEN

Date and Place of Defence: Santa Maria, August 23<sup>th</sup>, 2013.

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are reported worldwide as a high prevalence of pathogens in the etiology of infections, both nosocomial and community. This study aimed to determine the prevalence of MRSA in the University Hospital of Santa Maria (HUSM), 2007-2011, as well as evaluating the sensitivity to vancomycin front of MRSA isolates collected from May to December 2011. We analyzed retrospectively the clinical data of all patients diagnosed with MRSA infections between January 2007 and December 2011. During this period, 1,852 samples of *S. aureus* foram isolated in HUSM, and 616 (33.3%) were resistant to oxacillin. There was a significant reduction in the prevalence rates of this pathogen which rose from 43.4% in 2007 to 33.9% in 2008, 30.4% in 2009, 28.1% in 2010 and 27.5% in 2011. Infections were more prevalent in male patients, aged 41 to 70 years, hospitalized in Medical clinic (16.28%), Adult Intensive Care Unit (15.13%), First Aid Post (13%), Adult Emergency Care (12.67%) and Surgery Clinic (12.5%). A greater isolation of MRSA in blood samples (16.9%), followed by tracheal aspirates (16.5%), urine (10.4%), sputum (8.7%), surgery wound secretion (8.1%) and lower limb secretion (7.8%). As for the determination of susceptibility to vancomycin, 125 samples from *S. aureus* were collected prospectively from May to December 2011, which 31 (24.8%) were MRSA. The minimum inhibitory concentration (MIC) of vancomycin was determined using a conventional methodology manual broth microdilution. The MIC most frequent among all *S. aureus* were the 1µg/mL, presented by 53.6% of the strains, whereas among MRSA, there was a higher frequency of MIC of 2 mg/mL (48.4%). Therefore all isolates belonging to this study were sensitive to this antimicrobial of choice for infections caused by MRSA strains. Thus, given the high rates of morbidity and mortality associated with these infections, this study demonstrated the importance of recognizing the prevalence and profile of susceptibility to vancomycin of MRSA so that effective measures for the treatment and control of MRSA to take effect.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*. Methicillin-resistance. Prevalence.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resistência mediada por plasmídeos e tranposons dos <i>S. aureus</i> .....	26
Tabela 2 – Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) da vancomicina das 125 amostras de <i>S. aureus</i> isolados de maio a dezembro de 2011, no HUSM.....	65
Tabela 3 - Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) da vancomicina das 31 amostras de MRSA isolados de maio a dezembro de 2011, no HUSM.....	65

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – <i>Staphylococcus aureus</i> em meio de cultura ágar sangue.....	16
Figura 2 – Mecanismo de resistência à penicilina pelo gene <i>blaZ</i> .....	22
Figura 3 – Mecanismo de ação da resistência à oxacilina pelo gene <i>mecA</i> .....	23
Quadro 1 – Principais infecções causadas por <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
Gráfico 1 – Prevalência dos MRSA isolados no HUSM, de maio a dezembro de 2011.....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	– <i>American Type Culture Collection</i>
BEC	– Clone Endêmico Brasileiro
BORSA	– <i>Borderline Oxacillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
CA-MRSA	– <i>Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
<i>Ccr</i>	– <i>Cassette Chromosome Recombinases</i>
CIM	– Concentração Inibitória Mínima
CLSI	– <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
G	– gramas
HA-MRSA	– <i>Healthcare-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> HUSM – Hospital Universitário de Santa Maria
Kb	– quilobase
LAC	– Laboratório de Análises Clínicas
<i>mecA</i>	– gene cromossômico responsável pela resistência à meticilina
<i>mecI</i>	– gene repressor do <i>mecA</i>
<i>mecR1</i>	– gene indutor do <i>mecA</i>
mg	– miligramas
MH	– Müller Hinton
mL	– mililitro
MODSA	– <i>Modified Penicillin Binding Protein Staphylococcus aureus</i>
MRSA	– <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina
MSSA	– <i>Staphylococcus aureus</i> sensíveis à meticilina
NaCl	– cloreto de sódio
<i>orfX</i>	– gene no qual os <i>SCCmec</i> estão integrados
ORSA	– <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à oxacilina
PBP	– Proteína Ligadora de Penicilina
PVL	– Panton-Valentine Leucocidina
<i>S. aureus</i>	– <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>SCCmec</i>	– Cassete Cromossômico Estafilocócico <i>mec</i>
SCoN	– <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
TSST-1	– toxina-1 da síndrome do choque tóxico
UFC	– unidades formadoras de colônia

UTI	– Unidade de Terapia Intensiva
<i>vanA</i>	– gene responsável pela resistência à vancomicina
VISA	– <i>Staphylococcus aureus</i> intermediários à vancomicina
VRE	– <i>Enterococcus</i> resistente à vancomicina
VRSA	– <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à vancomicina
$\beta$	– lactamases – beta-lactamases
$\beta$	– lactâmicos – classe de antimicrobianos beta-lactâmicos
$\mu\text{g}$	– microgramas
$\mu\text{L}$	– microlitro
$\mu\text{m}$	– micrômetro

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Material e métodos adicionais.....	60
Anexo 2 - Resultados e discussão adicionais.....	64

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>.....</b>	<b>16</b>
1.1.1 Características microbiológicas.....	16
1.1.2 Manifestações clínicas.....	17
1.1.3 Fatores de virulência e patogenicidade.....	19
<b>1.2 Resistência aos antimicrobianos.....</b>	<b>20</b>
<b>1.3 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à penicilina.....</b>	<b>21</b>
<b>1.4 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA).....</b>	<b>22</b>
1.4.1 Gene <i>mecA</i> e resistência à meticilina.....	23
1.4.2 <i>Staphylococcal Cassette Chromosome</i> (SCC <i>mec</i> ).....	24
1.4.2.1 SCC <i>mec</i> tipo I.....	25
1.4.2.2 SCC <i>mec</i> tipo II.....	25
1.4.2.3 SCC <i>mec</i> tipo III.....	26
1.4.2.4 SCC <i>mec</i> tipo IV.....	27
1.4.2.5 SCC <i>mec</i> tipo V.....	27
1.4.2.6 Outros tipos de SCC <i>mec</i> .....	28
1.4.3 MRSA hospitalar (HA-MRSA) e comunitário (CA-MRSA).....	28
1.4.4 Prevalência dos MRSA.....	30
<b>1.5 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à vancomicina.....</b>	<b>31</b>
<b>1.6 Justificativa.....</b>	<b>32</b>
<b>1.7 Objetivos.....</b>	<b>33</b>
1.7.1 Objetivo geral.....	33
1.7.2 Objetivos específicos.....	33
<b>2 MANUSCRITO - PREVALENCE OF METHICILLIN-RESISTANT <i>Staphylococcus aureus</i> AT A UNIVERSITY HOSPITAL IN SOUTHERN BRAZIL.....</b>	<b>35</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>35</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>36</b>

<b>Introduction.....</b>	<b>36</b>
<b>Materials and methods.....</b>	<b>37</b>
<b>Results.....</b>	<b>38</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>42</b>
<b>Literatura citada – References.....</b>	<b>45</b>
<b>3 CONCLUSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>60</b>



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 *Staphylococcus aureus*

### 1.1.1 Características microbiológicas

Os *Staphylococcus aureus* são bactérias Gram-positivas, oportunistas, descritos pela primeira vez na década de 1880, pelo cirurgião escocês Alexandre Ogston (SANTOS et al., 2007; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Pertencentes à família Staphylococcaceae (KONEMAN et al., 2008), apresentam-se na forma de cocos isolados, aos pares ou agrupados, na forma de “cachos de uva”, medindo de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$ . São microrganismos imóveis, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos e catalase positiva (BHATIA; ZAHOOOR, 2007; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Em meio sólido, as colônias de *S. aureus* são usualmente lisas e convexas, apresentando coloração dourada devido aos pigmentos carotenóides que se formam durante o seu crescimento e dão o nome à espécie (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).



Figura 1 – *Staphylococcus aureus* em meio de cultura ágar sangue.

Fonte: <http://biomedicinaemicro.blogspot.com.br/p/culturas-bacterianas.html>

São os membros mais conhecidos e virulentos do gênero *Staphylococcus* e se diferenciam das demais espécies por ser a única, dentre as que colonizam humanos, a produzir a enzima coagulase, sendo que o teste mais amplamente aceito e utilizado na rotina para a sua identificação laboratorial está baseado na atividade desta enzima (LOWY, 1998; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Os *S. aureus* encontram-se amplamente distribuídos no ambiente, tendo a capacidade de formar biofilmes sobre superfícies inanimadas, de resistir à dessecação, ao frio e de crescer em meios com elevadas concentrações de sais (NaCl a 10%), condições que lhes permitem permanecer viáveis por longos períodos (SANTOS et al., 2007; MATOUSKOVA; JANOUT, 2008; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Podem ser encontrados fazendo parte da microbiota da pele, axilas e mucosa das fossas nasais, orofaringe, trato gastrointestinal e trato genitourinário (LOWY, 1998; WERTHEIM et al., 2005; SANTOS et al., 2007; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010). Em neonatos se observa com frequência a colonização por *S. aureus* na pele e nas regiões umbilical e perianal (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010). A quebra da barreira cutânea natural, por cirurgias, traumas ou queimaduras, ou a diminuição da imunidade, passam a representar a principal causa de mudança de comportamento deste microrganismo, para o agente etiológico mais comum de infecções cutâneas (LOWY, 1998; SANTOS et al., 2007).

### 1.1.2 Manifestações clínicas

*S. aureus* são relatados como patógenos de elevada prevalência na etiologia das infecções humanas, tanto de origem hospitalar como comunitária (VIVONI et al., 2006; WANG et al., 2006; ALÓS et al., 2008; SIEVERT et al., 2008; HAVAEI et al., 2012). As infecções podem ocorrer mediante invasão direta e destruição tecidual ou serem decorrentes das toxinas que esta espécie produz (SANTOS et al., 2007; YOUNG; PRICE, 2008; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010). Podem provocar desde afecções cutâneas simples até infecções sistêmicas graves, como apresentado no Quadro 1 (LOWY, 1998; FEIL et al., 2003; BHATIA; ZAHOR, 2007; DEURENBERG et al., 2007; SANTOS et al., 2007; KONEMAN et al., 2008; YOUNG;

PRICE, 2008; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010; TURLEJ; HRYNIEWICZ; EMPEL, 2011; DONG et al., 2013).

<b>Infecções cutâneas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ celulite</li><li>➤ espinhas</li><li>➤ feridas</li><li>➤ foliculites</li><li>➤ furúnculos</li><li>➤ impetigo</li></ul>
<b>Infecções mediadas por toxinas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ intoxicações alimentares</li><li>➤ síndrome do choque tóxico (SST):</li><li>➤ síndrome da pele escaldada estafilocócica (SPEE)</li></ul>
<b>Infecções sistêmicas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ abscessos musculares e cerebrais</li><li>➤ artrite séptica</li><li>➤ bacteremia</li><li>➤ empiema</li><li>➤ endocardite</li><li>➤ meningite</li><li>➤ osteomielite</li><li>➤ pneumonia</li><li>➤ septicemia</li></ul>

Quadro 1 – Principais infecções causadas por *Staphylococcus aureus*

### 1.1.3 Fatores de virulência e patogenicidade

O potencial patogênico dos *S. aureus* reside na combinação de alguns fatores, tais como a produção de proteínas de superfície que interferem na sua adesão aos tecidos do hospedeiro; a virulência mediada pela produção de proteínas extracelulares, como enzimas hidrolíticas e toxinas específicas; seu caráter invasivo, caracterizado pela fácil multiplicação e disseminação nos tecidos; evasão da capacidade imune e facilidade de aquisição de genes de resistência aos antimicrobianos (BHATIA; ZAHOOOR, 2007; SANTOS et al., 2007; YOUNG; PRICE, 2008; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

As enzimas hidrolíticas produzidas têm papel fundamental na patologia das infecções por *Staphylococcus* spp.. A enzima coagulase, a mais importante para a identificação e diferenciação dos *S. aureus* dos *Staphylococcus* coagulase negativa (SCon), forma uma rede de fibrina que circunda o abscesso estafilocócico, de forma que a infecção fique localizada e os microrganismos protegidos da ação fagocítica dos leucócitos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Outras enzimas estafilocócicas importantes incluem a catalase, que converte o peróxido de hidrogênio em oxigênio e água; a hialuronidase, que favorece a disseminação dos *S. aureus* nos tecidos, através da hidrólise dos ácidos hialurônicos e mucopolissacarídeos dos tecidos conectivos; a fibrolisina, que dissolve coágulos de fibrina; a penicilinase que hidrolisa a penicilina; as nucleases e as lipases (BHATIA; ZAHOOOR, 2007; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010).

