



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Ciências Médicas

Julio Cesar Delgado Correal

**Epidemiologia das infecções causadas por *Staphylococcus aureus*
resistente a meticilina com perfil comunitário (CA-MRSA) em
pacientes atendidos em um hospital terciário no Rio de Janeiro**

Rio de Janeiro

2011

Julio Cesar Delgado Correal

Epidemiologia das infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina com perfil comunitário (CA-MRSA) em pacientes atendidos em um hospital terciário no Rio de Janeiro

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof^a. Dra. Elizabeth de Andrade Marques

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Loureiro Werneck

Rio de Janeiro

2011

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

C824 Correal, Julio Cesar Delgado.
Epidemiologia das infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a metilina com perfil comunitário (CA-MRSA) em pacientes atendidos em um hospital terciário no Rio de Janeiro / Julio Cesar Delgado Correal. - 2011.
88 f

Orientadora: Elizabeth de Andrade Marques.
Coorientador: Guilherme Loureiro Werneck.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. *Staphylococcus aureus* – Teses. 2. Infecção hospitalar – Teses.
3. Resistência a metilina. 4. Infecção hospitalar – Epidemiologia. 5. *Staphylococcus aureus* resistente a metilina. I. Marques, Elizabeth de Andrade. II. Werneck, Guilherme Loureiro. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.981.25

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Julio Cesar Delgado Correal

Epidemiologia das infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina com perfil comunitário (CA-MRSA) em pacientes atendidos em um hospital terciário no Rio de Janeiro

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 02 de dezembro de 2011.

Orientadora: _____
Prof^a. Dra. Elizabeth de Andrade Marques
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Coorientador: _____
Prof. Dr. Guilherme Werneck Loureiro
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Ianick Souto Martins
Faculdade de Ciências Médicas - UFF

Prof. Dr. Sergio da Cunha
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof^a. Dra. Ângela Correa Freitas de Almeida
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Rio de Janeiro

2011

DEDICATÓRIA

A Analú, Romano, Antonia, Maykol e Valeria, pela paciência e compreensão sem limites.

A minha família, razão da minha existência, pelo amor e carinho incondicional. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, sabedoria e as oportunidades.

A Prof^a. Dr^a, Andréia D'Ávila Freitas pelo ensino, a crítica e o apoio permanente.

Ao Prof. Dr. Eduardo Castro de Almeida pelos valiosos aportes, críticas e amizade durante todo o trabalho.

Ao Prof. Dr. Guilherme Loureiro Werneck pelo apoio nas análises epidemiológicas e estatísticas da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Paulo Damasco Vieira pelos aportes e críticas ao trabalho.

Ao Prof. Dr. Robson Leão por suas orientações nas pesquisas microbiológicas.

A todo o pessoal da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do HUPE/UERJ que apoiaram as pesquisas permanentemente.

A todo o pessoal do Laboratório de Bacteriologia do HUPE/UERJ.

Ao pessoal da farmácia do HUPE/UERJ pelo apoio com informações dos bancos de dados e doação dos medicamentos utilizados neste estudo.

A equipe do laboratório 2 da Disciplina de Microbiologia da UERJ, pelo entusiasmo, energia, disponibilidade e companheirismo.

A Sra. Elizangela de Abreu, da Pfizer pela doação dos antibióticos usados nas análises microbiológicas.

A Sra. Cristina Ferreira da CCIH/HUPE por sua colaboração permanente na procura de dados clínicos e bacteriológicos.

Aos Pacientes do HUPE/UERJ

A Prof^a. Dr^a. Elizabeth de Andrade Marques, minha orientadora, pela confiança depositada desde o início, pelo ensino e oportunidade de crescimento intelectual e profissional.

Omnis mundi creatura quasi liber et pictura nobis est et speculum.

Umberto Eco

RESUMO

DELGADO, Julio Cesar Correal. *Epidemiologia das infecções causadas por Staphylococcus aureus resistente a meticilina com perfil comunitário (CA-MRSA) em pacientes atendidos em um hospital terciário no Rio de Janeiro*. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

O *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) foi inicialmente descrito como um patógeno associado a infecções relacionadas à assistência em saúde; porém, um clone de MRSA, o CA-MRSA emergiu na comunidade e está atualmente incrementando nos hospitais. O objetivo desta tese foi descrever aspectos relacionados com a epidemiologia das infecções por cepas CA-MRSA no Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HUPE/UERJ), avaliando especificamente fatores de risco relacionado com as infecções por CA-MRSA. Usando informações das bases de dados do laboratório de microbiologia, da farmácia e da Comissão para Controle da Infecção Hospitalar do HUPE/UERJ foi realizado um estudo retrospectivo de infecções/colonizações por cepas de *S. aureus* (fevereiro 2005 a Julho 2011). Foi realizado um estudo caso e controle, utilizando como casos os pacientes com infecções por cepas CA-MRSA. Na avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos usados em infecções graves por MRSA (vancomicina, teicoplanina, daptomicina e linezolida), foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas (CIM) das amostras por diferentes metodologias (testes de difusão em agar, microdiluição em caldo e E-test®). Nas análises das tendências temporais da apresentação dos subtipos de MRSA, usando um critério fenotípico para classificação das cepas MRSA, foi observada uma diminuição do número de cepas de MRSA multirresistente (HA-MRSA) ($p < 0.05$). Também foi observada uma tendência ao aumento de cepas não-multirresistentes (CA-MRSA), mas sem alcançar a significância estatística ($p = 0.06$) igual que os *S. aureus* sensíveis a meticilina (MSSA) ($p = 0.48$). Não houve associação entre o subtipo de MRSA e a mortalidade devida à infecção por cepas MRSA. Uma idade acima de 70 anos (OR: 2.46, IC95%: 0.99 - 6.11), a presença de pneumonia adquirida no hospital (OR: 4.94, IC95%: 1.65 - 14.8), a doença pulmonar obstrutiva crônica (OR: 6.09, IC95% 1.16 – 31.98) e a leucemia (OR: 8.2, IC95%: 1.25 – 54.7) foram fatores de risco associadas à mortalidade nas infecções por cepas de *S. aureus*. Usando curvas de Kaplan-Meier, foi observada uma tendência ao aumento da mortalidade em infecções causadas por MSSA na primeira semana, porém sem alcançar significância estatística ($p = 0.07$). Não foram observadas amostras MRSA com susceptibilidade intermediária a vancomicina, linezolida, daptomicina ou teicoplanina. A dinâmica das infecções por *S. aureus* no HUPE/UERJ mudou durante o período de estudo, com menor número de episódios infecciosos causados por cepas de MRSA multirresistentes. Existe uma tendência ao aumento das cepas não-multirresistentes de MRSA entanto que a taxa de infecções por MSSA permaneceu estável no período do estudo. O perfil de resistência dos estafilococos não teve associação com a mortalidade.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. Infecções associadas à assistência em saúde. Fatores de risco; Bacteremia. CA-MRSA. HA-MRSA. Daptomicina. Vancomicina. Linezolida. Teicoplanina.

ABSTRACT

The methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was described initially like a health-care associated pathogen. However, an MRSA clone called community-acquired *S. aureus* emerged with success in the community and now has a worrying increasing frequency in hospital settings. The aim of this study was to describe issues related to the epidemiology of infections due to CA-MRSA isolates at the Pedro Ernesto University Hospital (HUPE/UERJ) in Rio de Janeiro, Brazil from February 2005 to June 2011, analyzing risk factors related to these infections. Thus, using databases of the microbiology laboratory, pharmacy department and the infection control committee of the HUPE-UERJ, was realized a retrospective study of *S. aureus* isolates obtained from infected/colonized patients hospitalized from February 2005 to July 2011. To evaluate risk factors related to CA-MRSA infections was conducted a case-control study, using patients with true infections due to MRSA like cases and patients with methicillin susceptible *S. aureus* (MSSA) like controls. To test the antimicrobial susceptibility of the antibiotics used in MRSA severe infections (Vancomycin, teicoplanin, daptomycin and linezolid), were determined the minimal inhibitory concentration (MIC) of MRSA isolates using different methods (disk-diffusion test, microdilution in broth and E-test® strips). The trend analyses of the MRSA types, using a phenotypic criteria to classify the MRSA isolates, found a decrease in the infections due to multi-resistant MRSA isolates (HA-MRSA) in our hospital ($p < 0.05$). Also was observed an increase in non-multi-resistant MRSA strains (CA-MRSA), but without reach statistical significance ($p = 0.06$), similar to MSSA ($p = 0.48$). There is not association between the MRSA phenotype and the mortality due to *S. aureus* infection. In the multivariate analysis, were observed that an older age than 70 years (OR: 2.46, IC95%: 0.99 - 6.11), health-care pneumonia (OR: 4.94, IC95%: 1.65 - 14.8), chronic obstructive pulmonary disease (OR: 6.09, IC95% 1.16 – 31.98) and leukaemia (OR: 8.2, IC95%: 1.25 – 54.7) were risk factors associated with mortality due to *S. aureus* infections. The Kaplan-Meier analysis, found a trend to high mortality due to MSSA infections in the first week, but without get statistical significance ($p = 0.07$). We don't found any MRSA isolated with resistance or intermediary resistance to vancomycin, linezolid, daptomycin or teicoplanin. There is good correlation between both MICs determinations, with broth microdilution and E-Test® strips methodology. It's concluded that the dynamic of the *S. aureus* infections at the HUPE/UERJ is changing, with less number of infectious episodes due to multi-resistant MRSA isolates. Moreover, there are an increasing number of infections due to non-multi-resistant MRSA isolate. The prevalence of infections due to MSSA don't have change in the time of period study. The kind of the *S. aureus* phenotype don't has association with all-causes-mortality.

Keywords: *Staphylococcus aureus*. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Health-care infections. Risk factors. Bloodstream infection. CA-MRSA; HA-MRSA. Daptomycin. Vancomycin. Linezolid. Teicoplanin.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Classificação dos tipos de SCCmec por complexos clonais <i>ccr</i> e por tipo de gene <i>mec</i>	24
Gráfico 2. Fluxograma de pacientes com infecções e colonizações por <i>S. aureus</i> incluídos nos três estudos.....	45
Gráfico 3 – Comparação das Áreas Baixo da Curva ROC (AUC) para Diferentes Antibióticos que Predizem cepas MRSA SCCmec tipo IV.....	48
Gráfico 4 – Frequência de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> recuperadas em pacientes internados no HUPE/UERJ (Fevereiro 2005 – Junho 2011).....	51
Gráfico 5 – Curva de Sobrevida (Kaplan-Meier) em Infecções por <i>S. aureus</i> ...	58
Gráfico 6 – Curva ROC comparativa para vancomicina.....	61
Gráfico 7 – Curva ROC comparativa para teicoplanina.....	61
Gráfico 8 – Curva ROC comparativa para linezolida.....	61
Gráfico 9 – Curva ROC comparativa para daptomicina.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos realizados no Brasil que incluem perfis genotípicos e fenotípicos de MRSA (1990-2011).....	48
Tabela 2 – Características demográficas e clínicas de 1299 pacientes com 1306 culturas positivas para <i>S. aureus</i> , HUPE/UERJ Fevereiro 2005 - Junho 2011.....	50
Tabela 3 – Características clínicas e demográficas dos pacientes com infecções por <i>S. aureus</i> no HUPE/UERJ.....	54
Tabela 4 – Análise univariada da mortalidade associada à infecção por <i>S. aureus</i> no HUPE/UERJ.....	56
Tabela 5 – Análise multivariada da mortalidade associada à infecção por <i>S. aureus</i> no HUPE/UERJ.....	58
Tabela 6 – Susceptibilidade aos antimicrobianos usados em infecções graves em 61 pacientes do HUPE/UERJ.....	59
Tabela 7 – Análise multivariada dos fatores de risco em mortalidade por cepas MRSA incluindo CIM altos para antibióticos usados em infecções graves.....	60
Tabela 8 – Regressão logística para CIM de vancomicina usando microdiluição em caldo e E-test® em amostras MRSA.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BORSA	<i>Borderline resistant Staphylococcus aureus - Staphylococcus aureus</i> com resistência a oxacilina limitrofe
CA-MRSA	<i>Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus - Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina adquirido na comunidade
CCS	<i>Comorbidity Charlson Score</i> - Índice de comorbidade de Charlson
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> - Centro para controle e prevenção de doenças dos Estados Unidos
DM	Diabetes mellitus
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> - Ácido desoxirribonucleico
EARSS	<i>European Antimicrobial Resistance Surveillance System</i> - Sistema de vigilância europeu da resistência antibiótica
ESBL	<i>Extended-spectrum beta-lactamase</i> - β -lactamase de espectro estendido
HA-MRSA	<i>Hospital-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus - Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina adquirido no hospital
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> - Vírus da imunodeficiência humana
HUPE/UERJ	Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro
hVISA	<i>Heterogenously Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus - Staphylococcus aureus</i> com heteroresistência intermediária a vancomicina
IAAS	Infecções associada à assistência a saúde
IC	Intervalo de confiança
ICS	Infecção da corrente sanguínea
LOS	<i>Length of Hospital Stay</i> -Tempo de permanência hospitalar
CIM	Concentração inibitória mínima
MLST	<i>Multilocus Sequence Typing</i> - Tipificação de seqüências multiloci
MRSA	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus - Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
MSCRAMMS	<i>Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix</i>