Outros fatores de virulência importantes são as toxinas produzidas pelos *S. aureus*, dentre as quais se destacam (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010):

- toxinas citolíticas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), delta ( $\delta$ ), gama( $\gamma$ ) e leucocidina Panton-Valentine (PVL), que causam dano na membrana citoplasmática de leucócitos, eritrócitos, plaquetas, macrófagos e fibroblastos do hospedeiro através de lise osmótica;
- toxinas esfoliativas A e B, que mediam um espectro de enfermidades caracterizado por dermatite esfoliativa, como a síndrome da pele escaldada estafilocócica;
- enterotoxinas (A, B, C, D, E, G, H, I), estáveis em altas temperaturas (100°C) e resistentes à hidrólise de enzimas gástricas e intestinais;

- toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1), considerada um superantígeno que estimula a liberação de citocinas e provoca extravasamento nas células endoteliais. A capacidade da TSST-1 de atravessar as barreiras mucosas, provoca os efeitos sistêmicos da síndrome do choque tóxico, que pode levar o paciente à morte devido ao choque hipovolêmico e insuficiência de múltiplos órgãos.

## 1.2 Resistência aos antimicrobianos

O aumento na prevalência da resistência aos antimicrobianos, associado ao seu uso indiscriminado, vem resultando em cada vez menos opções terapêuticas suficientes para combater algumas infecções bacterianas (HOERLLE; BRANDELLI, 2009). A resistência é na maioria das vezes, adquirida a partir de fontes externas, por transferência horizontal de genes e frequentemente envolve a inativação ou a destruição da droga, sendo transmitida por plasmídeos e transposons. No entanto, as mutações cromossômicas, que geram alteração no sítio de ação, bem como as pressões seletivas aos antibióticos também são importantes (BERNARD et al., 2004; LIMA et al., 2005; CHAMBERS; DELEO, 2009).

Os *S. aureus* podem exemplificar melhor do que qualquer outro agente patogênico a evolução adaptativa sofrida pelas bactérias na era dos antibióticos. Possui uma capacidade única em desenvolver rapidamente resistência a cada novo antimicrobiano lançado como alternativa às infecções estafilocócicas, como o que ocorreu no passado, com a penicilina e a meticilina, até mais recentemente, com a vancomicina, linezolida e daptomicina (PANTOSTI; SANCHINI; MONACO, 2007; PÉRICHON; COURVALIN, 2009). A prevalência de *S. aureus* resistente aos antibióticos convencionais vem, há anos, aumentando a níveis alarmantes em alguns hospitais (MANZUR et al., 2007; PARK et al, 2007).

### 1.3 *Staphylococcus aureus* resistente à penicilina

Descoberta por Alexander Fleming, a penicilina foi empregada com sucesso na terapia anti-estafilocócica, no início da década de 40 (CHAMBERS; DELEO, 2009), a qual contribuiu consideravelmente para a redução das altas taxas de mortalidade causada pelos *S. aureus* (DEURENBERG et al., 2007; MATOUSKOVA; JANOUT, 2008).

No entanto, logo após a sua introdução na prática clínica, foram descritas as primeiras cepas que passaram a desenvolver resistência a esse  $\beta$ -lactâmico, em hospitais, o que limitou o uso da penicilina e seus derivados nos anos subsequentes (RAMMELKAMP; MAXON, 1942; KIRBY, 1944; CHAMBERS, 2001; RICE, 2006; DEURENBERG et al., 2007; CHAMBERS; DELEO, 2009; SOUZA, 2011). Em apenas dez anos, tornou-se um problema significativo também na comunidade, sendo que no final da década de 60, já havia se tornado uma pandemia, e mais de 80% dos isolados de *Staphylococcus* spp. se mostravam resistentes à penicilina (CHAMBERS, 2001; DEURENBERG et al., 2007; CHAMBERS; DELEO, 2009). Atualmente, a maioria das cepas de *S. aureus* é resistente à penicilina (GARCÍA-SÁNCHEZ et al, 2012).

Esta resistência é mediada pelo gene plasmidial *blaZ* que codifica a produção de  $\beta$ -lactamases (penicilinasas), as quais hidrolisam e inativam o anel  $\beta$ -lactâmico da penicilina, essencial para sua atividade antimicrobiana (LOWY, 2003; CHAMBERS; DELEO, 2009). As  $\beta$ -lactamases são enzimas que atuam no conteúdo extracelular e são sintetizadas quando os *Staphylococcus* spp. são expostos a esta classe de drogas (LOWY, 2003).

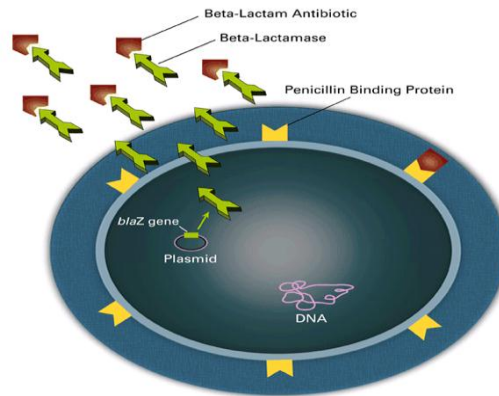


Figura 2 – Mecanismo de resistência à penicilina pelo gene *blaZ*.  
 Fonte: <http://depts.washington.edu/hivavids/derm/case6/discussion.html>

#### 1.4 *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA)

Eventos significativos na evolução dos *S. aureus* vêm ocorrendo desde a introdução da penicilina na terapia de infecções estafilocócicas. A resistência à metilina, sem dúvida, representa, ainda hoje, um grave problema de saúde pública ao redor do mundo, tanto a nível hospitalar, quanto na comunidade (REYES et al., 2009; SHORE et al., 2011; TURLEJ; HRYNIEWICZ; EMPEL, 2011).

Objetivando o tratamento das infecções causadas por cepas resistentes, foram desenvolvidas as penicilinas  $\beta$ -lactamase estáveis, resistentes à hidrólise por estas enzimas, representadas pela metilina e oxacilina (RICE, 2006; SANTOS et al., 2007; SOUZA, 2011). A metilina foi introduzida na terapia em 1959 na Europa e dois anos depois nos Estados Unidos (RICE, 2006; SANTOS et al., 2007). Porém, já em 1961, começaram a surgir cepas de *S. aureus* resistentes à metilina/oxacilina, denominadas MRSA/ORSA, que se disseminaram rapidamente, em vários países (BARBER, 1961; JEVONS, 1961; RICE, 2006; SANTOS et al., 2007; HAVAEI et al., 2012).

### 1.4.1 Gene *mecA* e resistência à meticilina

Os *S. aureus* possuem cinco proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), que participam da etapa final da síntese da parede bacteriana, localizadas na membrana celular. As PBPs 1, 2 e 3 são essenciais e têm alta afinidade por antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, unindo-se a eles por ligações covalentes (MENEGOTTO; PICOLI, 2008; SOUZA, 2011).

A resistência à oxacilina se deve à presença do gene *mecA*, que codifica a produção PBPs adicionais e alteradas, denominadas PBP2a ou PBP2', que possuem baixa afinidade pelos  $\beta$ -lactâmicos e conseguem manter a síntese da parede celular, mesmo na presença de altas doses desses antimicrobianos (UTSUI; YOKOTA, 1985; CHAMBERS, 1988; CHAMBERS, 2001; BOYLE-VAVRA et al., 2003; ROHRER; MAKI; BERGER-BÄCHI, 2003; DEURENBERG et al., 2007; SANTOS et al., 2007; CHAMBERS; DELEO, 2009; SOUZA, 2011).

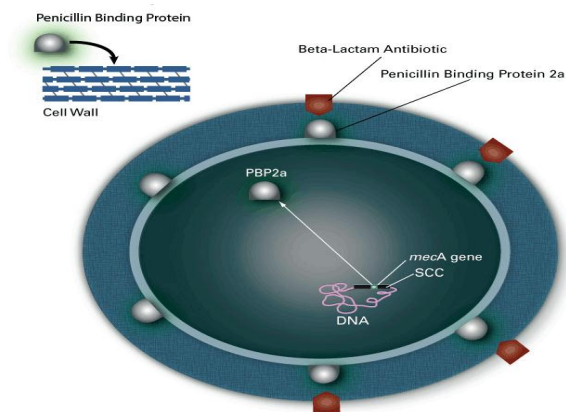


Figura 3 – Mecanismo de ação da resistência à oxacilina pelo gene *mecA*.

Fonte: <http://depts.washington.edu/hivaid/derm/case6/discussion.html>

O gene *mecA* é carregado em um elemento genético móvel denominado cassete cromossômico estafilocócico *mec* (*Staphylococcal Cassette Chromosome - SCCmec*) (UTSUI; YOKOTA, 1985; LOWY, 2003; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009), responsável pela resistência intrínseca dos *S. aureus* a todos os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, que incluem todas as penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e



carbapenêmicos (CHAMBERS, 1988; CHAMBERS; DELEO, 2009; SOUZA, 2011). Os SCCmec podem também conter outras estruturas, como transposons e plasmídeos, os quais conferem resistência a outras classes de antimicrobianos (ITO; HIRAMATSU, 1998; RICE, 2006).

Outros mecanismos mais raros de resistência à meticilina/oxacilina podem ser encontrados em cepas de *S. aureus* com resistência *boderline* à oxacilina (*Borderline Oxacillin Resistant Staphylococcus aureus* - BORSA), plasmídeo-mediadas, que se caracterizam pela hiperprodução de  $\beta$ -lactamases. Há também cepas conhecidas como *Modified Penicillin Binding Protein Staphylococcus aureus* (MODSA), que produzem PBPs modificadas, que não a PBP2a. Tanto BORSA quanto MODSA possuem graus variados de afinidade pelos  $\beta$ -lactâmicos e ausência do gene *mecA* em seus cromossomos bacterianos (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; SANTOS et al., 2007; SANTHOSH et al., 2008).

Os MRSA são resistentes à maioria dos  $\beta$ -lactâmicos, excetuando o ceftobiprole, uma nova cefalosporina de amplo espectro, e o razupenem, um novo carbapenêmico. Ambos os fármacos apresentam ação anti-MRSA (LIVERMORE; MUSHTAQ; WARNER, 2009; DAUNER; NELSON; TAKETA, 2010).

#### 1.4.2 *Staphylococcal Cassette Chromosome (SCCmec)*

No ano de 2001, a descoberta de que o gene *mecA* encontra-se sempre dentro de um elemento genético móvel contribuiu consideravelmente para a compreensão da resistência à meticilina. Este avanço na biologia dos MRSA forneceu uma ferramenta adicional no que diz respeito às relações evolutivas entre estas cepas (ITO et al., 2001; CHAMBERS; DELEO, 2009).