	<i>Molecules</i> - Moléculas adesivas da matriz reconhecedoras de componentes da superfície
MSSA	<i>Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> sensível a meticilina
MW2	<i>Midwestern clone 2</i> - Clone Midwestern 2
NHSN	<i>National Healthcare Safety Network</i> - Rede de segurança das entidades de saúde nacionais dos Estados Unidos
NNISS	<i>National Nosocomial Infection Surveillance Study</i> - Sistema nacional de vigilância nacional de infecção hospitalar dos Estados Unidos
OR	Odds ratio – <i>Razão de Chances de Odds</i>
OSPC	Ocean South Pacific Clone - Clone do Pacífico Sul
PBP	<i>Penicillin-Binding Proteins</i> - Proteínas ligadoras de penicilina
PFGE	<i>Pulsed-field gel electrophoresis</i> - Eletroforese em gel de campo pulsado
PVL	<i>Panton- Valentine Leucocidin</i> - Leucocidina de Panton-Valentine
<i>spa</i>	<i>Staphylococcal protein A</i> - Gene da proteína A
SCC <i>mec</i>	<i>Staphylococcal cassette chromosome mec</i> - Cassete cromossômico estafilococcico <i>mec</i>
TSST	<i>Toxic Shock Syndrome Toxin</i> - Síndrome de choque tóxico estafilococcico
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VAP	<i>Ventilator-associated pneumonia</i> - Pneumonia associada ao uso de ventilação mecânica
WHO	<i>World Health Organization</i> - Organização Mundial da Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

mg	Miligrama
mg/ml	Miligrama por mililitro
Nº	Número
r	Coefficiente de correlação
µg/ml	Micrograma por mililitro
>	Maior que
≥	Maior ou igual a
<	Menor que
≤	Menor ou igual a
+	Positivo
±	Mais o menos
®	Produto comercial registrado

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1	REVISÃO DA LITERATURA	17
1.1	Características microbiológicas do <i>staphylococcus aureus</i>	17
1.1.1	<u>Patogênese e fatores de virulência de <i>S. aureus</i></u>	17
1.1.2	<u>Mecanismos de resistência a meticilina de <i>Staphylococcus aureus</i></u>	19
1.1.3	<u>O cassete estafilococcico cromossomal <i>mec</i> (SCC<i>mec</i>)</u>	20
1.1.4	<u>HA-MRSA e CA-MRSA</u>	21
1.1.5	<u>O SCC<i>mec</i> no CA-MRSA</u>	22
1.1.6	<u>Clonalidade em amostras de CA-MRSA</u>	25
1.1.7	<u>Detecção Laboratorial do MRSA</u>	26
1.2	Características clínicas das infecções por MRSA	27
1.2.1	<u>O MRSA como microrganismo colonizador</u>	28
1.2.2	<u>Morbidade e mortalidade da infecção pelo MRSA</u>	30
1.2.3	<u>Tratamento das infecções causadas por CA-MRSA</u>	31
1.3	Epidemiologia das infecções por MRSA	32
1.3.1	<u>Estudos epidemiológicos no controle das IAAS</u>	34
1.3.2	<u>Situação atual do CA-MRSA no Brasil</u>	35
1.3.3	<u>Disseminação do MRSA nos serviços de saúde</u>	36
2	OBJETIVOS	38
2.1	Objetivo geral	38
2.2	Objetivos específicos	38
3	METODOLOGIA	39
3.1	Definição de variáveis	39
3.2	Análise descritiva das tendências temporais na apresentação de infecções e colonizações por <i>S. aureus</i>	40
3.3	Estudo de caso e controle da mortalidade associada a infecções causadas por <i>S. aureus</i>	41
3.4	Análise comparativa da susceptibilidade aos antimicrobianos de amostras de MRSA aos antibióticos usados em infecções graves	42
3.5	Análise estatística	44
4	RESULTADOS	45

4.1	Análise descritiva das tendências temporais na apresentação de infecções e colonizações por <i>S. aureus</i>.....	45
4.2	Estudo dos fatores de risco da mortalidade associada a infecções por <i>S. aureus</i>.....	51
4.3	Análise comparativa da susceptibilidade aos antimicrobianos de amostras MRSA aos antibióticos usados em infecções graves.....	59
5	DISCUSSÃO.....	62
6	CONCLUSÕES.....	67
	REFERÊNCIAS.....	69
	APÊNDICE – Ficha desenhada para coleta de dados epidemiológicos usados no estudo caso e controle de desfechos em infecções por <i>Staphylococcus aureus</i>.....	87

INTRODUÇÃO

As infecções associadas à assistência em saúde (IAAS) reconhecidas desde a antiguidade representam um crescente problema pelas conseqüências na mortalidade dos pacientes e pelos custos acrescidos na assistência a estes pacientes (Selwyn, 1991; Yalcin, 2003). O termo IAAS substituiu o termo infecção nosocomial, pela possibilidade de incluir a ocorrência da transmissão de microrganismos entre pacientes e entre estes e os profissionais de saúde em outros locais além dos hospitais, incluindo a assistência domiciliar, asilos de longa permanência, tratamentos ambulatoriais contínuos, programas de hospital-dia e centros de reabilitação (Cosgrove et al, 2003).

Atualmente, o *Staphylococcus aureus* é considerado um dos microrganismos mais importantes mundialmente no contexto das IAAS (Newsom, 2008). Os *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), são responsáveis por infecções graves, com taxas superiores a 50% em muitas instituições de saúde dos Estados Unidos e alcançando até 20% em algumas regiões do Brasil. Além da participação de MRSA em infecções hospitalares (HA-MRSA), a emergência global de cepas de MRSA adquiridas na comunidade (CA-MRSA) vem sendo motivo de preocupação.

O CA-MRSA tem aumentado significativamente o número de infecções cutâneas graves em populações da comunidade e dos serviços de saúde, assim, em um estudo descritivo da prevalência de CA-MRSA previamente realizado no Hospital Universitário Pedro Ernesto /Universidade do Estado do Rio de Janeiro, foram observados isolados de MRSA com perfis fenotípicos sugestivos de CA-MRSA a partir do ano de 2005 .

Existem poucos estudos no Brasil, e especialmente no Rio de Janeiro, que estabeleçam fatores de risco relacionados com mortalidade associada à infecção ou colonização por CA-MRSA e que estabeleçam a clonalidade dos isolados de ambientes comunitário e hospitalar. Por isso é necessário conhecer as tendências temporais na apresentação dos diferentes fenótipos de *S. aureus* na nossa instituição, assim como seu impacto na mortalidade e no tempo de internação (que reflete custos associados à terapia).

Adicionalmente é necessário comparar grupos de pacientes com infecções por *S. aureus* a fim de estabelecer fatores de risco relacionados à mortalidade destacando as variáveis associadas independentemente, o que permitira no futuro programar programas de vigilância epidemiológica em grupos de risco e diminuir a taxa de infecção e mortalidade por este patógeno no médio hospitalar.

Outro fato de importância clínica, é a necessidade de conhecer os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos usados em nossa instituição em infecções severas por MRSA, conhecendo as concentrações inibitórias mínimas das amostras e avaliando as metodologias de determinação disponíveis, para orientar futuras condutas no diagnóstico e na vigilância laboratorial destes micro-organismos.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Características biológicas do *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* é uma bactéria anaeróbia facultativa e colonizadora da pele e mucosas em todos os mamíferos e aves. Foi descrita por Alexander Ogston, em 1880 como cocos Gram-positivos com diâmetro médio de 0.5 a 1.5 μm , e na microscopia ótica podem ser vistos agrupados em cachos. É uma bactéria imóvel, não esporulada, produz coagulase e freqüentemente é não-encapsulada ou tem uma cápsula limitada. Também mostra resultado positivo no teste da proteína A ligada a fibrinogênio (Fator *clumping*) (Kloos et al, 1995).

1.1.1 Patogênese e fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*

O primeiro passo na patogênese do *S.aureus* é a colonização e os indivíduos colonizados assintomáticos são o principal reservatório, tanto na disseminação zoonótica quanto na de humano a humano (Moreillon, 2005).

O mecanismo primário de transmissão inclui o contato direto pele a pele com a fonte contaminada. Para iniciar uma infecção por *S. aureus*, este primeiro deve se aderir aos tecidos ou aos dispositivos protéticos. Para conseguir isso, o *S. aureus* usa uma grande variedade de proteínas de superfície conhecidas como moléculas adesivas da matriz reconhecedoras de componentes da superfície (*Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* - MSCRAMMS) (Patti, 1994).

Cada cepa de *S. aureus* tem seu próprio repertório de MSCRAMMS, orientando um padrão de adesão específico e concomitantemente padrões infecciosos. Uma vez fixado a superfície, o *S. aureus* aproveita seus recursos para escapar do sistema imune do hospedeiro e obter tempo suficiente para desenvolver a infecção. Um desses mecanismos é a formação de biofilmes, que são coleções extracelulares de polímeros produzidas pela bactéria e que garantem as condições

de proteção contra as defesas imunológicas e a ação dos antimicrobianos (Sritharan, 2004).

Uma vez as circunstâncias sendo favoráveis, ocorre à invasão tecidual, para o qual o *S. aureus* desenvolve vários mecanismos dependentes de proteínas de superfície para sobreviver ao sistema imune do hospedeiro. A cápsula anti-fagocítica é o mecanismo primário contra a atividade fagocítica de neutrófilos, monócitos e macrófagos (Foster, 2005). Além da cápsula, estudos moleculares têm demonstrado que o *S. aureus* usa proteínas ligantes de fibronectina (um tipo de MSCRAMM) para evadir a fagocitose.

Especificamente, para encontrar proteção, esta bactéria cria pontes de fibronectina com a célula endotelial do hospedeiro usando as integrinas $\beta 1$, e assim conseguindo sua internalização e proteção das células do sistema imune extracelular (Fowler et al, 2000; Schwarz-Linek et al, 2004; Tang et al, 2010).

Para evitar a imunidade mediada por anticorpos, o *S. aureus* utiliza uma proteína de superfície chamada proteína A (codificada pelo gene *spa*). Uma vez ligada à região Fc das imunoglobulinas do hospedeiro, a proteína A inibe a opsonização e a fagocitose (Deisenhofer, 1981). O *S. aureus* também utiliza secreção de proteínas para defesa do sistema de fagocitose do sistema imune. Aproximadamente, 50% dos *S. aureus* secretam uma substância chamada proteína inibitória de quimiotaxia (*chemotaxis inhibitory protein of S. aureus* - CHIPS), a qual limita o recrutamento de neutrófilos (de Haas et al, 2004). Estas bactérias também produzem leucocidinas, que são fatores que podem atacar e destruir a membranas dos leucócitos mediante a formação de poros (Gladstone et al, 1957). Um tipo particular de leucocidina é a toxina de Panton-Valentine (PVL), cujos genes estão codificados em um bacteriófago integrado ao genoma bacteriano (Labandeira-Rey et al, 2007).

Outros fatores secretados incluem: β -lactamases, proteases, lipases, nucleases, liases de ácido hialurônico, fosfolipase C e metalo-proteinases, que também são importantes na disseminação da infecção e na destruição tissular (Gordon et al, 2008). Além dos mecanismos descritos, numerosas cepas produzem toxinas com capacidade de criar distúrbios fisiológicos específicos. As toxinas classificadas como superantígenos produzem uma tormenta de citocinas, assim como aumento na proliferação clonal de células T. Um destes superantígenos é a toxina da síndrome de choque tóxico estafilocócico (*Toxic Shock Syndrome Toxin-1*

- TSST-1), configurando um quadro clínico agressivo e devastador denominado síndrome de choque tóxico (Todd et al, 1978). A toxina esfoliativa induz eritema assim como esfoliação da pele, fenômeno observado na síndrome de pele escaldada (Lowy, 1998). Também algumas toxinas, resultam em intoxicação alimentar, a qual é quase sempre autolimitada (Gilbert et al, 1972).

Uma vez atravessando as barreiras naturais o *S. aureus* consegue evadir o sistema imune e pode causar infecções graves tais como infecções de pele e tecidos moles extensas, fascite necrosante, abscessos intra-abdominais, infecção da corrente sanguínea ou bacteremia, sepse, artrite séptica, osteomielite, endocardite, meningite, infecções relacionadas a uso de cateteres intravasculares ou cateteres vesicais e pneumonia (comunitária e hospitalar, associada ou não à ventilação mecânica) (Foster, 2005).

1.1.2 Mecanismos de resistência a meticilina de *S. aureus*

A parede bacteriana é importante para manter a forma da célula e é o principal mecanismo para evitar a lise osmótica. Assim, agentes farmacológicos que agem sobre os componentes bacterianos críticos podem ser bactericidas. A penicilina, um antibiótico β -lactâmico, se une de forma covalente e inibe a ação das proteínas ligantes de penicilina (*Penicillin-Binding Proteins* - PBPs), as quais são as responsáveis pela construção, manutenção e regulação da porção de peptidoglicanos da parede celular (Katayama et al, 2000).