Os SCCmec estão integrados dentro do *orfX*, um gene dos *S. aureus*, com função ainda desconhecida (CHAMBERS; DELEO, 2009). Além do complexo do gene *mec*, os SCCmec são formados por algumas sequências de inserção (IS431), como os genes regulatórios *mecR1*, indutor do gene *mecA*, e *mecl*, repressor do gene, como também o complexo do gene *ccr* (*cassette chromosome recombinases*), localizados em todos os elementos SCCmec, que codificam a produção de recombinases, responsáveis pela integração, excisão e mobilidade deste elemento

no genoma dos *S. aureus* (ITO et al., 2001; ITO et al., 2004; CHAMBERS; DELEO, 2009; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Ainda integra este elemento móvel as regiões *junkyard* (J) (ITO et al., 2001; MA et al., 2002).

O tipo de SCC*mec* é determinado pelo complexo *mec* e pelo gene *ccr* (ITO et al., 2001; CHAMBERS; DELEO, 2009; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Até o momento, onze tipos de SCC*mec* (I-XI) já estão descritos na literatura, diferenciando-se entre si pelo seu tamanho e estrutura (ITO et al., 2001; MA et al., 2002; ITO et al. 2004; OLIVEIRA; MILHEIRIÇO; LENCASTRE, 2006; BERGLUND et al., 2008; HIGUCHI et al., 2008; REINERT et al., 2008; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009; ZHANG et al., 2009; LI et al., 2011; SHORE et al., 2011).

#### 1.4.2.1 SCC*mec* tipo I

O primeiro MRSA carreador do SCC*mec* tipo I (34.3 kb), foi reportado no Reino Unido, em 1960, e se disseminou ao redor do mundo no decorrer daquela década. Contém o gene *mecA* como o único determinante de resistência (ITO et al., 2001; ZETOLA et al., 2005).

Denominado clone Arcaico, foi a cepa mais estudada e de maior sucesso dentre todas as linhagens MRSA (JEVONS, 1961; CHAMBERS; DELEO, 2009; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Outro clone, bastante conhecido, que carrega SCC*mec* tipo IA é o clone Ibérico, uma variante do clone arcaico (CHAMBERS; DELEO, 2009).

#### 1.4.2.2 SCC*mec* tipo II

O primeiro carreador do SCC*mec* tipo II (53.0 kb) foi isolado no Japão, em 1982, conhecido como clone New York/Japão (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Outro clone, o EMRSA-16, também carrega este tipo de SCC*mec* (SOUSA et al., 2005; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009).

Contém múltiplos determinantes de resistência aos antibióticos não  $\beta$ -lactâmicos e é responsável pelo perfil multirresistente, comumente encontrado em isolados de MRSA nosocomiais (ITO et al., 2001; ZETOLA et al., 2005), já que contém genes de resistência adicionais integrados em plasmídeos (pUB110, pl258 e pT181) e transposons (Tn554), conforme demonstrado na Tabela 1 (DEURENBERG et al., 2007).

Tabela 1 – Resistência mediada por plasmídeos e transposons dos *S. aureus*

<b>Estrutura</b>	<b>Gene</b>	<b>Resistência</b>	<b>SCCmec</b>
pUB110	<i>ant(4')</i>	aminoglicosídeos, canamicina, tobramicina e bleomicina	tipos II e III
pl258	<i>merA</i>	penicilinas e metais pesados	tipo III
pT181	<i>terK</i>	tetraciclina	tipo III
Tn554	<i>ermA</i>	macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas	tipos II e III

#### 1.4.2.3 SCCmec tipo III

Em 1985, na Nova Zelândia foi isolada a primeira cepa de MRSA carreadora de SCCmec do tipo III (66.9 kb) (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Assim como o tipo II, este tipo de cassete apresenta determinantes de resistência a múltiplas drogas utilizadas na terapia antiestafilocócica, tipicamente encontrados em cepas hospitalares (ITO et al., 2001; ZETOLA et al., 2005; DEURENBERG et al., 2007; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009).

Porém, muito provavelmente devido ao seu maior tamanho, a transferência horizontal dos SCCmec tipos II e III ocorre menos facilmente quando comparada ao tipo IV (ITO et al., 2001; MA et al., 2002; ZETOLA et al., 2005). O espalhamento de cepas MRSA carreando estes elementos ocorre principalmente como resultado da

pressão seletiva dos antibióticos e a exposição por longos períodos (transferência vertical) (ZETOLA et al., 2005).

O clone Endêmico Brasileiro (BEC), carreador de SCC*mec* tipo III (CHAMBERS; DELEO, 2009), é o clone circulante mais prevalente dentre os hospitais brasileiros, como também na América do Sul e Europa (SENNÁ et al., 2003; VIVONI et al., 2006; PEREZ; D'AZEVEDO, 2008; CAMPOS et al., 2012).

#### 1.4.2.4 SCC*mec* tipo IV

Desde o início da década de 90, vários clones MRSA adquiridos na comunidade com SCC*mec* tipo IV foram descritas ao redor do mundo (MA et al., 2002; ITO et al., 2004; ZETOLA et al., 2005; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009), tais como o clone Pediátrico, o EMRSA-15, o MRSA Berlin, entre outros (CHAMBERS; DELEO, 2009; MIMICA, 2013).

São tipicamente susceptíveis a múltiplos antimicrobianos, com padrões de susceptibilidade aos antibióticos não  $\beta$ -lactâmicos bastante semelhantes às de cepas de *S. aureus* sensíveis à meticilina (MSSA), já que o único gene de resistência carregado por este cassete é o *mecA* (ITO et al., 2001; MA et al., 2002; ZETOLA et al., 2005; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009).

Devido ao seu menor tamanho (20.9–24.3 kb), quando comparado com os tipos II e III, são possivelmente mais móveis, o que confere uma vantagem evolutiva na pressão relacionada aos antibióticos no ambiente hospitalar, e a possibilidade de se disseminarem rapidamente na comunidade (COHEN, 2007).

#### 1.4.2.5 SCC*mec* tipo V

A primeira cepa MRSA carreadora do tipo V (28 kb) foi descrita na Austrália, em 2004 (ITO et al., 2004; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Codificam exclusivamente resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (DEURENBERG et al.,

2007), e assim como o tipo IV, estão mais envolvidos em infecções comunitárias de pele e tecidos moles (CHAMBERS; DELEO, 2009).

#### 1.4.2.6 Outros tipos de SCC*mec*

O SCC*mec* tipo VI foi primeiramente detectado em Portugal (OLIVEIRA; MILHEIRIÇO; HERMÍNIA, 2006), enquanto cepas carreadoras do tipo VII, na Suécia (BERGLUND et al., 2008; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009).

Os tipos IX e X foram descritos por Li e colaboradores (2011), apresentando resistência a metais. O tipo XI, isolado na Irlanda, foi recentemente caracterizado (SHORE et al., 2011).

#### 1.4.3 MRSA hospitalar (HA-MRSA) e comunitário (CA-MRSA)

Diferenças significativas existentes entre HA-MRSA e CA-MRSA podem ser citadas, como a susceptibilidade aos antimicrobianos, a tipagem dos SCC*mec*, a distribuição dos genes de resistência, bem como os fatores de risco associados à infecção por MRSA (DRYDEN, 2008).

Desde o seu surgimento, as cepas MRSA prevaleceram de maneira significativa em populações adulta e pediátrica no ambiente hospitalar e se tornaram um desafio na terapia antimicrobiana, pelo seu perfil de multirresistência (LOWY, 1998; DEURENBERG et al., 2007).

Fatores de risco associados à colonização ou infecção por MRSA incluem (CHAMBERS, 2001; SALGADO; FARR; CALFFE, 2003; COHEN, 2007; KLEVENS et al., 2007):

- hospitalização ou cirurgia recente (um ano antes da identificação do MRSA);
- imunossupressão;
- isolamento prévio de MRSA;

- admissão em unidades de terapia intensiva;
- consulta médica em ambiente hospitalar;
- convivência com profissionais de saúde ou pacientes colonizados por MRSA;
- doenças crônicas;
- terapia com antimicrobianos nos últimos 12 meses;
- presença de cateter percutâneo no momento da coleta da amostra;
- diálise;
- ventilação mecânica, tubo endotraqueal, nasogástrico ou traqueostomia.

Infecções por cepas MRSA, na ausência de fatores de risco, adquiridas com menos de 48 horas de internação hospitalar têm sido relatadas como sendo causadas por CA-MRSA (HIDRON et al., 2005; LEUNG et al., 2012). Cepas comunitárias também podem ser identificadas através de suas características genéticas, carreando *SCCmec* tipos IV, V e VII, resistentes somente aos  $\beta$ -lactâmicos, e pela presença da toxina PVL, uma vez que apenas 5% dos isolados produtores desta enzima não carregam *SCCmec* tipo IV, e sim os tipos I, II ou III (VANDENESCH, et al., 2003; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2008).

A rapidez e a extensão com que as cepas CA-MRSA se espalharam têm sido notável. Além dos Estados Unidos, têm sido reportadas no Canadá, Ásia, Austrália, América do Sul e em todo o continente europeu (CHAMBERS; DELEO, 2009). Infecções generalizadas e de tecidos, como fascite e pneumonia necrotizantes, que têm sido associadas com cepas CA-MRSA, raramente eram vistas antes de seu surgimento (FRANCIS et al, 2005;. GONZALEZ et al, 2005; CHAMBERS; DELEO, 2009; KALLEN et al, 2009).

Ao contrário, os HA-MRSA geralmente carregam os *SCCmec* tipo I, II e III, também apresentam resistência à outras classes de drogas utilizadas no tratamento de infecções estafilocócicas, como a clindamicina, eritromicina, tetraciclina, gentamicina e sulfametoxazol-trimetoprima, restringindo as opções para o tratamento destas infecções (ITO et al., 2001; ZETOLA et al., 2005; DEURENBERG et al., 2007; DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009).

#### 1.4.4 Prevalência dos MRSA

As infecções causadas por MRSA há muito tempo se tornaram um problema de saúde pública (VAN HAL; LODISE; PATERSON, 2012). Nas últimas décadas, um contínuo e significativo aumento na sua prevalência tem sido observado em todo o mundo (ALÓS et al., 2008; SIEVERT et al., 2008, SHORE et al., 2011). Em 2005, nos Estados Unidos causaram maior número de mortes que infecções pelo vírus HIV e mais infecções invasivas que outras bactérias patogênicas importantes, como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis* (KLEVENS et al., 2007; CAMARGO; GILMORE, 2008).

No Brasil, o aumento na incidência de infecções por MRSA nos hospitais brasileiros, nos últimos anos, também vem se tornando problemático (BRITES; SILVA; SAMPAIO-SÁ, 2006). A prevalência das infecções causadas por cepas MRSA depende do material clínico e da região do país de onde foi isolado este patógeno. Os índices de cepas MRSA em hospitais brasileiros variam de 40% a 80%, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) (SANTOS et al., 2007).

Em estudo realizado por Brites, Silva e Sampaio-Sá (2006), em hospital terciário de Salvador (BA), durante nove anos, a prevalência de MRSA foi de 28% (BRITES; SILVA; SAMPAIO-SÁ, 2006). Já em Manaus (AM), de 1998 a 2007, Ferreira e colaboradores (2009) encontraram uma prevalência de 44% (FERREIRA et al., 2009). Em 2006, a prevalência de MRSA detectada por Perez e colaboradores, em três hospitais de Porto Alegre foi de 41,3% (PEREZ et al., 2007).

Em países europeus a prevalência dos MRSA varia desde menos de 5% na Dinamarca, Suíça, Finlândia, até mais de 24% na Espanha, Reino Unido e Portugal (ECDC, 2009; DULON et al., 2011), enquanto nos EUA estas podem alcançar 38,2% (JARVIS; JARVIS; CHINN, 2012).