S. aureus normalmente tem quatro PBPs (PBP1-4); as PBP1, PBP2, e PBP3 são essenciais e exibem grande afinidade por antibióticos da classe dos β -lactâmicos, entretanto as PBP4, que favorecem o enlace externo cruzado do peptidoglicano bacteriano, têm baixa afinidade por estes antimicrobianos (Georgopapadakou, 1993; Kreiswirth et al, 1993).

Pouco depois da introdução da penicilina na década dos 40, cepas de *S. aureus* emergiram rapidamente, secretando uma enzima chamada penicilinase, a qual hidrolisava a penicilina à ácido penicilóico. Em 1950, cientistas ingleses da companhia farmacêutica Beecham, descobriram que substituindo as cadeias laterais da penicilina podiam protegê-la da penicilinase. Assim, em 1959, foi introduzida no

mercado a metilina. Desafortunadamente, os primeiros casos de *S. aureus* resistente a metilina (*Meticillin-Resistant Staphylococcus aureus* - MRSA) apareceram um ano após e em menos de uma década foi observado o primeiro surto no hospital de Boston em quase 20 pacientes, com evidência de disseminação hospitalar (Landau, 1999).

Para evadir a ação bactericida da metilina, o *S. aureus* desenvolveu vários mecanismos de resistência como a expressão de β -lactamases que hidrolisam a metilina (metilinaase), assim como expressão alterada das PBPs que tem baixa afinidade pela metilina (Barber, 1961; Barret et al, 1968). Porém, o principal mecanismo de resistência a metilina em *S. aureus*, envolve a presença cromossômica do elemento *mecA*, um fragmento de DNA externo de 40-60 kilobases que codifica para as PBPs com baixa afinidade aos antibióticos β -lactâmicos (Ito et al, 2003).

1.1.3 O cassete estafilococcico cromossomal mec (SCC*mec*)

O gene *mecA*, codifica uma proteína de 76 kDa chamada PBP2a (Sauvage et al, 2008). São descritos doze tipos de PBPs (PBP1 - PBP12) e em *S. aureus* são descritos os tipos PBP1 – PBP4. A resistência a β -lactâmicos no MRSA é mediada pelo tipo PBP2a (ou PBP2') e no CA-MRSA adicionalmente pelo PBP4 (Memmi et al, 2008; Matsui et al, 2011).

Esse gene é carregado em um elemento genético identificado como elemento genético móvel estafilocócico (*Staphylococcal cassette chromosome mec* - SCC*mec*). Adicionalmente, neste elemento podem ser observados genes de resistência para múltiplas classes de antibióticos os quais se mobilizam mediante plasmídeos e transposons (Oliveira et al, 2001). Para facilitar sua mobilização o SCC*mec* contém genes de enzimas recombinases específicas denominadas recombinases cromossomais do SCC*mec* (*cassette chromosome recombinases* - *ccr*, que podem ser do tipo *ccrA*, *ccrB* ou *ccrC*) (Ito et al, 2004).

Existem várias teorias sobre a origem do SCC*mec*, porém devida a sua alta prevalência em cepas de *Staphylococcus* coagulase-negativos (aproximadamente 70%) (Wielders et al, 2001), é fortemente sugerido que este seja o reservatório

principal do SCCmec (Hartman et al, 1981). Adicionalmente, já foi demonstrada *in vivo* a transferência do SCCmecA de *Staphylococcus epidermidis* para MSSA (Bloemendaal et al, 2010).

Atualmente, são conhecidos onze tipos de SCCmec (tipo I - XI) em MRSA, sendo que os SCCmec tipo IV ao XI estão associados com menor resistência aos antibióticos não β -lactâmicos que os SCCmec tipo I ao III (Shore et al, 2011).

1.1.4 HA-MRSA e CA-MRSA

O MRSA foi inicialmente descrito como um patógeno associado à infecção hospitalar; caracteristicamente com maior resistência aos antimicrobianos não-beta-lactâmicos, também chamado MRSA tradicional ou MRSA adquirido no ambiente hospitalar (*Hospital-acquired MRSA* ou HA-MRSA) (Cosgrove et al, 2003).

Ao final da década de 90 foi documentado na Austrália o surgimento de uma nova variedade de MRSA, o clone USA 300 que inicialmente foi descrito como MRSA adquirido na comunidade (*Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* - CA-MRSA), de acordo com critérios epidemiológicos definidos pelo Centro para o Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (*Centre for Disease Control and Prevention* - CDC) (Forcade et al, 2011).

Devido a sua disseminação nos hospitais e serviços de saúde, a definição de CA-MRSA está atualmente em debate e outras denominações como, MRSA de perfil comunitário (*Community-like MRSA*) ou MRSA não-multirresistente (*Non-multiresistant MRSA*) tem sido sugeridas e utilizadas na comunidade científica (Herold et al, 1998; Fridkin et al, 2005; Nimmo et al, 2010; Roberts et al, 2011).

Além disso, uma nova denominação de MRSA surgiu em decorrência do aumento destes micro-organismos nos serviços de saúde extra-hospitalares (unidades de diálise, programas de cirurgia ambulatorial, internação em instituições de longa permanência e asilos): *Health-Care Associated MRSA* - HCA-MRSA, que tem um perfil de resistência aos antimicrobianos similar ao HA-MRSA (Friedman et al, 2002).

CA-MRSA tem várias características que os tornam distinguíveis das amostras hospitalares (HA-MRSA). As cepas CA-MRSA são sensíveis a uma

variedade importante de antibióticos não- β -lactâmicos, enquanto os HA-MRSA são tipicamente resistentes a múltiplos antibióticos. As cepas CA-MRSA possuem até em 90% dos isolados, a toxina PVL, que é codificada pelos genes *lukS-PV* e *lukF-PV* (Lina et al, 1999).

1.1.5 O SCCmec no CA-MRSA

Apesar de não haver clareza sobre a origem das cepas CA-MRSA, existem fortes indícios que pode ter acontecido como consequência da transferência do SCCmec de um *Staphylococcus* coagulase-negativo (possivelmente *Staphylococcus sciuri*) para cepas de *S. aureus* sensíveis a meticilina (MSSA) virulentas (contendo toxinas como a PVL) (Feil et al, 2003). Este fenômeno teve início em diferentes localizações geográficas (Enright, 2003; Robinson et al, 2003; Ellington et al, 2009).

Já a disseminação destas cepas e seu caráter epidêmico estão relacionados com as mudanças relacionadas à prestação dos serviços de saúde com ênfase em programas ambulatoriais para tratamento de pacientes crônicos (hemodiálise, diálise peritoneal, terapia antimicrobiana ambulatorial, programas de hospital dia e asilos de longa permanência entre outros), que favoreceram a disseminação dos clones na comunidade. As condições próprias do meio comunitário podem ter selecionado os clones de CA-MRSA. A heterogeneidade das cepas CA-MRSA e o pequeno tamanho dos SCCmec tipo IV ao XI (figura 2), sugerem que esses alótipos têm maior facilidade para se transmitir (o SCCmec tipo IV tem um tamanho de apenas 20.9 - 24.3 kb) comparado com os grandes e pesados SCCmec tipo I ao III (54 - 67 kb) (Deurenberg et al, 2008). Estas características conferem ao CA-MRSA vantagens competitivas relacionadas com duplicação celular e capacidade de disseminação nos ambientes comunitários e nos serviços de saúde (Ito et al, 2001; Ito et al, 2004; Bootsma et al, 2006; David et al, 2010).

Estes fatos somados às condições ambientais de superpopulação, contato freqüente com reservatórios animais e a disseminação intercontinental de clones pelas viagens internacionais (Deurenberg et al, 2008; Carvalho et al, 2010), podem ter favorecido as condições epidêmicas do CA-MRSA, configurando as infecções às vezes como comunitárias, IAAS ou verdadeiras zoonoses (Morgan, 2008).

A nomenclatura do MRSA esta baseada na tipificação de seqüências a partir de múltiplos loci (*Multilocus Sequence Typing* - MLST), dos fragmentos de sete genes constitutivos que permitem classificar os clones de *S. aureus*, usando um perfil alélico denominado ST e o tipo do *SCCmec* (Deurenberg et al, 2008).

Em 2006 foi reportado que aproximadamente 50% dos isolados de MRSA recuperados de infecções de pele e tecidos moles nos Estados Unidos correspondiam ao clone USA300 (*SCCmec* tipo IV, ST8, PVL+) (Moran et al, 2006).

Apesar da maioria das cepas de CA-MRSA possuir *SCCmec* tipo IV, V ou VII, (Takano et al, 2008), alguns estudos tem observado que os CA-MRSA podem conter também *SCCmec* tipo I, II ou III ou não conter os genes da toxina PVL (Wannet et al, 2005, Wirtz et al, 2009)

Contudo, a maioria dos estudos concorda que genes da toxina PVL, junto aos tipos de *SCCmec* tipo IV ao XI podem ser considerados marcadores genéticos para determinar a presença de CA-MRSA (Tristan et al, 2007; David et al, 2010).

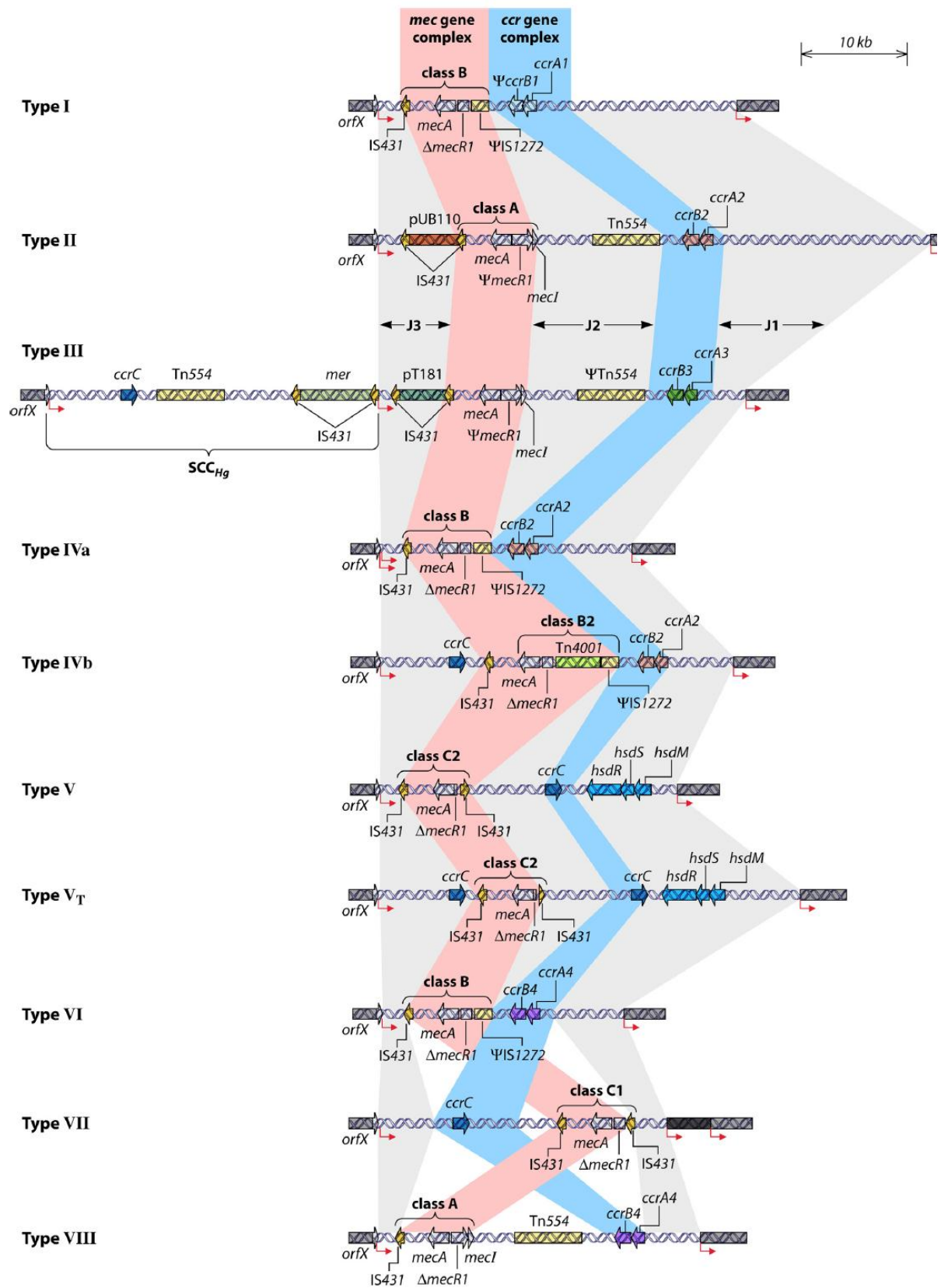


Gráfico 1. Classificação dos tipos de SCC_{mec} por complexos clonais *ccr* e por tipo de gene *mec* (David et al, 2010)

1.1.6 Clonalidade em amostras de CA-MRSA

Inicialmente, considerava-se que todos os clones de CA-MRSA continham os genes da toxina de PVL, como por exemplo, os clones ST1 e ST8 nos Estados Unidos e o clone ST30 na Europa (Vandenesch et al, 2003). Estudos recentes relatam outros tipos de clones CA-MRSA PVL negativos ou com expressão variável (hiperexpressão induzida por estresse), como é o caso de algumas amostras USA300 (Wirtz et al, 2009).

O clone ST1, cuja tipificação por *Pulsed Field Gel Eletrophoresis* (PFGE) corresponde na classificação do CDC à cepa USA400, predomina na atualidade nos Estados Unidos, Ásia e América Latina (Holden et al, 2004). O protótipo deste clone é a cepa MW2 (clone *Midwestern 2*), que apresenta poucos transposons ou seqüências de inserção, caracterizados após o sequenciamento completo (Baba et al, 2002). Apesar de ter menor variedade de toxinas que outros *S. aureus*, sua seqüência é parecida com a da cepa MSSA 476, responsável por infecções graves em crianças imunocompetentes (Holden et al, 2004).

O clone ST8 está distribuído na Europa e nos Estados Unidos, sendo que na Europa, está freqüentemente associado com o perfil SCCmec tipo IV PVL+. Nos últimos três anos tem-se observado aumento importante deste clone na Europa, incluindo países com baixa prevalência de CA-MRSA como os países da Europa Oriental. Com menor freqüência as cepas ST8 foram reportadas em outros países tais como Austrália (Coombs et al, 2009), Kuwait (Udo et al, 2008), Tunes (Nejma et al, 2008), Egito (Enany et al, 2010) e Malásia (Shamsudin et al, 2008). Estudos com amostras originárias do Uruguai, Brasil e Colômbia também relatam o encontro deste clone de forma esporádica (Ribeiro et al, 2007; Benoit et al, 2008; Reyes et al, 2009).

O clone ST30, o qual inclui o fago tipo 80/81, estava inicialmente distribuído no sudeste do pacífico (*Ocean South Pacific Clone* - OSPC) porém, atualmente encontra-se disseminado no mundo (Robinson et al, 2005; Gubbay et al, 2008; Tong et al, 2008; Coombs et al, 2009).

A partir do ano 1990, muitos clones ST30 foram disseminados para os Estados Unidos (Coombs et al, 2009), Japão (Ito et al, 2008), America Latina

(Gotuzzo et al, 2010; Rodríguez-Noriega et al, 2010), Turquia (Kilic et al, 2008), Oriente médio, Egito (Enany et al. 2010), e Europa oriental (Mikla et al, 2004). Este clone tem muitas variedades do gene *spa* (gene da proteína A), o que sugere um processo de evolução. O PFGE mais freqüentemente associado ao ST30 é o USA1100 (Brady et al, 2007).

O clone ST59 é prevalente em Taiwan e caracteristicamente é PVL+, porém pode ter diversos padrões de *spa* ou tipos de SCC*mec*. (Chen et al, 2009). Em Taiwan, existe uma variedade de clones ST59 com um SCC*mec* denominado tipo V_T, que é um fenótipo multirresistente (Takano et al, 2008). Na classificação do CDC o ST59 é denominado USA 1000, entretanto é encontrado raramente nos Estados Unidos (McDougal et al, 2003). O clone ST93, identificado principalmente na Austrália (Coombs et al, 2009), raramente tem sido observado em outros continentes.

No Brasil, tradicionalmente o principal clone de MRSA correspondia à variedade do SCC*mec* tipo III (HA-MRSA) denominado também como clone brasileiro/húngaro ST 239 e com perfil por MLST 2-3-1-1-4-4-3 (Wielders et al, 2001). Atualmente são relatados em algumas regiões grande diversidade de clones, incluindo o USA300, o Clone OSPC e o USA400 correspondendo aos complexos clonais: ST8, ST30 e ST1 respectivamente. Além disso, a grande diversidade do CA-MRSA comparada a do HA-MRSA sugere uma mudança no perfil epidemiológico das infecções por CA-MRSA (Enright et al, 2002; Ribeiro et al, 2007).

1.1.7 Detecção Laboratorial do MRSA

A determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos em *S. aureus* é realizada por testes de difusão em agar (disco-difusão) e por testes dilucionais (diluição em agar, microdiluição e E-Test®) (CLSI, 2010). Os testes automatizados também podem ser usados, embora apresentem limitações principalmente para a detecção da resistência a oxacilina. (Nakasone et al, 2007; Nonhof et al, 2007; Roisin et al, 2008; Kaase et al, 2009).

Apesar das críticas comentadas por alguns autores (Miller et al, 2007), os padrões fenotípicos de susceptibilidade aos antimicrobianos podem ser usados para

inferir o genótipo da uma amostra de MRSA (Popovich et al, 2007; Farrin et al, 2008; Popovich et al, 2008; Charitakis et al, 2011). As cepas CA-MRSA-USA300 são tipicamente sensíveis a numerosos antibióticos não β -lactâmicos, contrariamente as cepas de HA-MRSA são resistentes a diversas classes de antibióticos não β -lactâmicos. Combinações de susceptibilidade aos antibióticos podem prover informações uteis para estudar a epidemiologia e as tendências no tempo das infecções por MRSA (Naimi et al, 2003).

1.2 Características clínicas das infecções por MRSA

As infecções relacionadas ao CA-MRSA vem aumentando em frequência nos pacientes ambulatoriais e em unidades de emergência (Moran et al, 2006), causando surtos entre atletas (CDC, 2003), crianças (Herold et al, 1998), presos (CDC, 2001), populações indígenas na Austrália (Udo et al, 1993), militares (Campbell, 2004), populações indígenas da America do Norte (Groom et al, 2001), e homossexuais masculinos (CDC 2003). As síndromes clínicas variam desde infecções de pele e tecidos moles menores (King et al, 2006) até infecções sistêmicas graves, incluindo fascite necrosante (Miller et al, 2005) e pneumonia (Bradley, 2005).

As cepas CA-MRSA são uma causa importante de infecção da pele e tecidos moles na comunidade (Moran et al, 2006). Apesar dessas infecções serem forma de apresentação predominante do CA-MRSA, muitas infecções invasivas tem sido relatadas (Fridkin et al, 2002; Kourbatova et al, 2005; Maree et al, 2007). Em um estudo de 7.5 meses em 2004, as ICS devidas à cepa USA300 foram encontradas tanto em ICS hospitalares quanto em infecções associados a serviços em saúde em Atlanta (Seybold et al, 2006).

1.2.1 O MRSA como micro-organismo colonizador

As taxas de infecção e colonização por MRSA variam entre regiões geográficas, países, cidades e serviços de saúde e até entre setores na mesma instituição (Fluit et al, 2001; Bell, 2002; Biedenbach et al, 2004). Estas variações dependem de fatores do hospedeiro, ambientais, da organização dos sistemas de saúde, da pressão de seleção antimicrobiana, das técnicas de identificação no laboratório e dos sistemas de notificação das instituições às entidades de saúde pública (Pittet, 1999; Richet et al, 2003; Smith et al, 2004; Boyce et al, 2005; Smith et al, 2005; Borg et al, 2009). Com frequência existem prevalências maiores nas unidades com pacientes críticos, seguidas das unidades de clínica médica cuja população geriátrica com múltiplas co-morbidades (muitas delas de caráter crônico), das unidades clínicas com pacientes agudos e, por fim, das unidades cirúrgicas (Sax et al, 2001).

As narinas configuram o local de colonização mais freqüente pelo *S. aureus*, porém a orofaringe, a pele (especialmente à pele não intacta), o períneo, as axilas, a vagina e o trato digestivo são também colonizados com freqüência. Vinte por cento dos indivíduos são portadores persistentes do *S. aureus*, sendo que 60% podem ser portadores intermitentes e 20%, quase nunca são colonizados (Kluytmanns et al, 1997). A presença de um MRSA como micro-organismo colonizador pode diminuir a freqüência de colonização por cepas MSSA e parece existir uma relação inversa na colonização de *S. aureus* e *Streptococcus pneumoniae* toda vez que estes micro-organismos concorrem pelo mesmo nicho ecológico (Bogaert et al. 2006; Van Belkum et al, 2008).

Entre os fatores de risco do hospedeiro associados à colonização pelo MRSA temos a idade como um importante determinante. As crianças apresentam maior freqüência de colonização nasal pelo MSSA (Lamaro-Cardoso et al, 2009, Datta et al, 2008) enquanto que o MRSA é mais prevalente em pessoas acima de 65 anos (Graham et al, 2006). No grupo dos pacientes idosos, aqueles que vivem em asilos têm maior risco de serem portadores do MRSA (Mylotte et al, 2001, Maudsley et al, 2004). Em pacientes internados, a hospitalização prolongada (Lucet et al, 2003, Ridenour et al, 2006) e a exposição a antimicrobianos, especialmente quinolonas (Xheng et al, 2008) aumenta o risco de colonização pelo MRSA.

O principal fator de risco para colonização por MRSA é o contato prévio com serviços de saúde, especialmente se o paciente foi hospitalizado (Eveillard et al, 2006; Jernigan et al, 2003; Furuno et al. 2005). Outros fatores são: dermatites ou presença de lesões de pele, co-morbidades como a diabetes mellitus, necessidade de hemodiálise ou diálise peritoneal, uso de drogas intravenosas e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (Kluytmanns et al, 1997; Wertheim et al, 2005)

Com o surgimento do CA-MRSA apareceram novos fatores de risco para a colonização, como menor faixa etária com grande prevalência entre populações pediátricas e menos co-morbidades associadas (Crum et al, 2006). Além disso, atividades esportivas, condições de alojamento e de higiene pessoal foram associadas com colonização nasal pelo CA-MRSA (Kluytmanns et al, 2006). Após a aquisição da colonização por MRSA durante a internação, os pacientes podem persistir como portadores, ainda após a alta hospitalar e disseminá-lo na comunidade. Após reingressar, a bactéria é reintroduzida no hospital (Eveillard et al, 2006).

Existem evidências que a persistência da colonização pode ser longa. Estudos demonstraram que um ano após a alta, as culturas de *swabs* nasais em 60% dos pacientes mostraram a persistência da colonização, e 39% dos pacientes permaneciam colonizados após três anos (Vriens et al, 2005; Roberts et al, 2011).

A transmissão cruzada do *S. aureus* nos ambientes hospitalares e serviços de saúde esta relacionada aos cuidados dos profissionais de saúde, que agem como vetores, especialmente pela falta de higienização das mãos no cuidado dos pacientes (Haley et al, 1985; Shinefield, 2009). As dificuldades em identificar os pacientes como portadores de MRSA, é o principal fator de risco na transmissão (Pittet et al, 1999).

A capacidade do *S. aureus* para tolerar diversas condições ambientais de temperatura, umidade, pH e concentração de sódio, permite sua sobrevivência em objetos inanimados como roupas, estetoscópios, camas, esfigmomanômetros, vestimentas, e outros (Huang et al, 2006; Halcomb et al, 2008). Hardy e colaboradores demonstraram que em 35% das ocasiões as amostras de MRSA coletadas em pacientes pertenciam ao mesmo grupo clonal daquelas do ambiente próximo a eles (Hardy et al, 2006).

O fato de ser portador de MRSA, mesmo assintomático, aumenta o risco de infecções pelo *S. aureus* (Kluytmanns et al, 1997; Davis et al, 2007; Wertheim et al,

2005), especialmente naqueles com quebra de barreiras naturais às infecções, como alterações na pele intacta, introdução de dispositivos intravasculares, intravesicais ou próteses (Pignatari et al, 1990; Von Eiff et al, 2001; Keene et al, 2005; Van Rijen et al, 2008; Coates et al, 2009)

Safdar e colaboradores observaram aumento no risco de infecção pela colonização por MRSA em relação ao MSSA; como possíveis causas do risco aumentado, eles sugerem que os pacientes portadores de MRSA podem ter quadros mais graves por maior número de comorbidades e maior tempo no hospital, aumentando o risco de exposição (Safdar et al, 2005).

1.2.2 Morbidade e mortalidade da infecção pelo MRSA

Segundo a organização mundial da saúde, há maior risco ao entrar em um hospital do que viajar de avião (WHO, 2011). A explicação para isso é que as IAAS têm aumentado sua frequência exponencialmente nas últimas duas décadas, com maiores taxas de morbidade, mortalidade e aumento dos custos da assistência ao paciente. Essas infecções são potencialmente previsíveis, e as taxas de infecção têm sido utilizadas como um indicador de qualidade de assistência (Gardam et al, 2009).

Diversos estudos incluindo algumas meta-análises mostram maior mortalidade entre os pacientes com MRSA, quando comparados com pacientes com infecções por MSSA e muitos destes pacientes tiveram tempos de internação prolongados e maiores custos associados à terapêutica (Whitby et al, 2001; Cosgrove et al, 2003; Engemann et al, 2003; Reed et al, 2005).