### 1.5 *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina

A vancomicina é um antimicrobiano pertencente ao grupo dos glicopeptídeos. Desenvolvida em 1956, como uma das alternativas para o tratamento de infecções causadas por cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes à penicilina, deixou de ser usada com a descoberta da meticilina e oxacilina e por apresentar graves efeitos colaterais, principalmente ototoxicidade e nefrotoxicidade (LEVINE, 2006; SANTOS et al., 2007; RYBAK et al., 2009; FUCHS; WANNMACHER, 2010; DHAND; SAKOULAS, 2012). A vancomicina ficou limitada para uso somente em pacientes alérgicos aos  $\beta$ -lactâmicos (LEVINE, 2006).

Porém, com o surgimento de cepas MRSA, verificou-se que somente a vancomicina tinha boa atividade sobre muitas destas cepas (SORIANO et al., 2008, FUCHS; WANNMACHER, 2010). Adequações na sua síntese e purificação reduziram consideravelmente os efeitos adversos, antes apresentados (LEVINE, 2006; FUCHS; WANNMACHER, 2010). Atualmente, é o antibiótico de escolha para tratamento de infecções por MRSA (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; BHATEJA, et al, 2006; CUI et al., 2006; SANTOS et al., 2007; ALÓS et al, 2008; PÉRICHON; COURVALIN, 2009; RYBAK et al., 2009; FUCHS; WANNMACHER, 2010; WELSH et al., 2011; DHAND; SAKOULAS, 2012; HAVAEI et al., 2012; ROJAS et al., 2012).

A vancomicina desempenha sua ação bactericida atuando sobre a parede celular, onde reconhece e liga-se à terminação D-alanina-D-alanina, inibindo sua incorporação no peptidoglicano crescente da parede celular, o que provoca a destruição da célula por lise (LOWY, 2003; FUCHS; WANNMACHER, 2010). Além disso, acredita-se também que a vancomicina influencie na síntese proteica e que possa alterar o protoplasma bacteriano, o que pode explicar os baixos níveis de resistência a este glicopeptídeo (FUCHS; WANNMACHER, 2010).

Em 1988, o primeiro isolado de *Enterococcus faecium* com resistência à vancomicina (VRE) foi relatado na França (LECLERQ et al., 1988) e no decorrer da década de 90, se difundiram amplamente pelo mundo (FUCHS; WANNMACHER, 2010). Com isso, cresceu a preocupação que o gene *vanA*, que mediava alto nível de resistência à vancomicina em enterococos, pudesse ser transferido para *S. aureus*, o que foi demonstrado em laboratório, por Noble, Virani e Cree (1992).



Os mecanismos de resistência propostos para *Staphylococcus aureus* intermediários à vancomicina (VISA) e *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina (VRSA) são diferentes entre si. Em cepas VISA, há alteração na fisiologia celular, resultante de efeitos cumulativos de mutações e/ou modulação dos sistemas regulatórios (SIERADZKI; TOMASZ, 2003; SIERADZKI; TOMASZ, 2006). Possuem a parede celular mais espessa, com mais camadas de peptidoglicanos, quando comparada aos isolados sensíveis. Dessa forma, muitos resíduos D-alanina-D-alanina ficam dentro destas camadas adicionais, não ficando disponíveis para a ligação da vancomicina (HIRAMATSU, 2001; SIERADZKI; TOMASZ, 2003; CUI et al., 2006; SIERADZKI; TOMASZ, 2006; PÉRICHON; COURVALIN, 2009).

Em 1996, surgiram no Japão os primeiros isolados de *S. aureus* com resistência intermediária à vancomicina (HIRAMATSU et al., 1997) e desde então outras cepas de VISA já foram relatadas em várias partes do mundo (KRALOVIC; DANKO; ROSELLE, 2002; FUCHS; WANNMACHER, 2010; HAVAEI et al., 2012).

Já as cepas VRSA possuem em seu DNA o gene *vanA*, transferido de VRE (SIEVERT et al., 2008). A resistência à vancomicina apresentada pelo VRSA é causada por alteração no peptídeo terminal para D-alanina-D-lactato no lugar de D-alanina-D-alanina, impedindo que a vancomicina se ligue ao sítio alvo (HIRAMATSU, 2001; LOWY, 2003; PÉRICHON; COURVALIN, 2009).

A resistência à vancomicina em *S. aureus* (VRSA) foi primeiramente reportada em 2002, nos Estados Unidos e desde então, quinze cepas de VRSA estão documentadas nos EUA, Irã e Índia (TENOVER; McDONALD, 2005; CDC, 2012; HAVAEI et al., 2012). No Brasil, ainda não se encontraram relatos de cepas VRSA.

## 1.6. Justificativa

Diversos estudos ao redor do mundo vêm demonstrando o aumento na incidência de infecções por *S. aureus*, em especial de cepas resistentes à meticilina, que se espalharam rapidamente tanto no ambiente hospitalar quanto na

comunidade. Na grande maioria dos casos, a terapia de escolha para o tratamento dessas infecções tem se limitado à vancomicina.

No Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), hospital-escola referência para a região central do Rio Grande do Sul, que atende a 30 municípios, os índices atualizados de prevalência deste patógeno são desconhecidos.

Diante das altas taxas de morbimortalidade associadas a infecções por MRSA, a determinação da sua prevalência, bem como do seu perfil de sensibilidade à vancomicina se fazem necessários para o conhecimento das características clínicas destas cepas resistentes, para que medidas eficazes para o tratamento, prevenção e controle da disseminação dos MRSA sejam efetivadas.

## **1.7. Objetivos**

### **1.7.1 Objetivo geral**

- Determinar a prevalência dos *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA), de 1º de janeiro de 2007 a 31 de dezembro de 2011, no Hospital Universitário de Santa Maria, Santa Maria, RS.

### **1.7.2 Objetivos específicos**

- Determinar a prevalência dos MRSA, individualmente, em cada ano estudado;
- Avaliar o total de isolados de *S. aureus*, bem como de *S. aureus* sensíveis à metilina (MSSA) isoladas de 2007 a 2011;
- Verificar a idade e sexo mais prevalentes dos pacientes acometidos por infecções por MRSA;
- Avaliar em quais unidades hospitalares houve maior isolamento de MRSA, no período estudado;

- Identificar os materiais clínicos de isolamento dos MRSA mais prevalentes;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente à vancomicina dos isolados de *S. aureus* coletadas no HUSM de maio a dezembro de 2011.

## 2. MANUSCRITO

### **Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a University Hospital in southern Brazil**

### **Prevalência de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em Hospital Universitário do sul do Brasil**

**Mônica de Abreu Rodrigues<sup>1</sup>, Lívia Gindri<sup>2</sup>, Aniélen Dutra da Silva<sup>3</sup>,  
Camille Gaube Guex<sup>3</sup>, Máisa Kräulich Tizotti<sup>1</sup>, Silvana Oliveira dos Santos<sup>2</sup>,  
Rosmari Hörner<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Doctor's Graduation Student at the Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, UFSM, Brazil

<sup>2</sup>Master's Graduate of the Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Santa Maria (UFSM), Brazil

<sup>3</sup>Graduate Student at the School of Biological Sciences, UFSM, Brazil

<sup>4</sup>Associate Professor of the Department of Clinical and Toxicological Analyses, UFSM, Brazil

Correspondence: Rosmari Hörner, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, nº 1000, CEP: 97105-900, Cidade Universitária, Camobi, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: rosmari.ufsm@gmail.com

## **ABSTRACT**

The methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) stand out worldwide as one of the most common nosocomial and community pathogens. The data of all patients infected with MRSA were retrospectively analyzed over a period of five years at a tertiary hospital in southern Brazil. Approximately one third of the *S. aureus* isolates were MRSA and its prevalence presented a descending order in the years of this study (2007-2011). The highest rates of isolations occurred in samples of blood and tracheal aspirates, whose patients were aged between 41 and 70 years.

Infections were prevalent in male patients admitted to the Medical Clinic and adult ICU. Currently in developed countries a major concern is the increase of infections by community-acquired MRSA (CA-MRSA), but data in developing countries are scarce. Studies such as this become important for the recognition of resistant pathogens such as MRSA and for determining its prevalence.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; methicillin resistance, prevalence, ICU.

## RESUMO

Os *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) destacam-se mundialmente como um dos mais frequentes patógenos nosocomiais e comunitários. Os dados de todos os pacientes infectados por MRSA foram analisados retrospectivamente, durante um período de cinco anos, em hospital terciário no sul do Brasil. Aproximadamente 1/3 dos *S. aureus* isolados foram MRSA, e sua prevalência apresentou ordem decrescente nos anos deste estudo (2007 a 2011). As maiores taxas de isolamentos ocorreram em amostras de sangue e secreção traqueal, cujos pacientes se encontravam na faixa etária entre 41 a 70 anos. As infecções prevaleceram em pacientes do sexo masculino, internados na Clínica Médica e UTI adulto. Atualmente nos países desenvolvidos uma das maiores preocupações é o aumento das infecções por MRSA adquiridos na comunidade (CA-MRSA), porém os dados nos países em desenvolvimento são escassos. Estudos como este, se tornam importantes para o reconhecimento de patógenos resistentes, como o MRSA, e para a determinação da sua prevalência.

## INTRODUCTION

*Staphylococcus aureus* is recognized worldwide as one of the main responsible ones for a wide spectrum of infections, including septicemia, pneumonia,

infections of skin and soft tissues<sup>4</sup>. It is considered a major etiological agent of nosocomial and community-acquired infections<sup>9</sup>. The emergence of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has become a major challenge due to the increasing prevalence of infections caused in the hospital environment and those acquired in the community<sup>1</sup>.

MRSA was first reported in hospitals (health care-associated MRSA – HA-MRSA) in the United Kingdom in 1961 and spread to several health institutions worldwide<sup>3,13</sup>. In the hospital setting colonization or infection with MRSA was associated with risk factors such as hospitalization or recent surgery, chronic diseases, presence of catheter, among others.

After two decades, there were the first cases of community-acquired MRSA (CA-MRSA)<sup>17,18</sup>, and, since 1990, an increase in the incidence of infections by CA-MRSA has been reported in many countries<sup>3,21</sup>. The emergence of the infections caused by this microorganism in the absence of risk factors signaled the start of a public health problem<sup>19</sup>.

In Europe, the MRSA are among the most multiresistant bacteria involved in infections related to health care<sup>7</sup>. In the United States and Latin America, this microorganism is the main bacteria agent involved in nosocomial infections, with increasing involvement in the prevalence of community-acquired infections<sup>24,10</sup>.

The aim of our study was to determine the prevalence of MRSA in different clinical specimens, using a retrospective analysis of the bacteriological tests required in a tertiary university hospital.

## **MATERIALS AND METHODS**

This retrospective study was conducted by consulting the database of the Laboratory of Microbiology of the University Hospital of Santa Maria (HUSM), which has 291 inpatient beds, being 37 intensive care beds, located in the city of Santa Maria, in southern Brazil. This hospital is a tertiary hospital, which serves 30 municipalities in the central region of the Rio Grande do Sul (RS) state.

Data from all cultures that showed growth of *S. aureus* were analyzed from January 1<sup>st</sup>, 2007 to December 31<sup>st</sup>, 2011.

**Inclusion criteria of samples of MRSA:**

All isolates of *S. aureus* were resistant to oxacillin and / or ceftazidime were considered MRSA, determined by the use of conventional phenotypic methodology, by the disc diffusion assay technique (Kirby-Bauer), and confirmed by the automated phenotypic methodology (MicroScan® – Siemens), according to the standards established by the *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) prevailing in each year.