Nos indivíduos com patologias dermatológicas que alterem a função de barreira da pele como dermatite, psoríase e doenças eczematosas têm aumento da taxa de colonização e infecção pelo CA-MRSA, especialmente as populações pediátricas (Chung et al, 2008). Também o uso de terapias com medicamentos que afetam a imunidade (glucocorticosteroides; drogas citotóxicas tais como o metrotexato, azatioprina, ciclofosfamida, clorambucil; inibidores da calcineurina; imunossupressores como o tacrolimo, pimecrolimo e o sirulimo; os imunomoduladores

biológicos ou anticorpos monoclonais), aumentam o risco de infecções graves por CA-MRSA nesse grupo de pacientes (Forcade et al, 2011).

No Brasil, Moreira e colaboradores avaliaram pacientes com infecção pelo MRSA em um hospital universitário e também encontraram maior número de casos de sepse e mortalidade entre pacientes com bacteremia por MRSA (Moreira et al, 1998). Estudos específicos no Brasil, sobre a mortalidade e fatores de risco associados à infecção por CA-MRSA não foram encontrados na revisão da literatura até o presente momento.

1.2.3 Tratamento das infecções por CA-MRSA

As infecções cutâneas e de tecidos moles são as formas clínicas mais frequentes de infecção por CA-MRSA e envolvem duas terapêuticas: o uso de antimicrobianos adequados em dose, tipo e via de administração, e a drenagem das coleções purulentas precocemente (Gauduchon, 2004; Tang et al, 2010).

Os quadros infecciosos que envolvem presença de toxinas (por exemplo, na síndrome de choque tóxico ou na gastroenterite estafilocócica) adicionalmente ao uso do antimicrobiano deve ser instituída uma terapia para o controle dos sintomas. Assim, na síndrome de choque tóxico a terapia agressiva de reposição de líquido e de controle da hipotensão são obrigatórias. Alguns estudos têm demonstrado a utilidade de terapia com imunoglobulina específica (Gauduchon, 2004; Yanagisawa et al, 2007)

Nas formas clínicas potencialmente graves estão indicados: vancomicina, teicoplanina, daptomicina, quinupristina/dalfopristina, dalbavancina, telavancina, ornitavancina, tigeciclina e linezolida (Levine et al, 2011). Associações destes antibióticos com β -lactâmicos (especialmente a oxacilina) é controversa, pois com frequência co-existem infecções por MSSA e MRSA, e a demora no início da oxacilina aumenta dramaticamente a mortalidade em pacientes com infecções por MSSA que só usam vancomicina ou daptomicina como terapia antimicrobiana empírica inicial (Gould et al, 2011). Apesar do sinergismo observado *in vitro*, associações com antibióticos não β -lactâmicos como a rifampicina e

aminoglicosídeos, cada vez são menos freqüentes devido aos efeitos adversos, especialmente pela nefrotoxicidade (Kelesidis et al, 2011; Silva et al, 2011),

Novos medicamentos anti – MRSA como as cefalosporinas de quinta geração prometem bons resultados no tratamento de infecções graves como a pneumonia ou a endocardite. O ceftobiprole e o ceftaroline que apresentam alta afinidade pela PBP2a são alternativas interessantes a vancomicina, daptomicina ou linezolida (Chung et al, 2008). Os resultados dos primeiros testes *in vitro*, no Brasil, usando ceftobiprole foram satisfatórios frente a amostras de MRSA (Cereda et al, 2011). Entretanto, é esperado dificuldades na terapia empírica de pacientes críticos, pela seleção de micro-organismos Gram-negativos resistentes como *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, enterobactérias produtoras de β -lactamase de espectro estendido (*Extended-spectrum β -lactamase* - ESBL), enterobactérias produtoras de carbapenemases e *Acinetobacter* spp. multirresistentes (Welte et al, 2010). Novas associações destas cefalosporinas de quinta geração com inibidores de β -lactamase são promissoras no tratamento da sepse (Wiskirchen et al, 2011).

Existem aspectos limitantes na terapêutica antimicrobiana das infecções graves por CA-MRSA. O aumento da resistência a antimicrobianos potencialmente utilizáveis como a clindamicina, tetraciclina, rifampicina (Diep et al, 2008), ciprofloxacina (Shet et al, 2009) e mupirocina (Perkins et al, 2008); as desvantagens no uso do sulfametoxazol/trimetoprima em presença de coleções ou grandes quantidades de inóculo; a ineficiência para atingir concentrações terapêuticas nos tecidos observada no uso de vancomicina, daptomicina; e a toxicidade associada ao uso prolongado da linezolida ou a nefrotoxicidade relacionada ao uso de vancomicina, teicoplanina, daptomicina ou rifampicina (De Angelis et al, 2011; Moore et al, 2011).

1.3 Epidemiologia das infecções por MRSA

São fatores de risco para a aquisição de HA-MRSA e HCA-MRSA, o contato prévio com serviços de saúde tais como diálise, cirurgia, internação, residência em instituições de longa permanência ou cirurgia prévia no último ano; presença de

cateteres; dispositivos médicos transcutâneos ou história de infecção recente por MRSA (Naimi et al, 2003)

Alguns estudos têm descrito surtos de CA-MRSA na comunidade ou no período de 72 h após a internação hospitalar (Kazakova et al, 2005; Fridkin et al, 2005; Moran et al, 2006; King et al, 2006;). Recentes estudos têm sugerido que as cepas CA-MRSA podem estar se disseminando nos ambientes hospitalares causando infecções que podem se classificar como hospitalares (Seybold et al, 2006; Davis et al, 2006).

No estudo de Popovich e colaboradores, foram examinadas as taxas de infecções de corrente sanguínea (ICS) por MRSA usando uma regra de predição baseada no perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos para a diferenciação dos fenótipos. Foi observado que a prevalência de CA-MRSA aumentou enquanto que as taxas por MRSA permaneceram estáveis nos episódios de ICS hospitalares em um período de seis anos (2000 a 2006). As variáveis, internação em serviços de saúde de longa permanência e exposição prévia a clindamicina, ciprofloxacina ou qualquer antibiótico nos três meses anteriores foram associadas à ICS causadas por HA-MRSA. Outras variáveis como a duração da bacteremia, tempo de permanência hospitalar e o número de readmissões no hospital dentro dos três meses seguintes foram similares para pacientes infectados com CA-MRSA e HA-MRSA (Popovich et al, 2008).

Ajustando os dados pela presença de comorbidades, não houve diferenças estatisticamente significativas na mortalidade bruta ou global (*all-causes-mortality*), porém houve uma tendência não significativa de associação das infecções por CA-MRSA e admissão precoce na UTI (Popovich et al, 2008).

Casos de infecções fulminantes por CA-MRSA tem sido relatadas. Possivelmente isso sugere que um subconjunto de cepas CA-MRSA podem ser mais virulentas que as cepas do tradicional HA-MRSA (Miller et al, 2005; Frazee et al, 2005).

A potencial substituição dos HA-MRSA pelos CA-MRSA, tem várias implicações importantes no controle de infecção. As atuais recomendações têm como objetivo diminuir a taxa de transmissão do MRSA dentro dos hospitais (Muto et al, 2003; Sehulster et al, 2003) porém, a efetividade das intervenções para controlar as cepas CA-MRSA são desconhecidas. Por exemplo, o controle na prescrição de ciprofloxacina tem sido proposto para diminuir as taxas de infecção por MRSA nos

hospitais (Cook et al, 2006). Na análise de Popovich e colaboradores, o uso prévio de ciprofloxacina três meses antes da infecção foi um fator de risco significativo para as infecções associadas a HA-MRSA e não para o CA-MRSA (Popovich et al, 2008).

Embora os mecanismos de colonização/infecção pelas cepas CA-MRSA sejam desconhecidos, sabe-se que podem colonizar sítios anatômicos diferentes do HA-MRSA (Eveillard et al, 2006). Assim, a efetividade no controle dos CA-MRSA usando culturas de *swab* nasal para a vigilância da colonização por MRSA com fins de isolamento e/ou da descolonização com mupirocina é desconhecido (Shet et al, 2009).

Na América Latina os estudos sobre a disseminação de CA-MRSA nos hospitais começaram no Uruguai em 2002. Foi publicada uma série de casos com 33 pacientes infectados pelo CA-MRSA: 64% eram infecções em pele/partes moles; 39% pneumonia e 24% tromboembolismo pulmonar séptico. A mortalidade relatada foi de 36%. A susceptibilidade destas amostras à clindamicina, gentamicina, ciprofloxacina, sulfametoxazol/trimetoprima e à vancomicina foram 84%, 96%, 96% 100% e 100%, respectivamente (Ma et al, 2005). No Brasil, a partir do ano 2005 foi observada uma tendência ao aumento de CA-MRSA nos hospitais (Andrade et al, 2006; Ribeiro et al, 2007).

1.3.1 Estudos epidemiológicos no controle das IAAS

Os estudos epidemiológicos nas IAAS, além de determinar a frequência e a distribuição destas infecções na coletividade, constituem ferramentas importantes na elaboração de condutas clínicas, pois permitem ajustar as mudanças nos perfis dos micro-organismos para otimizar a antibioticoterapia, diminuindo as taxas de mortalidade, a permanência hospitalar e as complicações próprias destas doenças. Em particular, a epidemiologia hospitalar que avalia as múltiplas causas relativas aos processos infecciosos, aporta elementos que podem mudar as condições da terapia antimicrobiana empírica precoce, fato que tem direta incidência na mortalidade (Hooton et al, 1981).

Os estudos epidemiológicos das IAAS permitem avaliar as tecnologias disponíveis para o diagnóstico, o tratamento e a reabilitação; determinar a qualidade das medidas do controle da infecção; conhecer os perfis dos micro-organismos infecciosos nos setores de internação e facilitar a sinalização de novas rotinas ou esquemas de prevenção, diagnóstico e tratamento (Haley et al, 1985).

A seleção criteriosa do tipo de estudo epidemiológico é fundamental na abordagem de um tipo específico de IAAS, sendo preferenciais os estudos experimentais (ensaios clínicos aleatorizados) aos não-experimentais, para evitar os vieses de informação. Nas análises de eficácia de um novo tratamento ou uma estratégia de prevenção são preferidos os ensaios clínicos ou as análises de sobrevivência. Na identificação dos fatores prognósticos são preferidos os estudos de coorte; e na avaliação dos fatores de risco é recomendada a realização de estudos de casos e controles. Porém, nem sempre é viável realizar estudos experimentais nas IAAS, devido aos componentes éticos da pesquisa, as limitações dos recursos humanos ou técnicos (Austin et al, 1994).

Nas análises estatísticas, a razão de chances (*Odds Ratio* - OR) entre as variáveis estudadas pode oferecer uma medida do grau de relação entre elas. O OR foi usado por John Snow, nos trabalhos clássicos sobre a epidemiologia da cólera, e até hoje é utilizado nos estudos de epidemiologia hospitalar, especialmente aqueles de caso e controle e em estudos transversais controlados (Feinstein, 1985).

1.3.2 Situação atual do CA-MRSA no Brasil

Os primeiros casos de infecções causadas por CA-MRSA no Brasil foram documentados no hospital das clínicas da Universidade de São Paulo, muitos deles com perfil não-multirresistente (*Non-MDR* MRSA) e contendo o elemento *SCCmec* IV (Trindade et al, 2005). A emergência no Brasil de cepas do tipo *SCCmec* IV, geneticamente relacionadas com o clone USA 800 foram reportadas em hospitais de Rio de Janeiro e Porto Alegre, sem descrição dos fatores de risco associados à infecção ou colonização (Miranda et al, 2007). Recentemente, o mesmo grupo reportou que algumas dessas amostras (5/13, 32,8%), foram caracterizadas como CA-MRSA seguindo dois critérios: perfis genotípicos e origem clínica das amostras.

Neste estudo, também foram incluídos pacientes ambulatoriais sem antecedente de internação (Ribeiro et al, 2007).

O padrão epidemiológico do CA-MRSA no Brasil também está mudando. Atualmente os fatores de risco para infecções por CA-MRSA adquiridos no meio hospitalar são semelhantes aos fatores de risco clássicos descritos nas infecções por HA-MRSA (Ribeiro et al, 2007; Reinert et al, 2008).

1.3.3 Disseminação do MRSA nos serviços de saúde.

A disseminação do MRSA nos serviços de saúde aumentou constantemente nas últimas décadas, sendo reportados surtos em unidades intensivas cirúrgicas, de neonatos, de queimados, de clínica médica e centros cirúrgicos. A transmissão cruzada entre pacientes e profissionais da saúde é uma das principais causas dos surtos (Sheretz et al, 1996; Klevens, 2006). Dados dos Estados Unidos mostram que a proporção de infecção por MRSA em UTI de vários hospitais aumentaram rapidamente de 2% em 1974, a 22% em 1995 e 64% in 2004 (Klevens, 2006). Em 2005, 58% das internações que incluíram o diagnóstico de *S. aureus* foram causadas pelo MRSA (Klein et al, 2007) e neste mesmo ano foi estimado que aproximadamente 19.000 mortes foram causadas por este micro-organismo (Klevens, 2007).

As atividades de controle da disseminação do MRSA incluem: 1) redução do uso de antibióticos, especialmente daqueles que induzem resistência em *S. aureus*, como as quinolonas; 2) educação dos trabalhadores da área de saúde; 3) regulamentação de protocolos de higienização das mãos; 4) sistemas de vigilância epidemiológica ativa e 5) medidas de precaução de contato para pacientes colonizados com MRSA ou com alto risco para infecção por MRSA (Kallen et al, 2010; Tacconelli, 2009).