Only the first bacterial sample of *S. aureus* isolated from each patient was used in this study.

**Ethics Committee**

This study was submitted to the Committee on Ethics in Research (CEP) of Federal University of Santa Maria, approved under number 01170243000-08.

**Statistical analysis**

The experimental data were evaluated by the chi-square test, where a p-value < 0.05 was considered statistically significant.

**RESULTS**

During the five years of this study (2007-2011), 1,852 samples of *S. aureus* were isolated. Of these, 616 (33.3%) were resistant to oxacillin (MRSA). The prevalence of the MRSA, as well as of the oxacillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) in

each year can be noted in Table 1. The annual prevalence profile of the MRSA is represented in Chart 1.

Table 1 – Prevalence of the MRSA and MSSA isolated at HUSM, from 2007 to 2011

	MRSA		MSSA		Total (%)
	n (total)	%	n (total)	%	
2007	181	43,4	236	56,6	417 (100)
2008	149	33,9	290	66,1	439 (100)
2009	104	30,4	238	69,6	342 (100)
2010	95	28,1	243	71,9	338 (100)
2011	87	27,5	229	72,5	316 (100)
Total	616		1.236		1.852

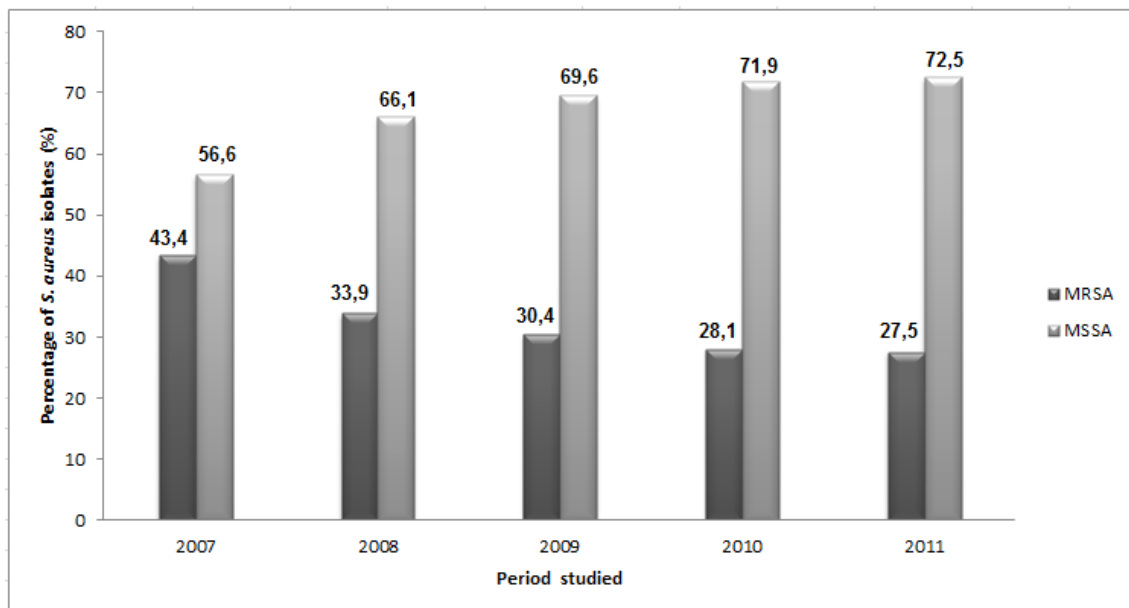


Chart 1 – Prevalence of the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and of the methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) isolated at HUSM from 2007 to 2011.

The distribution of the MRSA isolated in this study was predominant in males (Chart 2).



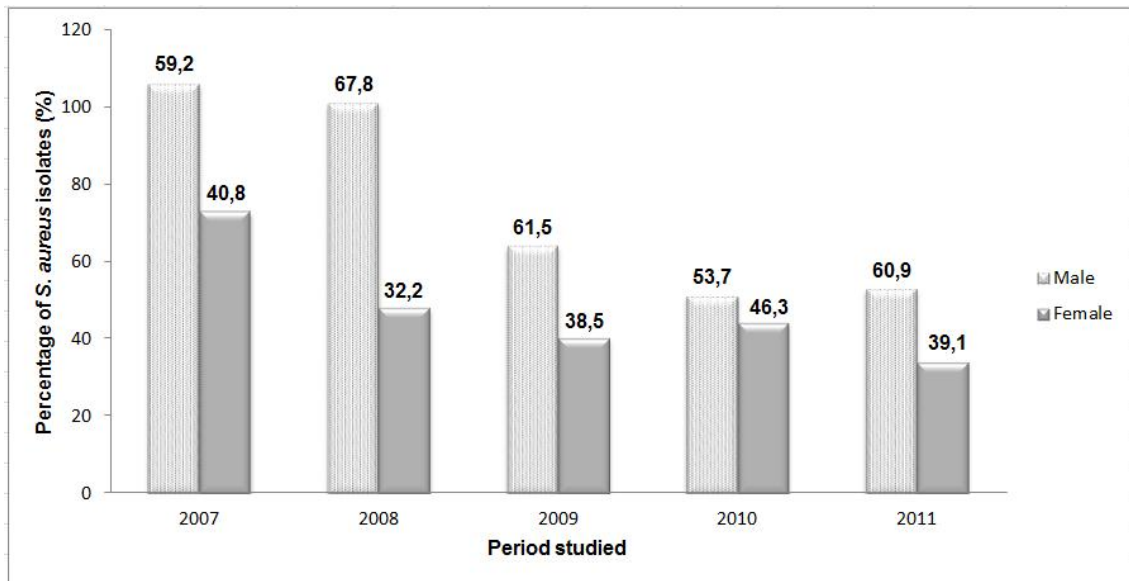


Chart 2 – Distribution of the patients with infection by MRSA at HUSM, from 2007 to 2011, according to gender.

Regarding age, there was a higher prevalence among patients of 41-70 years (258/594) in the entire study period (Table 2). In 22 cases, the age of the patient was not reported.

Table 2 – Age brackets of isolation of the MRSA (2007 to 2011) at HUSM

Age	2007	2008	2009	2010	2011	Total
≤ 10 years	21	15	14	10	14	74
11 – 40 years	49	36	39	18	25	167
41 – 70 years	67	70	29	48	44	258
≥ 71 years	35	24	19	13	4	95
<b>Total</b>	<b>172</b>	<b>145</b>	<b>101</b>	<b>89</b>	<b>87</b>	<b>594</b>

The hospitals in which occurred the greater isolation of the MRSA, in descending order, were (Table 3): Medical Clinic (99/608), Adult Intensive Care Unit (ICU) (92/608), First Aid Post (79/608), Adult Emergency Care (77/608) and Surgery Clinic (76/608). In eight clinical records analyzed, there was no mention of the admission hospital of the patient.

Table 3 – Hospital units of isolation of the MRSA, in years 2007 to 2011

Hospital unit	2007	2008	2009	2010	2011	Total (%)
Medical clinic	27	32	15	15	10	<b>99 (16,28%)</b>
Adult ICU*	31	23	15	14	9	<b>92 (15,13%)</b>
First Aid Post	22	15	16	12	14	<b>79 (13,00%)</b>
Adult Emergency Care**	25	15	12	16	9	<b>77 (12,67%)</b>
Surgery Clinic	27	19	10	11	9	<b>76 (12,50%)</b>
UCI RN***	10	4	4	5	6	<b>29 (4,77%)</b>
Nephrology	6	9	3	3	2	<b>23 (3,78%)</b>
Pediatric ICU	6	7	3	1	3	<b>20 (3,29%)</b>
Obstetric Center	4	2	4	2	4	<b>16 (2,63%)</b>
Oncology Unit	4	5	4	-	3	<b>16 (2,63%)</b>
Gynecologic and Obstetric Unit	1	1	7	2	3	<b>14 (2,30%)</b>
Surgical Block	4	4	1	1	3	<b>13 (2,14%)</b>
CTCriac****	2	2	1	2	4	<b>11 (1,81%)</b>
Recovery room	2	3	3	2	1	<b>11 (1,81%)</b>
Pediatric Unit	1	3	-	2	3	<b>9 (1,48%)</b>
Pediatric PA	2	2	1	1	2	<b>8 (1,31%)</b>
UCI <sup>+</sup>	2	1	-	1	-	<b>4 (0,66%)</b>
CTMO <sup>++</sup>	-	1	-	1	1	<b>3 (0,50%)</b>
Hematology and Oncology	1	-	-	1	1	<b>3 (0,50%)</b>
SID <sup>+++</sup>	1	-	1	-	-	<b>2 (0,33%)</b>
Psychiatric Unit	-	-	1	1	-	<b>2 (0,33%)</b>
Radiotherapy	1	-	-	-	-	<b>1 (0,16%)</b>
<b>Total</b>	<b>179</b>	<b>148</b>	<b>101</b>	<b>93</b>	<b>87</b>	<b>608 (100%)</b>

UCI\* – Intensive Care Unit; PA\*\* – Emergency Care; UCI RN\*\*\* – Intensive Care Unit for Newborns; CTCriac\*\*\*\* – Center for Treatment of children with cancer; UCI<sup>+</sup> – Intensive Coronary Care Unit; CTMO<sup>++</sup> – Bone Marrow Transplantation Center; SID<sup>+++</sup> – Home Care Service.

Clinical materials in which the MRSA were predominantly isolated were blood (104/16.9%), followed by tracheal aspirates (102/16.5%), urine (64/10.4%), sputum (54/8.7%), surgery wound secretion (50/8.1%) and lower limb secretion (48/7.8%). 195 isolations (31.6%) were from other clinical specimens as the tip of the catheter,

tracheal aspirate, bronchoalveolar lavage fluid, cerebrospinal fluid, scab, among others. Chart 3 illustrates the biological materials with higher frequency of isolation of the MRSA during the study period.

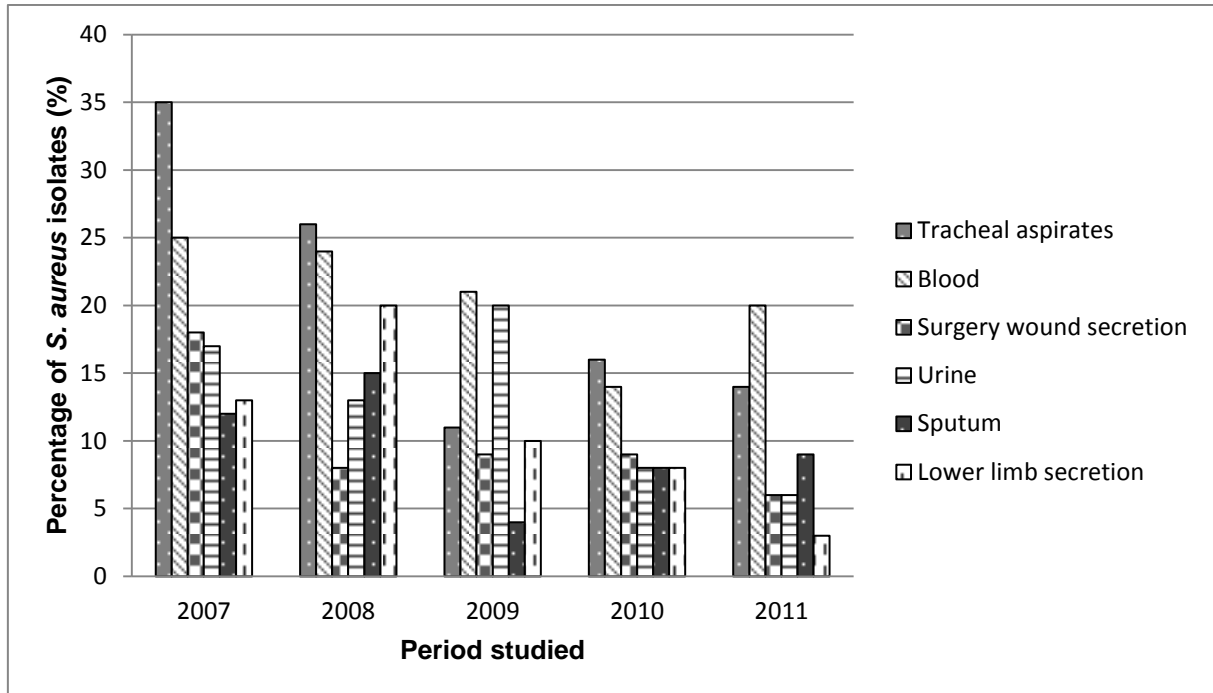


Chart 3 – Distribution of the clinical specimens of greater isolation of the MRSA at HUSM, from 2007 to 2011.

## DISCUSSION

MRSA are among the leading causes of nosocomial infections worldwide<sup>11</sup>. In Brazil, the prevalence of the MRSA varies according to the region of the country and the clinical material from which is isolated this important pathogen, with rates between 44% and 56%<sup>8,2</sup>. In the European Community, the MRSA reach different rates among its member countries, ranging from less than 1% to over 24%<sup>5,7</sup>, while in the U.S. they can achieve 38.2%<sup>12</sup>.

During the five years in which our study was carried out, the average prevalence rate of the MRSA at HUSM, was 33.3%. Data from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System, in countries in Europe, such as

Greece, Italy, Bulgaria, Turkey and Spain, mention rates similar to that found in this work, with rates at or above 25%<sup>6</sup>.

However, our study found a significant reduction (approximately 40%) in the prevalence rates of the MRSA, going from 43.4% in 2007 to 27.5% in 2011 ( $p < 0.05$ ). Among the factors that contributed to this reduction at HUSM, we can mention the work of the Commission for Hospital Infection Control (CCIH), which established measures such as descalonamento antimicrobial therapy and professional training, coupled with greater strictness in the distribution of the antimicrobials. Programs of prevention and control of the MRSA conducted in hospitals of the European Community have become a priority for the public health and have achieved satisfactory results, since, in recent years, there was a decrease in the incidence rates of MRSA infections in these countries<sup>14</sup>.

When comparing the gender of the patients, it was observed that there was a slight predominance of MRSA infections in males in all years of the study period (Chart 2), with an average rate of 60.6%. These results are similar to those found by Mahmood and colleagues in Pakistan, between the years 2005 and 2009, and by Jarvis and colleagues in 2010 in the United States, which found that 58% and 52.2%, respectively, of hospitalized patients with MRSA were men<sup>15,12</sup>.

In terms of the age bracket (Table 2), most cases of infections occurred in adults 41-70 years old, except in 2009, when there was greater isolation of MRSA among adolescents and young adults (11-40 years). The higher incidence of infections in adults and especially in the elderly is due to the increased vulnerability of these patients, who are more often exposed to excessive handling and invasive procedures<sup>22</sup>. Patients infected with MRSA in this age group were also reported in other studies<sup>15,22</sup>.

According to the hospital, the Medical Clinic, then the Adult ICU were the ones with the highest rate, accounting for 16.3% and 15.1% of the total of MRSA isolates, respectively. First Aid Post (13.0%), adult emergency care (12.7%) and surgery clinic (12.5%) also achieved relevant isolation rates at HUSM. Other authors, in Brazil and in the U.S., also report a higher prevalence of MRSA in ICUs, as evidenced by our study<sup>22,12</sup>. This fact is justified by the ICU patients who often undergo medical and therapeutic interventions, the large number of invasive medical procedures used, in addition to the use of multiple therapies, which can become essential to the development of an infection by MRSA<sup>23</sup>. Besides, data from the National Nosocomial

Infections Surveillance do Center for Disease Control and Prevention (CDC), in the U.S., demonstrate that, since 1999, the prevalence rates of MRSA exceed 50% among inpatients in this unit<sup>16</sup>.

The clinical materials in which there was the largest number of MRSA isolates were blood, tracheal aspirates, urine, sputum, surgery wound secretion and lower limb secretion (Chart 3). In the United States and in some European countries, the incidence of bacteremia caused by MRSA has increased in recent years<sup>20</sup>. In a study conducted at a hospital in Iran in 2007, Japoni and colleagues also obtained greater isolation of MRSA in samples of blood, sputum and wounds<sup>11</sup>, while Mahmood and colleagues demonstrated a higher incidence in sputum samples<sup>15</sup>. As for Brazil, Souza and colleagues, in 2008, at the Regional University Hospital of Maringá, found a higher frequency of isolation of the MRSA in catheter tips and endotracheal secretions<sup>22</sup>.

Our research revealed that the prevalence of MRSA showed considerable decrease from 2007 to 2011, directly related to the collective construction of a bundle of prevention and control of the MRSA, guided by the criteria of evidence-based practice implemented by CCIH in this hospital.

MRSA infections are a major global challenge to public health, especially by recent evidence of new community clones colonizing and infecting patients in our country.

Knowledge of the prevalence of MRSA at University Hospital of Santa Maria and the evidence of the effectiveness of the measures adopted by the infection control program of hospital infection in the MRSA-related infections have a direct effect on public health in terms of morbidity, mortality and costs in the system care in our country.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We thank the Pharmaceutical staff of the Clinical Laboratory of Analysis of HUSM, by granting access to clinical data, to Dr. Luciane Flores Jacobi for helping us in statistics and CAPES for the financial support.

## REFERENCES

1. Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2008; 46:344-349.
2. Carvalho KS, Mamizuka EM, Gontijo Filho PP. Methicillin/Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a hospital and public health threat in Brazil. Braz J Infect Dis. 2010; 14:71-76.
3. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2007; 13:222-235.
4. Dong J, Qiu J, Wang J, Li H, Dai X, Zhang Y, et al. Apigenin alleviates the symptoms of *Staphylococcus aureus* pneumonia by inhibiting the production of alpha-hemolysin. FEMS Microbiol Lett. 2013; 338:124-131.
5. Dulon M, Haamann F, Peters C, Schablon A, Nienhaus A. MRSA prevalence in european health care settings: a review. BMC Infect Dis. 2011; 11: 138.
6. European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). EARSS Annual Report 2008 On-going surveillance of *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* 2008.
7. European Centre for Disease Prevention and Control/European Medicines Agency (ECDC/EMA). The bacterial challenge: time to react. Joint technical report, EMA doc. ref. EMA/576176/2009, Stockholm.doi 10.2900/2518 2009.
8. Ferreira WA, Vasconcelos WS, Ferreira CM, Silva MFP, Gomes JS, Alecrim MGC. Prevalência de *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA) em pacientes atendidos em Ambulatório de Dermatologia Geral em Manaus-Amazonas. Rev Patol Trop. 2009; 38:83-92.

9. Francois P, Bento M, Renzi G, Harbarth S, Pittet D, Schrenzel J. Evaluation of three molecular assays for rapid identification of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2007; 45:2011-2013.
10. Guzmán-Blanco M, Mejía C, Isturiz R, Alvarez C, Bavestrello L, Gotuzzo E, et al. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. Int J Antimicrob Agents. 2009; 34:304-308.
11. Japoni A, Ziyaeyan M, Jmalidoust M, Farshad S, Alborzi A, Razaatpour N, et al. Antibacterial susceptibility patterns and cross-resistance of methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* isolated from the hospitalized patients in Shiraz, Iran. Braz J Microbiol. 2010; 41:567-573.
12. Jarvis WR, Jarvis AA, Chinn RY. National prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in inpatients at United States health care facilities, 2010. Am J Infect Control. 2012; 40:194-200.
13. Jevons MP. "Celbenin"-resistant Staphylococci. Br Med J. 1961; 1:124-125.
14. Köck R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. Euro Surveill. 2010; 15:1-9.
15. Mahmood K, Tahir T, Jameel T, Ziauddin A, Aslam HF. Incidence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) causing nosocomial infection in a Tertiary Care Hospital. ANNALS. 2010; 16:91-95.
16. Moura MEB, Campelo SMA, Brito FCP, Batista OMA, Araújo TME, Oliveira ADS. Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público de ensino. Rev Bras Enferm. 2007; 60:416-421.
17. Saravolatz LD, Markowitz N, Arking L, Pohlod D, Fisher E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Epidemiologic observations during a community-acquired outbreak. Ann Intern Med. 1982; 96:11-16.

18. Saravolatz LD, Pohlod DJ, Arking LM. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: a new source for nosocomial outbreaks. *Ann Intern Med.* 1982; 97:325-329.
19. Sdougkos G, Chini V, Papanastasiou DA, Christodoulou G, Stamatakis E, Vris A, et al. Community-associated *Staphylococcus aureus* infections and nasal carriage among children: molecular microbial data and clinical characteristics. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14:995-1001.
20. Shorr AF, Lodise T. Burden of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on healthcare cost and resource utilization. *ISMR Update.* 2006; 1:4–11.
21. Skov R, Christiansen K, Dancer SJ, Daum RS, Dryden M, Huang YC, et al. Update on the prevention and control of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Int J Antimicrob Agents.* 2012; 39:193-200.
22. Souza LBG, Figueiredo BB. Prevalência de infecções nosocomiais provocadas por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (M.R.S.A.), no Hospital Universitário Regional de Maringá. *RBAC.* 2008; 40:31-34.
23. Verdier R, Parer S, Jean-Pierre H, Dujols P, Picot MC. Impact of an infection control program in an intensive care unit in France. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006; 27:60-66.
24. Wallin TR, Hern HG, Frazee BW. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Med Clin North Am.* 2008; 26:431–455.



### 3. CONCLUSÃO

- Houve uma redução significativa na prevalência dos MRSA, no HUSM, de 2007 para 2011, que passou de 43,4% para 27,5%;
- As prevalências de MRSA em cada ano estudado foram de 43,4% em 2007, 33,9% em 2008, 30,4% em 2009, 28,1% em 2010 e de 27,5% no ano de 2011;
- O trabalho desenvolvido pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), deste nosocômio foi um dos grandes responsáveis por este processo;
- Verificou-se que os MRSA acometem mais homens, na faixa etária adulta (41-70 anos), internados em Clínicas Médica e Cirúrgica; Pronto-Atendimento e UTI Adultos e Ambulatório;
- Os materiais em que houve o maior isolamento dos MRSA foram as secreções de pele, secreções do trato respiratório, sangue e urina;
- Todos os *S. aureus* coletados no ano de 2011 se mostraram sensíveis à vancomicina, sendo que a CIM mais apresentada entre as cepas MRSA foi a de 2 µg/mL.

## REFERÊNCIAS

ALÓS, J. I. et al. Vancomycin MICs did not creep in *Staphylococcus aureus* isolates from 2002 to 2006 in a setting with low vancomycin usage. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, n. 4, p. 773–775, oct. 2008.

ARAÚJO, M. C. **Estudo comparativo do perfil de sensibilidade de amostras de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina isoladas de pacientes internados em dois períodos diferentes, com intervalo de 10 anos**. 2010. 62 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Clínica) - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2010.

BARBER M. Methicillin-resistant staphylococci. **Journal of Clinical Pathology**, v. 14, p. 385-93, jul. 1961.

BERGLUND, C. et al. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated in Sweden. **Antimicrobial Agents and Chemoterapy**, v. 52, n. 10, p. 3512-3516, oct. 2008.

BERNARD, L. et al. Comparative analysis and validation of different assays for glycopeptide susceptibility among methicillin-resistant *S. aureus* strains. **Journal of Microbiological Methods**, v. 57, n. 2, p. 231-239, may. 2004.