A vigilância ativa e os protocolos de cohortes permanecem como medidas controversas, já que alguns estudos não têm demonstrado utilidade no controle da disseminação deste micro-organismo (Tacconelli, 2009). As ações realizadas em alguns hospitais (isolamento de pacientes, higienização das mãos, racionalização no uso de antimicrobianos), têm reduzido a incidência de MRSA. Em um estudo

realizado em pacientes de UTI com ICS por MRSA relacionadas ao uso de cateter venoso central foi observada uma diminuição em 50% dos casos, 6 anos após da implementação das medidas de controle (Burton et al, 2009). Da mesma forma, um estudo em pacientes internados entre 2005 e 2008 demonstrou uma redução em 34% da incidência de episódios bacterêmicos por MRSA (Kallen et al, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Descrever aspectos relacionados com a epidemiologia das infecções e colonizações por CA-MRSA no Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, no período de fevereiro de 2005 a junho de 2011.

2.2 Objetivos específicos

Determinar os perfis fenotípicos e genotípicos de MRSA prevalentes no Brasil nos últimos 20 anos;

Inferir uma regra de predição dos diferentes genótipos de MRSA a partir do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos observada na literatura nacional;

Analisar as tendências temporais das infecções/colonizações pelos diferentes fenótipos de *S. aureus*: MSSA, CA-MRSA e perfil-HA-MRSA;

Descrever as características clínicas e os fatores de risco associados à infecção pelos diferentes fenótipos de *S. aureus*: MSSA, CA-MRSA e perfil-HA-MRSA, em um subgrupo de pacientes atendidos no período de fevereiro de 2005 a novembro de 2009;

Verificar se há associação entre episódios de infecções pelos diferentes perfis de MRSA e a mortalidade ou o tempo de permanência hospitalar;

Caracterizar, por três metodologias, os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos usados em infecções graves por MRSA: vancomicina, teicoplanina, linezolid e daptomicina, determinando qual metodologia tem melhor correlação com a metodologia padrão (microdiluição em caldo);

Observar se há associação entre mortalidade em pacientes com infecções por MRSA com CIMs elevadas para vancomicina, teicoplanina, linezolid e daptomicina.

3 METODOLOGIA

O estudo da epidemiologia das infecções e colonizações por MRSA foi realizado em três diferentes subanálises: 1) Análise descritiva das tendências temporais das infecções ou colonizações por *S. aureus* no HUPE/UERJ no período de fevereiro de 2005 a junho de 2011; 2) Estudo dos fatores de risco da mortalidade associada a infecções por *S. aureus* em um subgrupo de pacientes no período de junho de 2005 a novembro de 2009; 3) Análise comparativa da susceptibilidade aos antimicrobianos de amostras MRSA aos antibióticos usados em infecções graves. Devido às diferenças no enfoque de cada uma destas subanálises, os métodos e resultados serão descritos separadamente.

Este estudo foi realizado conforme ao protocolo aprovado pela comissão de ética do HUPE/UERJ (número de protocolo 2307-CEP/HUPE).

3.1 Definição de variáveis

As infecções foram classificadas como associadas à assistência em saúde quando estabelecidas após 48 h de admissão hospitalar, não estando associadas com complicação ou extensão de infecção já presente na admissão (Graner et al, 1988). Devido a dificuldades logísticas foram excluídas desta análise aquelas IAAS manifestadas após a alta e que estavam relacionadas como internação ou procedimentos prévios.

As características e definições de cada tipo particular de episódio infeccioso foram definidas utilizando os critérios previamente estabelecidos pelo *Centers for Diseases Control and Prevention* dos Estados Unidos (Horan et al, 2008).

A mortalidade global (*all-cause-mortality*) foi definida como o excesso de mortalidade causada por qualquer evento na internação dos pacientes, decorrentes ou não de patologias infecciosas. A mortalidade atribuída à infecção foi definida como o excesso de mortalidade causada pela infecção e não decorrente de outra patologia de base do paciente.

O tempo de internação foi definido como o número de dias desde o dia da internação (dia 1) até o desfecho final do paciente (alta ou óbito).

3.2 Análise descritiva das tendências temporais na apresentação de infecções e colonizações por *S. aureus*.

Para este fim foi conduzido um estudo retrospectivo incluindo todos os pacientes atendidos do HUPE/UERJ (Hospital universitário urbano terciário, com 600 leitos, cinco UTI, sendo três de adultos e duas pediátricas) que tivessem uma ou mais culturas positivas para *S. aureus* no período de fevereiro de 2005 até junho de 2011.

O objetivo principal desta subanálise foi determinar se existiu associação entre as infecções / colonizações pelos diferentes fenótipos de MRSA e a mortalidade global (*all-cause-mortality*). Também foi estudada associação com o tempo de permanência hospitalar.

Inicialmente foi realizada uma revisão da literatura dos últimos 20 anos (1990-2011) usando as redes MEDLINE e SciELO com as palavras-chave MRSA, CA-MRSA, para determinar os perfis genotípicos e fenotípicos dos clones circulantes no Brasil. Posteriormente, com conhecimento destes perfis, foi inferida uma regra de predição baseada na susceptibilidade aos antibióticos relatados nesses estudos, focando especialmente em aminoglicosídeos, sulfametoxazol-trimetoprima, tetraciclina, clindamicina e ciprofloxacina, reconhecidos marcadores na diferenciação de clones de MRSA (Weber, 2005; Trindade et al, 2005; Maree et al, 2007). Para determinar uma regra de predição dos perfis genotípicos, a susceptibilidade aos antimicrobianos das amostras relatadas na literatura, foi integrada em curvas ROC (*Receiver Operator Characteristic Curve* - ROC). A comparação das curvas ROC dos antimicrobianos permitem prever alguns dos genótipos mais prevalentes no Brasil (*SCCmec III* ou *SCCmec IV*) e a área abaixo da curva (*Area Under the Curve* - AUC) permite conhecer a razão entre a especificidade e sensibilidade de um antibiótico em particular para detecção de um genótipo.

Utilizando as bases de dados da CCIH do HUPE/UERJ foram identificados todos os pacientes com culturas positivas para *S. aureus*, coletadas no período de

fevereiro de 2005 a junho de 2011. Foi usada uma cultura do mesmo paciente por mês e o número de *S. aureus* foi ajustado mensalmente pelo número de internações para 1000 paciente-dias. Nas amostras de *S. aureus* isoladas de hemoculturas, a susceptibilidade aos antibióticos foi determinada usando o método automatizado Vitek® II system versão 4.0 (biomerieux, NY USA). Para as amostras isoladas dos demais espécimes foi feito o teste de difusão em agar. Os antibióticos avaliados nestas análises foram oxacilina (30 µg), penicilina (2UI), clindamicina (2µg), eritromicina (15µg), ciprofloxacina (10 µg), sulfametoxazol-trimetoprima (25 µg), cloranfenicol (30 µg), tetraciclina (30 µg) e gentamicina (10 µg) (Oxoid, Basingstoke, RU).

Usando a regra de predição genotípica, as amostras de *S. aureus* foram classificadas em três perfis: MSSA, perfil-CA-MRSA e perfil-HA-MRSA.

As características demográficas dos pacientes (idade, sexo, setor de coleta) e aspectos clínicos relevantes (período de tempo até a primeira cultura positiva com *S. aureus*, desfecho final dos pacientes e tempo de permanência hospitalar) foram determinados usando as bases de dados do programa de internação e altas do HUPE/UERJ. Os espécimes clínicos incluídos nesta análise foram:

3.3 Estudo dos fatores de risco da mortalidade associada a infecções causadas por *S. aureus*

Foi realizado um estudo prospectivo de caso e controle em um subgrupo de pacientes atendidos no HUPE/UERJ no período de fevereiro de 2005 a novembro de 2009, com o objetivo de identificar fatores de risco associados com a mortalidade em infecções por *S. aureus*. Foram considerados como casos, aqueles pacientes que tiveram infecções por MRSA. O grupo controle foi aquele com infecções por MSSA. Somente um quadro infeccioso por paciente foi considerado nesta análise.

Todas as amostras caracterizadas inicialmente como MRSA no Laboratório de Bacteriologia Clínica (LABAC) foram estocadas para posterior realização dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos. Foi feito o teste de difusão em agar (disco-difusão), de acordo com as recomendações e critérios interpretativos do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2010). As amostras foram testadas com discos impregnados com cefoxitina (30µg), cloranfenicol (30µg),

ciprofloxacina (10ug), gentamicina (10ug), linezolida (30ug), penicilina (2UI), rifampicina (5µg), sulfametoxazol/trimethoprima (25µg), teicoplanina (30µg), tetraciclina (30µg) e vancomicina (30µg) (Oxoid, Basingstoke, RU).

Para determinar a resistência induzida do tipo MSLB (*Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B*), foi realizado o teste de difusão em agar com discos de eritromicina (15 µg) e clindamicina (2 µg) separados entre si por 20 mm. Um achatamento do halo de inibição proximal a clindamicina foi interpretado com resistência positiva de tipo MSLB (Steward et al, 2005). Os testes foram realizados em duplicata e a cepa *S. aureus* ATCC 25923 foi usada como controle.

No estudo das características demográficas e clínicas dos pacientes, foram consultados os prontuários e as bases de dados da CCIH, do LABAC, da farmácia, e do setor de internações do HUPE/UERJ. O critério de seleção de pacientes com verdadeiras infecções causadas por *S. aureus* foi rigoroso, e foram incluídos apenas os pacientes com hemoculturas (HC) positivas; pacientes com culturas de lavado broncoalveolar com mais de 1×10^4 unidades formadoras de colônia - UFC/mL e culturas de biopsias de osso, pele ou tecidos moles. Foi considerada somente uma cultura por paciente daqueles com informação clínica ou microbiológica suficiente e cuja etiologia fosse compatível com um processo infeccioso. Foram excluídos aqueles com culturas que apresentaram mais de dois tipos de micro-organismos.

Nesta fase do estudo outras variáveis adicionais foram determinadas para cada paciente: caracterização do tipo de infecção (IAAS ou comunitária), internação prévia nos últimos três meses, setor onde iniciou a infecção, tempo desde a admissão até internação na UTI, tipo de terapia antimicrobiana, tipo e tempo de uso do antibiótico, diagnóstico de base e comorbidades e taxa de sobrevida em 10 anos determinado pelo índice de comorbidades de Charlson.

3.4 Análise comparativa da susceptibilidade aos antimicrobianos de amostras de MRSA aos antibióticos usados em infecções graves

Um subgrupo dos pacientes com infecções confirmadas por MRSA (n = 61), considerados no estudo de caso e controle foram incluídas nesta análise.

Para cada amostra foi determinada a susceptibilidade a quatro antibióticos (vancomicina, teicoplanina, linezolida e daptomicina) usando três metodologias: microdiluição em caldo, teste de disco-difusão (exceto para daptomicina) e E-test®. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo de acordo com as recomendações de execução descritas no *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003) e os critérios de leitura obedeceram as orientações descritas no *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2010). Foram selecionados os antibióticos oxacilina (OXA), vancomicina (VAN) e linezolida (LZD).

Foram preparadas soluções estoque em água de osmose reversa (Mili-Q) estéril para os antimicrobianos. A partir dessas soluções estoques foram realizadas diluições dos antimicrobianos em meio *Cation-Adjusted Mueller Hinton Broth* (CAMHB; Difco, Detroit, Mich.), exceto para oxacilina, onde foi adicionado também 2% de cloreto de sódio. Tais diluições foram então distribuídas em microplacas de 96 poços (Nalgene Nunc International, Rochester, N.Y.). As concentrações utilizadas corresponderam a faixa de 0,125µg/mL a 64µg/mL para vancomicina, teicoplanina linezolida e linezolida.

A partir de cultura recente em ágar nutriente (Difco, Detroit, Mich) foram selecionadas de três a cinco colônias para obtenção de uma suspensão padronizada, em solução salina fisiológica, com turbidez equivalente a do padrão 0,5 na escala de McFarland. Posteriormente foi realizada uma diluição de 1:100 em solução salina esterilizada e alíquotas de 5µL foram aplicadas em cada orifício da microplaca, resultando em um inóculo contendo cerca de 10^4 UFC/mL. As placas de microtitulação foram incubadas em aerobiose a $35\pm 2^\circ\text{C}$ por 16-20h. A CIM foi considerada como a menor concentração do antimicrobiano capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano. Como controle foi utilizada a amostra *S.aureus ATCC 29213* para todos os antimicrobianos.

Também foram avaliadas as CIM destas amostras utilizando a metodologia E-test®, conforme as instruções do fabricante (AB Biodisk, Suécia)

. Os fornecedores dos suplementos foram: linezolida, Pfizer Inc., São Paulo, Brasil; teicoplanina, Biochimico Rio de Janeiro, Brasil; daptomicina, Novartis Inc., São Paulo, Brasil; vancomicina, Biochimico Rio de Janeiro, Brasil. Os pontos de corte para determinação da CIM foram estabelecidos seguindo as recomendações do CLSI 2010.