BHATEJA, P. et al. Characterisation of laboratory-generated vancomycin intermediate resistant *Staphylococcus aureus* strains. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 27, n. 3, p. 201-211, mar. 2006.

BHATIA, A.; ZAHOOR, S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 1, n. 2, p. 188-197, apr. 2007.

BOYLE-VAVRA, S. et al. Transcriptional induction of the Penicillin-Binding Protein 2 gene in *Staphylococcus aureus* by cell wall-active antibiotics oxacillin and vancomycin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 3, p. 1028-1036, mar. 2003.

BRITES, C.; SILVA, N.; SAMPAIO-SÁ, M. Temporal evolution of the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary hospital in Bahia, Brazil. A nine-year evaluation study. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n. 4, p. 235-238, aug. 2006.

CAMARGO, I. L. B. C.; GILMORE, M. S. *Staphylococcus aureus* - probing for host weakness? **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 7, p. 2253–2256, apr. 2008.

CAMPOS, G. B. et al. Isolation, molecular characteristics and disinfection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from ICU units in Brazil. **The New Microbiologica**, v. 35, n. 2, p. 183-190, apr. 2012.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Healthcare-associated infections (HAIs)**. CDC Reminds clinical laboratories and healthcare infection preventionists of their role in the search and containment of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA), Atlanta, GA, 2 Oct. 2012. Disponível em <[http://www.cdc.gov/HAI/settings/lab/vrsa\\_lab\\_search\\_containment.html](http://www.cdc.gov/HAI/settings/lab/vrsa_lab_search_containment.html)>. Acesso em: 18 jun. 2013.

CHAMBERS, H. F. Methicillin-resistant staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 1, n. 2, p. 173-186, apr.1988.

CHAMBERS, H. F. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 2, p. 178-182, mar.–apr. 2001.

CHAMBERS, H. F.; DELEO, F. R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n. 9, p. 629-641, sept. 2009.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, nineteenth informational supplement, document M100-S21**. Wayne, PA, USA: CLSI, 2011.

COHEN, P. R. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections: a review of epidemiology, clinical features, management, and prevention. **International Journal of Dermatology**, v. 46, n. 1, p. 1-11, jan. 2007.

CUI, L. et al. Novel mechanism of antibiotic resistance originating in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 2, p. 428-438, feb. 2006.

DAUNER, D. G.; NELSON, R. E.; TAKETA, D. C. Ceftobiprole: a novel broad-spectrum cephalosporin with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 67, n. 12, p. 983-993, june 2010.

DEURENBERG, R. H. et al. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 13, n. 3, p. 222-235, mar. 2007.

DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The evolution of *Staphylococcus aureus*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 8, n. 6, p. 747-763, dec. 2008.

DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Current Molecular Medicine**, v. 9, n. 2, p. 100-115, mar. 2009.

DHAND, A.; SAKOULAS, G. Reduced vancomycin susceptibility among clinical *Staphylococcus aureus* isolates ('the MIC Creep'): implications for therapy. **F1000 Medicine Reports**, v. 4, n. 4, p. 1-11, jan. 2012.

DONG, J. et al. Apigenin alleviates the symptoms of *Staphylococcus aureus* pneumonia by inhibiting the production of alpha-hemolysin. **FEMS Microbiology Letters**, v. 338, n. 2, p. 124-131, jan. 2013.

DRYDEN, M. Complicated skin and soft tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology, risk factors and presentation. **Surgical infections**, v. 9, n. 1, p. 3-10, 2008.

DULON, M. et al. MRSA prevalence in European health care settings: a review. **BMC Infectious Diseases**, v. 11, n. 138, p. 1-13, may 2011.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). **The bacterial challenge: time to react**. A call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the EU and the development of new antibacterial agents. EMEA: Stockholm, 2009. 42 p.

FEIL, E. J. et al. How clonal is *Staphylococcus aureus*? **Journal of Bacteriology**, v. 185, n. 11, p. 3307-3316, june 2003.

FERREIRA, W. A. et al. Prevalência de *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA) em pacientes atendidos em Ambulatório de Dermatologia Geral em Manaus-Amazonas. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n. 2, p. 83-92, abr. 2009.

FRANCIS, J. S. et al. Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the Panton-Valentine leukocidin genes. **Clinical Infectious Diseases**, v. 40, n. 1, p. 100-107, jan. 2005.

FUCHS, F.D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia Clínica**: fundamentos da terapêutica racional. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1282 p.

GARCÍA-SÁNCHEZ, J. E. et al. Antibioterapia para el siglo XXI, antibacterianos para la segunda década. ¿Posibilidades o realidades en un futuro? **Revista Española de Quimioterapia**, v. 25, n. 2, p. 100-121, jun. 2012.

GONZALEZ, B. E. et al. Pulmonary manifestations in children with invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n.5, p.583–590, sept. 2005.

HAVAEI, S. A. et al. Genetic characterization of methicillin resistant and sensitive, vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* strains isolated from different Iranian Hospitals. **International Scholarly Research Network Microbiology**, v. 2012, p. 1-6, 2012.

HIDRON, A. I. et al. Risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in patients admitted to an Urban Hospital: Emergence of community-associated MRSA nasal carriage. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n. 2, p. 159-166, july 2005.

HIGUCHI, W. et al. Structure and specific detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type VII. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 377, n. 3, p. 752-756, dec. 2008.

HIRAMATSU, K. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 40, n. 1, p. 135–136, july 1997.

HIRAMATSU, K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 1, p. 147–155, dec. 2001.

HOERLLE, J. L.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from the intensive care unit of a general hospital in southern Brazil. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 3, n. 7, p. 504-510, aug. 2009.

ITO, T. et al. Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 7, p. 2637-2651, july 2004.

ITO, T. et al. Structural comparasion of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemoterapy**, v. 45, n. 5, p. 1323-1336, may 2001.

ITO, T.; HIRAMATSU, K. Acquisition of methicillin resistance and progression of multiantibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Yonsei Medical Journal**, v. 39, n. 6, p. 526-533, dec. 1998.

JARVIS, W. R.; JARVIS, A. A.; CHINN, R. Y. National prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in inpatients at United States health care facilities, 2010. **American Journal of Infection Control**, v. 40, n. 3, p. 194-200, apr. 2012.

JEVONS, M. P. "Celbenin"-resistant Staphylococci. **British Medical Journal**, v. 1, n. 5219, p. 124-125, jan. 1961.

KALLEN, A. J. et al. *Staphylococcus aureus* community-acquired pneumonia during the 2006 to 2007 influenza season. **Annals of Emergency Medicine**, v. 53, n. 3, p. 358-365, mar. 2009.

KIRBY, W. M. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant Staphylococci. **Science**, v. 99, n. 2579, p. 452-453, june 1944.

KLEVENS, R. M. et al., Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. **The Journal of the American Medical Association**, v. 298, n. 15, p. 1763–1771; oct. 2007.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. 1760 p.

KRALOVIC, S. M.; DANKO, L. H.; ROSELLE, G. A. Laboratory reporting of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in United States Department of Veterans Affairs facilities. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 4, p. 402–407, apr. 2002.

LECLERQ, R. et al. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. **The New England Journal of Medicine**, v. 319, n. 3, p. 157–161, july 1988.

LEUNG, Y. H. et al. Risk factors for community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Hong Kong. **Journal of Infection**, v. 64, n. 5, p. 494-499, may 2012.

LEVINE, D. P: Vancomycin: a history. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, n. 1, p. 5-12, jan. 2006.

LI, S. et al. Novel types of staphylococcal cassette chromosome *mec* elements identified in Clonal Complex 398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, .v. 55, n. 6, p. 3046-3050, june 2011.

LIMA, D. C. et al. Snake venom: any clue for antibiotics and cam? **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, n. 1, p. 39-47, mar. 2005.

LIVERMORE, D. M.; MUSHTAQ, S.; WARNER, M. Activity of the anti-MRSA carbapenem razupenem (PTZ601) against Enterobacteriaceae with defined resistant mechanisms. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 64, n. 2, p. 330-335, aug. 2009.

LOWY, F.D. *Staphylococcus aureus* infections. **The New England Journal of Medicine**, v. 339, n. 8, p. 520–532, aug. 1998.

LOWY, F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Clinical Investigacion**, v. 111, n.9, p. 1265–1273, may 2003.

MA, X. X. et al. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, .v. 46, n. 4, p. 1147-1152, apr. 2002.

MANFREDINI, C.; PICOLI, S. U.; BECKER, A. P. Comparação de métodos na determinação de sensibilidade à vancomicina em *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 2, p. 135-141, apr. 2011.

MANZUR, A. et al. Predictive factors of methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* bloodstream infections at hospital admission. **The Journal of Hospital Infection**, v. 66, n. 2, p. 135-141, june 2007.

MATOUSKOVA, I.; JANOUT, V. Current knowledge of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia**, v. 152, n. 2, p. 191-202, dec. 2008.

MENEGOTTO, F. R.; PICOLI, S. U. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, n. 2, p. 147-150, 2007.

MIMICA, M. J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Brazil. **The New Microbiologica**, v. 36, n. 1, p. 107, jan. 2013.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 960 p.

NOBLE, W. C.; VIRANI, Z.; CREE, R. G. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiology. Letters**, v. 72, n. 2, p. 195–198, june 1992.

OLIVEIRA, D. C.; MILHEIRIÇO, C.; LENCASTRE, H. Redefining a structural variant of staphylococcal cassette chromosome *mec*, SCC*mec* Type VI. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 10, p. 3457-3459, oct. 2006.

PANTOSTI, A.; SANCHINI, A.; MONACO, M. Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. **Future Microbiology**, v. 2, n. 3, p. 323-334, june 2007.

PARK, D. W. et al. Risk factors for isolation of low-level mupirocin-resistant versus -susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from patients in intensive care units. **The Journal of Infection**, v. 54, n. 4, p. 337-342, apr. 2007.

PEREZ, L. R. et al. Variations of agar screen tests for detection of methicillin-resistance in staphylococci: focus on cefoxitin. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 26, n. 4, p. 267-270, apr. 2007.



PEREZ, L. R. R.; D'AZEVEDO, P. A. Clonal types and antimicrobial resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitals in South Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 50, n. 3, p. 135-137, may 2008.

PÉRICHON, B.; COURVALIN, P. VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 11, p. 4580-4587, nov. 2009.

RAMMELKAMP, C. H.; MAXON, T. Resistance of *Staphylococcus aureus* to the Action of Penicillin. **Experimental Biology and Medicine**, v. 51, p. 386–389, dec. 1942.

REINERT, C. et al. Type IV SCC*mec* found in decade old Brazilian MRSA isolates. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 213-216, june 2008.

REYES, J. et al. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 sequence type 8 lineage in Latin America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 12, p. 1861–1867, dec. 2009.

RICE, L. B. Antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria. **The American Journal of Medicine**. v. 119, n.6A, p. 11- 19, june 2006.

ROHRER, S.; MAKI, H; BERGER-BÄCHI, B. What makes resistance to methicillin heterogeneous? **Journal of Medical Microbiology**, v. 52, n. 8, p. 605 – 607, aug. 2003.

ROJAS, L. et al. Vancomycin MICs do not predict the outcome of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in correctly treated patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67; n. 7, p. 1760-1768, july 2012.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. **Resistência bacteriana**: Interpretando o antibiograma. São Paulo: Atheneu, 2005. 118 p.

RYBAK, M. et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: a consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. **American Journal of Health-System Pharmacists**, v.66, n. 1, p.82-98, jan. 2009.

SALGADO, C. D.; FARR, B. M.; CALFFE, D. P. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36, n. 2, p. 131-139, jan. 2003.

SANTHOSH, D. V. et al. Phenotypic detection and rate of nasal carriage of heterotypic borderline oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* in pre-clinical medical students from Malaysia. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 2, n. 4, p. 985-990, aug. 2008.

SANTOS, A. L. S. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, dez. 2007.

SENNA, J. P. M. et al. Spread of a dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone between Uruguayan and South of Brazil Hospitals. **Journal of Hospital Infection**, v. 53, n. 2, p. 156-157, feb. 2003.

SHORE, A. C. et al. Detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* Type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 8, p. 3765–3773, aug. 2011.

SIERADZKI, K.; TOMASZ, A. Alterations of cell wall structure and metabolism accompany reduced susceptibility to vancomycin in an isogenic series of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Bacteriology**, v. 185, n. 24, p. 7103–7110, dec. 2003.

SIERADZKI, K.; TOMASZ, A: Inhibition of the autolytic system by vancomycin causes mimicry of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* – type resistance, cell concentration dependence of the MIC, and antibiotic tolerance in vancomycin-susceptible *S. aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 3, p. 527-533, feb. 2006.

SIEVERT, D. M. et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002–2006. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 5, p. 668–74, mar. 2008.

SORIANO, A. et al. Influence of vancomycin Minimum Inhibitory Concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 2, p. 193–200, jan. 2008.

SOUSA, L. U. et al. Avaliação de metodologias para a detecção de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) e análise do perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos em um hospital terciário. **Saúde (Santa Maria)**, v. 37, n. 1, p. 23-30, 2011.

SOUSA, M. A. et al. Comparison of genetic backgrounds of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Portuguese Hospitals and the community. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 10, p. 5150-5157, oct. 2005.

SOUZA, M. P. *Staphylococcus aureus* Resistente à Oxacilina. **NewsLab**, ed. 105, p. 120-132, 2011.

TENOVER, F. C.; McDONALD, L. C. Vancomycin-resistant Staphylococci and Enterococci: epidemiology and control. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 300-305, aug. 2005.

TURLEJ, A.; HRYNIEWICZ, W.; EMPEL, J. Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) classification and typing methods: an overview. **Polish Journal of Microbiology**, v. 60, n. 2, p. 95-103, 2011.

UTSUI, Y.; YOKOTA, T. Role of an altered Penicillin-Binding Protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 28, n. 3, p. 397– 403, sept. 1985.

VAN HAL, S. J.; LODISE, T. P.; PATERSON, D. L. The clinical significance of vancomycin Minimum Inhibitory Concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 6, p. 755-771, mar. 2012.

VANDENESCH, F. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine Leukocidin genes: worldwide emergence. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 8, p. 978-984, aug. 2003.

VIVONI, A. M. et al. Clonal composition of *Staphylococcus aureus* isolates at a Brazilian university hospital: identification of international circulating lineages. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1686-1691, may 2006.

WANG, G. et al. Increased vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* clinical isolates from a University Hospital during a 5-year period. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 11, p. 3883-3886, nov. 2006.

WELSH, K. J. et al. Predictors of relapse of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia after treatment with vancomycin. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 10, p. 3669-3672, oct. 2011.

WERTHEIM, H. F. L. et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 12, p. 751-762, dec. 2005.

YOUNG, L. M.; PRICE, C. S. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerging as an important cause of necrotizing fasciitis. **Surgical Infections**, v. 9, n. 4, p. 469-474, aug. 2008.

ZETOLA, N. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 5, p. 275-286, may 2005.

ZHANG, K. et al. Novel Staphylococcal cassette chromosome *mec* type, tentatively designated Type VIII, harboring Class A *mec* and Type 4 *ccr* gene complexes in a canadian epidemic strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 2, p. 531-540, feb. 2009.

## **ANEXOS**

### **Anexo 1 - Material e métodos adicionais**

#### **Coleta das amostras de *S. aureus***

Foram coletadas 125 amostras de *S. aureus*, isoladas no Laboratório de Análises Clínicas (LAC) deste nosocômio, entre os meses maio a dezembro de 2011, provenientes de todos os setores do HUSM. Apenas uma amostra por paciente foi incluída nesta pesquisa.

Todos os isolados deste estudo foram identificadas no LAC como *S. aureus* através de provas fenotípicas e metodologia automatizada, utilizando-se o Painel Combo gram-positivos - PC 29, do aparelho MicroScan® - Siemens, de acordo com as normas preconizadas pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2011).

Após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia, do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, prédio 26, sala 1201, Centro de Ciências da Saúde (CCS), UFSM, e armazenadas em caldo triptona de soja com 15% de glicerol a -80 °C.

#### **Seleção das amostras de *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA)**

No Laboratório de Bacteriologia, foi efetuado teste fenotípico, utilizando-se a técnica de difusão do disco (Kirby-Bauer) de cefoxitina 30µg e oxacilina 1µg. Cabe ressaltar que a cefoxitina é um agente antimicrobiano para predição de resistência mediada pelo gene *mecA* em *S. aureus*, de maneira que ele é utilizado para reportar sensibilidade ou resistência à oxacilina (CLSI, 2011).

## Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Após a reativação dos isolados de *S. aureus* em ágar Triptona de Soja e incubação por 18-24hs, em estufa bacteriológica, a 35 °C ± 2 °C, ar ambiente, foi preparado o inóculo bacteriano, em solução fisiológica estéril, ajustando-se sua turbidez com a escala 0,5 de MacFarland ( $1-2 \times 10^8$  UFC/mL). Esta suspensão foi semeada com swab estéril em placas de petri contendo ágar Mueller Hinton (MH), sendo que posteriormente foram dispostos os discos de cefoxitina e oxacilina e reincubadas nas condições anteriormente citadas.

A leitura foi realizada após 16-18 horas de incubação para a oxacilina e 24 horas para a cefoxitina. Os halos de inibição foram medidos e a classificação das cepas em sensíveis, intermediárias ou resistentes seguiu as recomendações do CLSI (CLSI, 2011).

O controle de qualidade dos discos foi realizado utilizando-se as cepas de *S. aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 35218.

## Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) da vancomicina

As CIMs da vancomicina foram determinadas pela técnica manual de microdiluição em caldo, em microplacas de titulação com 96 poços, conforme recomendado pelo CLSI (CLSI, 2011).

### Diluição do antimicrobiano

Primeiramente a vancomicina 1g foi ressuspendida em 20 mL de água para injeção, passando a apresentar a concentração de 50 mg/mL. Em seguida, foram retirados 512 µL da solução mãe de vancomicina para um balão volumétrico de 5mL, no qual completou-se o volume com água para injeção.

## Preparo das diluições

Pipetaram-se 180  $\mu\text{L}$  de caldo MH no 1º poço da microplaca e 100  $\mu\text{L}$  nos nove poços seguintes. Adicionaram-se 20  $\mu\text{L}$  da vancomicina diluída no 1º poço da microplaca (concentração da vancomicina: 512  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Homogeinizou-se com a pipeta e transferiu-se 100  $\mu\text{L}$  do 1º poço para o seguinte, assim procedendo até o 10º poço, sendo que os últimos 100  $\mu\text{L}$  foram descartados. Dessa forma, as concentrações de vancomicina testadas foram de 256 a 0,25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Foram feitos os controles de qualidade da vancomicina utilizando-se as seguintes cepas padrões: *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299. Além disso, para cada amostra testaram-se os controles de qualidade do caldo MH (controle negativo) e do caldo MH com o inóculo bacteriano (controle positivo) (CLSI, 2011).

## Inóculo bacteriano

Foi preparado um inóculo bacteriano, em solução fisiológica estéril, com turbidez ajustada na escala 0,5 de MacFarland. 100  $\mu\text{L}$  do inóculo foram adicionados em cada poço da microplaca, de modo que o volume final em cada poço foi de 200  $\mu\text{L}$ .

As placas foram homogeinizadas com movimentos circulares e levadas para a estufa a 35 °C  $\pm$  2 °C. Cada bactéria foi testada em duplicata. As CIMs da vancomicina foram lidas manualmente após 24 horas de incubação.

As amostras com CIM  $\leq$  2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  foram consideradas sensíveis; entre 4 e 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  consideradas intermediárias e CIM  $\geq$  16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  resistentes (CLSI, 2011).

## **Considerações Éticas**

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Santa Maria e aprovado sob número 0117.0.243.000-08.



## Anexo 2 - Resultados e discussão adicionais

Das 125 amostras de *S. aureus* coletadas de maio a dezembro de 2011, 31 (24,8%) foram MRSA (Gráfico 1). O critério adotado para considerar uma cepa como MRSA foi a resistência à oxacilina pela metodologia fenotípica automatizada e/ou a resistência à cefoxitina e oxacilina através da técnica de difusão do disco.

### Prevalência dos MRSA de maio a dezembro de 2011

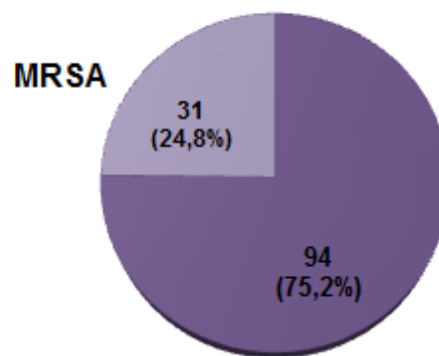


Gráfico 1 – Prevalência dos MRSA isolados no HUSM, de maio a dezembro de 2011.

Analisando a sensibilidade frente à vancomicina, todas as amostras de *S. aureus* coletadas no ano de 2011 foram sensíveis a este antimicrobiano pela técnica microdilucional testada. A CIM da vancomicina mais frequente dentre todos os *S. aureus* foi a de 1 µg/mL, apresentada por 53,6% das cepas (Tabela 2), enquanto que dentre os MRSA, houve maior frequência da CIM de 2 µg/mL (48,4%) (Tabela 3).

Tabela 2 – Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) da vancomicina das 125 amostras de *S. aureus* isolados de maio a dezembro de 2011, no HUSM

<b>CIM (µg/mL)</b>	<b>Sensibilidade à vancomicina</b>	<b>Metodologia manual (%)</b>
≤ 0,25	sensível	-
0,5	sensível	14 (11,2%)
1	sensível	67 (53,6%)
2	sensível	44 (35,2%)
4	intermediária	-
8	intermediária	-
16	resistente	-
32	resistente	-
64	resistente	-
128	resistente	-
≥ 256	resistente	-
<b>Total</b>		<b>125 (100%)</b>

Tabela 3 - Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) da vancomicina das 31 amostras de MRSA isolados de maio a dezembro de 2011, no HUSM

<b>CIM (µg/mL)</b>	<b>Sensibilidade à vancomicina</b>	<b>Metodologia manual (%)</b>
0,5	sensível	3 (9,7%)
1	sensível	13 (41,9%)
2	sensível	15 (48,4%)
<b>Total</b>		<b>31 (100%)</b>

Outros autores também demonstram 100% de sensibilidade frente à vancomicina, em isolados MRSA (ARAÚJO, 2010; MANFREDINI; PICOLI; BECKER, 2011; SOUSA et al., 2011).

Em trabalho desenvolvido por Araújo (2010), no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) a CIM mais frequente, no ano de 2008, foi a de 0,5 µg/mL, apresentada por mais de 70% das cepas. Já no Hospital Mãe de Deus, em Porto Alegre, Manfredini, Picoli e Becker (2011) isolaram 46 cepas de MRSA, as quais 45,7% apresentavam CIM de 1 µg/mL.

Em pesquisa também realizada no HUSM, no ano de 2008, Sousa e colaboradores (2011) relataram que das 73 cepas de MRSA estudadas, 58,9% apresentavam CIM de 1 µg/mL, o que pode nos evidenciar que a sensibilidade destas cepas está diminuindo, já que após três anos, nós encontramos a maioria dos isolados MRSA com CIM da vancomicina de 2 µg/mL.