Para avaliar possíveis associações entre as CIM para esses antibióticos e a mortalidade dos pacientes com infecções por MRSA, foram consideradas algumas características epidemiológicas, previamente analisadas no estudo de caso e controle.

3.5 Análise estatística

Na primeira subanálise foi estimada a frequência das variáveis e as comparações entre os fenótipos de MRSA, usando teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (para valores menores de 5). Uma regressão logística foi usada para ver associação entre as variáveis. O *Odds ratio*, com intervalo de confiança de 95%, foi estimado para variáveis categóricas. Uma análise de séries de tempo (*time-series analysis*), foi usada no estudo das tendências temporais de apresentação de MRSA. Para testar estas tendências foi usado o teste de regressão de Dickey-Fuller.

No estudo de caso e controle os principais desfechos (mortalidade relacionada à infecção por *S. aureus* e tempo de permanência hospitalar) foram determinados para cada fenótipo de *S. aureus*. Uma curva de sobrevivência (curva de Kaplan-Meier) foi realizada para cada fenótipo.

Na análise da susceptibilidade aos antimicrobianos, usados em infecções graves por cepas MRSA, foi calculada uma curva ROC para cada antibiótico avaliado. Foi usado como teste padrão-ouro para a determinação da CIM a microdiluição em caldo. As curvas ROC das diferentes metodologias (testes de difusão em agar e os CIM obtidos por E-test®) para cada antibiótico foram comparadas entre si usando os pontos de corte definidos pelo CSLI 2010. As AUC (que reflete a especificidade e sensibilidade do teste) foram analisadas.

Em todas as análises foi usado o programa STATA™ versão 9.1 (statacorp, Texas, EUA. 2006), e um p-valor < 0.05 foi considerado estatisticamente significativo.

4 RESULTADOS

A distribuição dos pacientes incluídos nos estudos são apresentadas no gráfico 2. Os critérios para inclusão e exclusão dos pacientes em cada fase do estudo são descritas separadamente em cada subanálise.

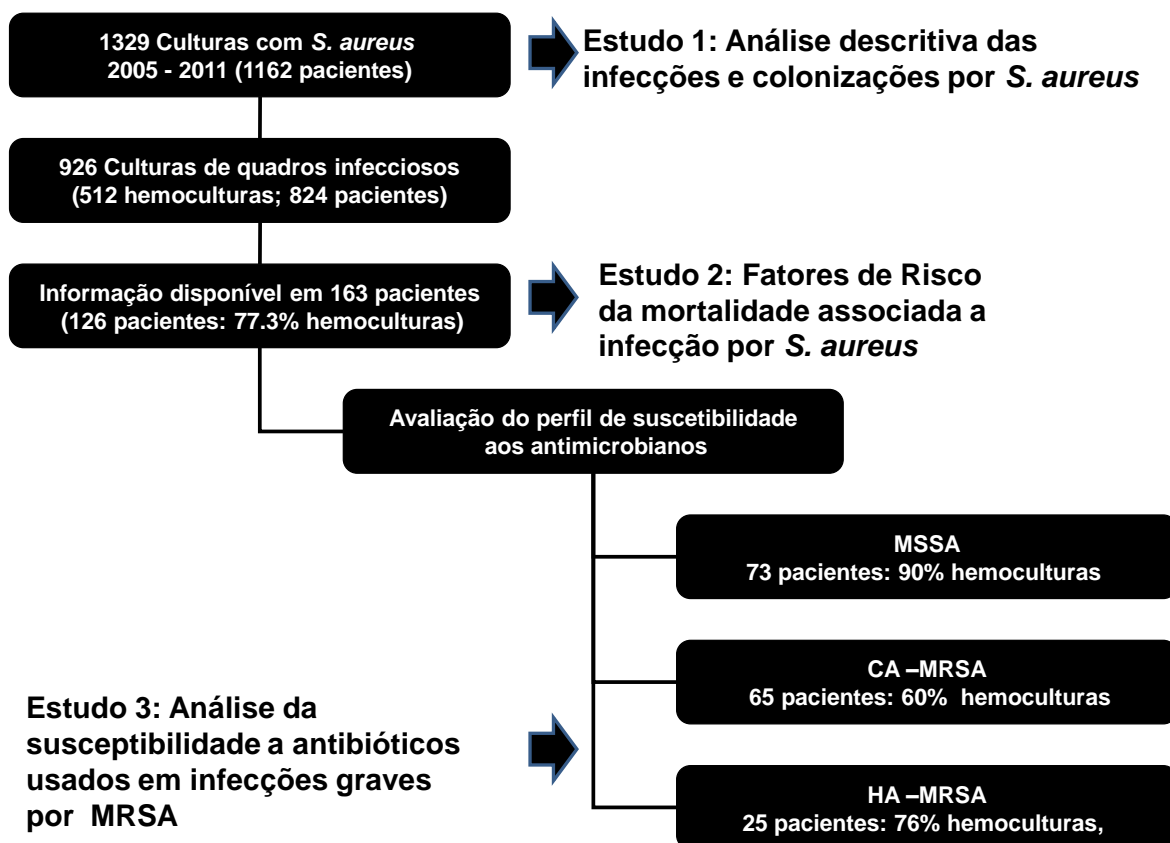


Gráfico 2 - Fluxograma de pacientes com infecções e colonizações por *S. aureus* incluídos nos três estudos.

4.1 Análise descritiva das tendências temporais na apresentação de infecções e colonizações por *S. aureus*.

Na revisão da literatura foram achadas 64 publicações brasileiras com informações sobre MRSA. Destas, foram selecionados 18, que continham análise fenotípica e genotípica, totalizando 606 amostras originárias de diferentes cidades (Santos et al, 1999; Loureiro et al, 2000; Oliveira et al, 2001; Amaral et al, 2005; Ribeiro et al, 2005; Trindade et al, 2005; Rozenbaum et al, 2006; Ribeiro et al., 2007;

Fortes et al, 2008; Perez et al, 2008; Reinert et al, 2008; Lamaro-Cardoso et al, 2009; Razera et al, 2009; Reiter et al, 2010; Sousa-Junior et al, 2009; Rozenbaum et al, 2009; Vivoni et al, 2009; Schuenck et al, 2009). A maioria deles usava como método de tipagem o PFGE e poucos o MLST, e foi observado que 90% das cepas MRSA pertencem a dois genótipos principais: SCC mec tipo III ou clone epidêmico Brasileiro (*Brazilian epidemic clone* – BEC - ST 239), e o clone SCC mec tipo IV (clone pediátrico).

O padrão genotípico mais freqüentemente isolado em culturas corresponde ao BEC, que tem altas taxas de resistência a vários antibióticos não- β -lactâmicos (sulfametoxazol-trimetoprima, aminoglicosídeos, tetraciclina, clindamicina e ciprofloxacina), correspondendo ao HA-MRSA. As principais características compiladas a partir destes estudos são apresentadas na tabela 1

Tabela 1. Estudos Realizados no Brasil que Incluem Perfis Genotípicos e Fenotípicos de MRSA (1990 – 2011)

Estudo	Data de Coleta	Local/Cidade	MRSA (n)*	HA-MRSA	CA-MRSA	ERI**	TET**	SXT-TMP**	CLI**	CIP**	LEV**	TOB**	GEN**	AMK**	CLO**	RIF**	Tipo SCCmec	MLST	
Oliveira GA, et al., 2001 (22)	1995-1997	19 Cidades Brasileiras	65	+		100	100	100		100					90	90	III		
			18		+			0	0		0							IV?	
Reinert C, et al., 2008 (23)	1995-1999	Várias cidades Brasil	47	+		100	100	100	100	85		100	100		35		III	ST239	
			3		+	100	30	30	0	0		65	30		65			IV	ST30, ST5, ST80
Amaral MM et al, 2005 (16)	1995-1998	Belém	38	+		100		90	90	80				80	80		III		
Loureiro MM, et al., 2000 (19)	1997-1999	Rio de Janeiro	43	+		100	100	100	100	100			100	100	100	100	III		
Santos KR, et al 1999 (15)	1999	Rio de Janeiro, Belo Horizonte	103	+		99	99	98	96	96				95	85	73	III		
Vivoni AM, et al., 2006 (28)	1999-2000	Rio de Janeiro	30	+		100	87	100	87	100			97		93	6.7	III	ST239, ST644	
			2		+	100	0	0	0	0		0		100	0			IV	ST5
Rozenbaum R, et al., 2006 (32)	2001	Rio de Janeiro	29	+		100	80	100	100	80			100		100	100	III		
			3		+	100	0	0	0	0		0		0	0			IV	
Ribeiro A, et al., 2005 (18)	2002-2003	Porto Alegre	5		+			0	0	0			0				IV		
			2		+													IV	
Perez LR, et al., 2008 (25)	2004	Porto Alegre	8	+				100									III		
Ribeiro A, et al., 2007 (30)	2004-2006	Rio de Janeiro, Porto Alegre	13		+	15	38	0	7.7	15			0				IV	ST30, ST8, ST1, OPSC	
Sousa-Junior FC, et al., 2009 (26)	2004-2006	Natal	36	+		100	100	100	89	100			100		86	92	III, II		
			6		+	83	33	17	67	33		0		50	0			IV	
Trindade PA, et al., 2005 (29)	2005	São Paulo	19		+	80	30	0		0		30					IV, IVa		
Lamaro-Cardoso J et al 2009 (17)	2005	Goiânia	8	+		99	99	98	96	96				95	0	0		III	ST239
			6		+										0	0		IV, V	
Schuenck RP, et al., 2009 (31)	2005	Rio de Janeiro	19		+	60		0	30	40		10		30	5		IV	ST30, ST5, ST1204, ST97, ST8, ST72, ST97	
Fortes CQ, et al., 2008 (21)	2006	Rio de Janeiro	1		+			0									IV		
Rozenbaum R, et al., 2009 (27)	2007	Rio de Janeiro	1		+	0	0	0	0	0			0	0	0		IV	ST30	
Razera F, et al., 2009 (20)	2009	Porto Alegre	1		+		0	0	0	0			0				IV	ST30	
Reiter KC, et al., 2010 (24)	2009	Porto Alegre	132	+		99	57	85	96		86		97		33	70	I, III		

* Numero de cepas MRSA com análises fenotípicos e tipagem molecular

** % de resistência aos antibióticos

MRSA = Staphylococcus aureus resistente a meticilina; HA-MRSA = MRSA adquirido no hospital; CA-MRSA = MRSA adquirido na comunidade; ERI = Eritromicina; TET = tetraciclina; SXT-TMP = sulfametoxazol-trimethoprima; CLI = Clindamicina; CIP = Ciprofloxacina; LEV = Levofloxacina; TOB = Tobramicina; GEN = Gentamicin; AMK = Amicacina; CLO = cloranfenicol; RIF = Rifampicina.

No gráfico 3, estão integrados numa curva ROC os perfis de sensibilidade das 606 amostras de MRSA aos antimicrobianos gentamicina, sulfametoxazol-trimetoprim, rifampicina, ciprofloxacina e tetraciclina que podem predizer os dois genótipos mais freqüentes no Brasil. Os maiores valores na AUC predizem os clones MRSA *SCCmec* tipo IV e portanto podem ser considerados como marcadores locais do perfil-CA-MRSA.

A sensibilidade a sulfametoxazol-trimetoprima associada à sensibilidade a pelo menos dois dos antimicrobianos deste grupo (gentamicina, rifampicina, ciprofloxacina e tetraciclina) pode ser usada na predição de genótipos MRSA *SCCmec* tipo IV (perfil-CA-MRSA) percentual (88%). Contrariamente, uma amostra de MRSA com resistência a sulfametoxazol-trimetoprima e adicionalmente resistência a qualquer dos antibióticos considerados como marcadores pela regra de predição tem uma alta chance (96%) de corresponder ao genotipo MRSA *SCCmec* tipo III (perfil-HA-MRSA).

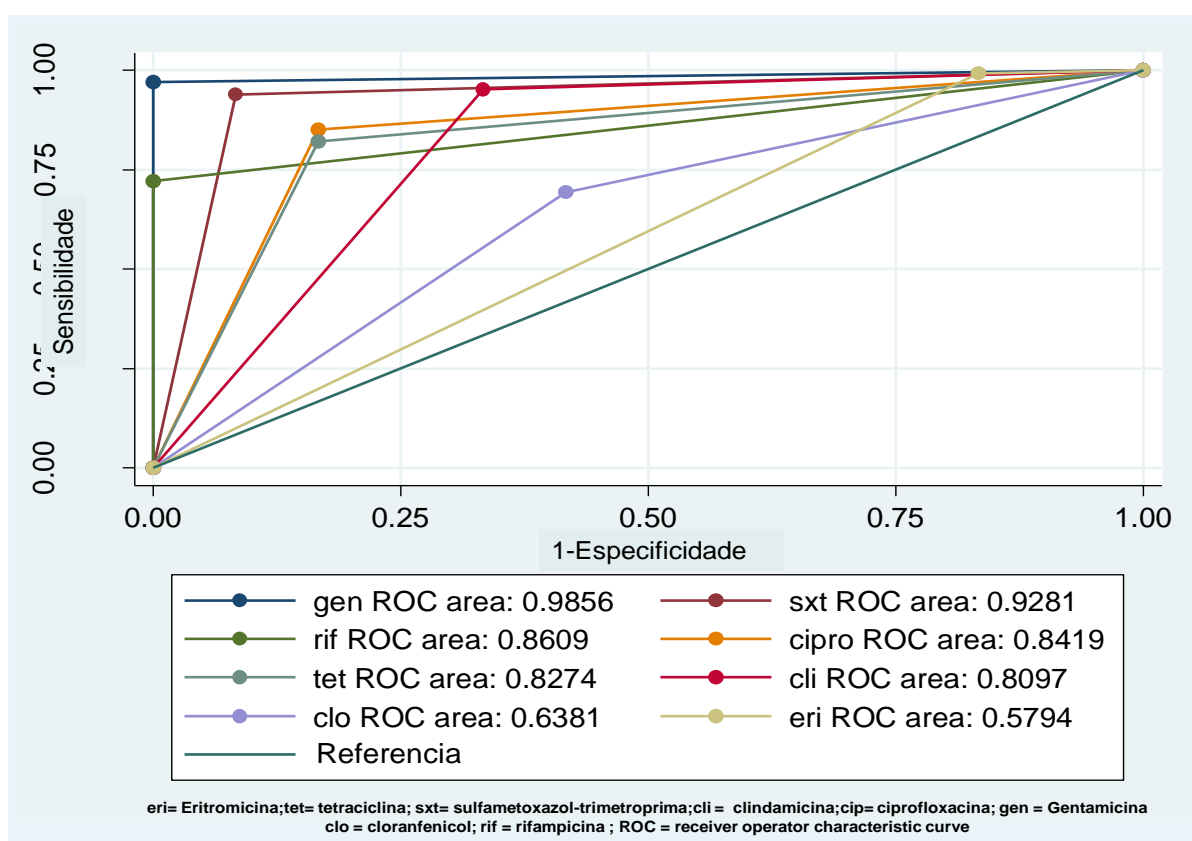


Gráfico 3 - Comparação de áreas abaixo da curva ROC para diferentes antibióticos que predizem cepas MRSA *SCCmec* tipo IV no Brasil

Em nosso estudo avaliamos 1299 pacientes com 1306 culturas positivas para *S. aureus*. Setecentos e oito pacientes (54,2%) eram do sexo masculino, a idade média foi $49,2 \pm 0,6$ anos (0 – 93 anos; mediana 53 anos). Internação prévia foi observada em 646 pacientes (29,2%) e as IAAS foram documentadas em 840 pacientes (64,3%). O tempo médio de internação foi $57,1 \pm 3,3$ dias (1 – 1989 dias, mediana 32 dias) e o tempo entre a admissão e a primeira cultura positiva para *S. aureus* foi $28,4 \pm 2,4$ dias (intervalo dias; mediana dias).

Os pacientes estavam internados em diferentes setores do hospital: clínica médica (31%), clínica cirúrgica (20,3%), UTI adultos (21,8%), pediatria (8%), nefrologia (incluindo hemodiálise e diálise peritoneal ambulatorial) (16,4%) e UTI pediátrica (2,4%). Os espécimes clínicos mais freqüentes foram hemoculturas (39%), secreção/biopsia de pele e tecidos moles (23,8%), secreção traqueal / lavado broncoalveolar (17,1%) e culturas de ponta de cateter (7,1%). A resistência global aos antimicrobianos foi: oxacilina (37,7%), penicilina (90%), clindamicina (34,1%), eritromicina (39,3%), ciprofloxacina (30%), sulfametoxazol-trimetoprima (10,5%), cloranfenicol (16,7%), tetraciclina (14,4%), e gentamicina (14,6%). A mortalidade geral neste grupo de pacientes foi de 30,5%.

Usando a regra de predição fenotípica 276 cepas (21,1%) corresponderam ao perfil-CA-MRSA, 216 (16,5%) ao perfil-HA-MRSA e 814 (62,3%) foram cepas MSSA. As principais características clínicas e demográficas dos pacientes infectados / colonizados pelos diferentes perfis de *S. aureus* são apresentados na tabela 2.

Para a maioria das variáveis analisadas não houve diferença significativa entre os fenótipos de *S. aureus*. A mortalidade foi maior nos pacientes com perfil-HA-MRSA (43,5%; OR: 1,98 IC95%: 1,4 -2,6) e perfil-CA-MRSA (35,5%, OR: 1,35 IC95%: 1 -1,7) comparados com o perfil MSSA (25,4%; OR: 0,53; IC95%: 0,41 – 0,68). A comparação da mortalidade entre HA-MRSA e CA-MRSA pelo teste de *Bonferroni* não foi significativa ($p = 0,25$). A idade dos pacientes com perfil-HA-MRSA ($54,6 \pm 1,4$) e perfil-CA-MRSA ($50,6 \pm 1,4$) foi ligeiramente maior do que aqueles com perfil MSSA ($47,2 \pm 0,8$) ($p < 0,05$). Houve maior número de episódios de colonização / infecção em pacientes masculinos com MRSA (61% e 60% para HA-MRSA e CA-MRSA respectivamente) comparados com os MSSA (50%) ($p < 0,05$).

Tabela 2. Características Demográficas de 1299 Pacientes com 1306 Culturas Positivas de *Staphylococcus aureus*, HUPE-UERJ Fevereiro 2005 – Junho 2011

Características	MSSA	Perfil-CA-MRSA	Perfil-HA-MRSA
	(n = 814) No (%)	(n = 276) No (%)	(n = 216) No (%)
Mortalidade Global*	207 (25.4)	98 (35.5)	94 (43.5)
Genero Masculino*	408 (50.1)	169 (61.2)	131 (60.6)
Idade, média ± DP (anos)*	47 ± 23	50 ± 23	54 ± 21
Tempo de permanência hospitalar (dias)	52.2 ± 5.2	69.8 ± 4.9	58 ± 3.3
Internação anterior (3 meses)	410 (50.4)	153 (55.3)	97 (44.9)
Tempo para cultura positiva por <i>S. aureus</i>	24.4 ± 3.72	38.7 ± 3.85	29.1 ± 2.15
Setor de Coleta			
Clinica médica	238 (29.2)	101 (36.6)	66 (30.5)
Clinica cirúrgica	181 (22.2)	40 (14.5)	44 (20.3)
UTI adulto	142 (17.4)	69 (25)	74 (34.2)
Pediatria	77 (9.45)	18 (6.5)	10 (4.6)
Nefrologia	158 (19.4)	38 (13.8)	18 (8.3)
UTI Pediátrica	18 (2.2)	10 (3.6)	4 (1.8)
Espécime Clínico			
Sangue	318 (39.1)	122 (44.2)	70 (32.4)
Secreção/Biopsia Pele/Tecidos Moles	153 (18.8)	38 (13.8)	18 (8.3)
Aspirado de secreção traqueal/LBA	122 (15)	38 (13.8)	64 (29.6)
Secreções/Biopsia Osso e Articulações	20 (2.5)	5 (1.8)	3 (1.38)
Urina/ Secreção genital	67 (8.2)	10 (3.6)	15 (6.9)
Coleções/Biopsia Intra-abdominal	26 (3.1)	6 (2.1)	8 (3.7)
Secreção de ferida Operatória/Biopsia	60 (7.3)	24 (8.7)	18 (8.3)
Liquor	5 (0.6)	2 (0.72)	1 (0.5)
Cultura de ponta de cateter	43 (5.2)	31 (11.2)	19 (8.8)

MRSA = *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; HA-MRSA = MRSA adquirido no hospital; CA-MRSA = MRSA adquirido na comunidade; DP= desvio padrão UTI = Unidade de tratamento intensivo; LBA: Lavado bronco-alveolar. * p-valor < 0.05

No gráfico 4 estão apresentadas as tendências temporais dos fenótipos de *S. aureus*. Os dados ajustados mostram uma diminuição constante do número de infecções / colonizações pelo perfil-HA-MRSA, fato que foi confirmado usando o teste de Dickey-Fuller ($r^2 = -0,007$; $p < 0,05$). Apesar do aumento no número do perfil-CA-MRSA observado no estudo, essa tendência não alcançou significância estatística ($p = 0,06$) e a presença do perfil MSSA permaneceu estável no período do estudo ($p = 0,4$).

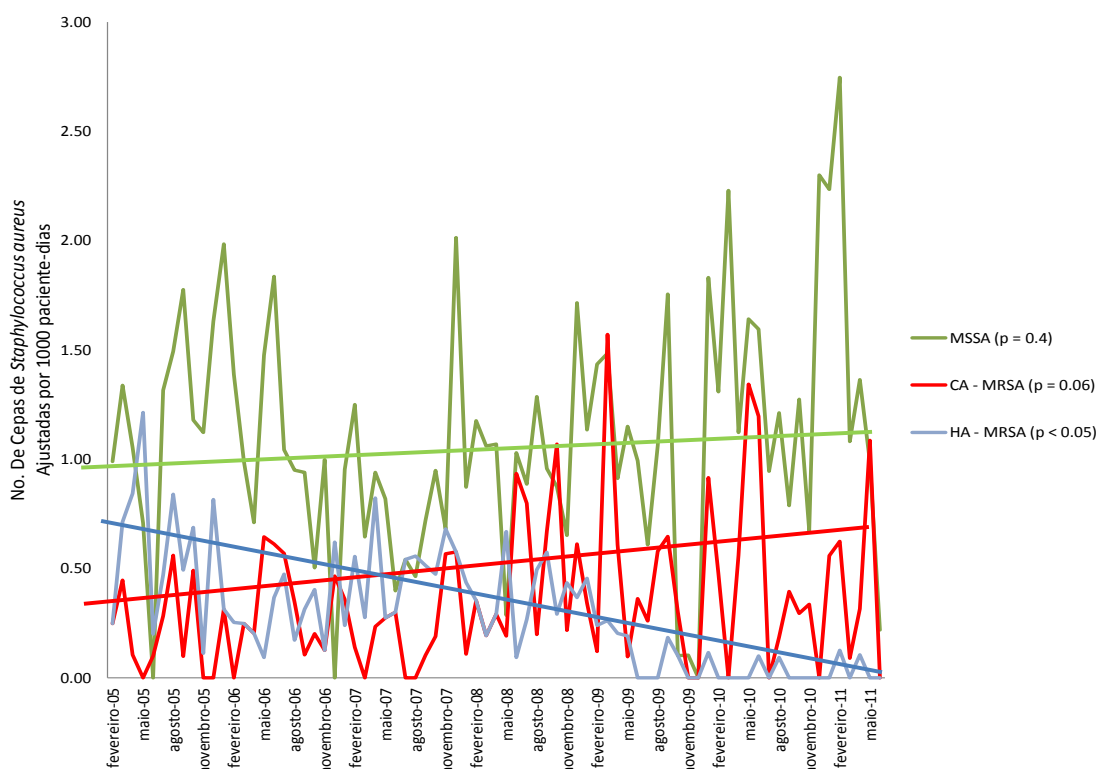


Gráfico 4 - Frequência de *S. aureus* recuperadas em pacientes atendidos no HUPE/UERJ (Fevereiro 2005 – Junho 2011)

4.2 Estudo dos fatores de risco da mortalidade associada a infecções por *S. aureus*

Com o objetivo principal de identificar fatores associados com a mortalidade em infecções por *S. aureus*, foi seleccionado um subgrupo de 163 pacientes no período de junho de 2005 a novembro de 2009, conforme aos critérios de inclusão descritos no item 3.2 da metodologia. Cinquenta e oito por cento eram de sexo masculino, e a idade média foi 50 ± 21 anos (0-89 anos; mediana: 54 anos). Foi documentada internação previa (três meses) em 55,8% dos pacientes e foi documentada IAAS em 71,7% dos episódios. O tempo médio de internação nos pacientes foi $26,2 \pm 2,7$ dias (1-160 dias; mediana: 14 dias)

Os pacientes estavam distribuídos em diferentes setores do hospital: clínica médica (36,2%), clínica cirúrgica (18,4%), UTI adulto (15,3%), pediatria (9,2%), nefrologia (incluindo hemodiálise e diálise peritoneal) (21,4%).

Os espécimes clínicos mais freqüentemente usados nesta análise foram hemoculturas (77%), abscessos/secreções/biopsias de pele e tecidos moles (12,3%), lavado broncoalveolar (2,4%) e biopsias de osso /articulações (7,1%). Houve co-infecção em 24% dos episódios infecciosos, sendo mais prevalentes com espécies de enterobactérias (37,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (25%) e *Acinetobacter* spp (10%). O tipo de infecção mais freqüente foi à ICS relacionada a uso de cateter venoso central (ICS-CVC) (33,7%), infecções de pele e tecidos moles (18,4%), pneumonia adquirida no hospital (PNH) (incluída a pneumonia associada a uso de ventilação mecânica - PAVM) (11%) e a infecção de ferida operatória (IFO) (18,4%).

Foi usada monoterapia antimicrobiana em 41,7% dos pacientes, sendo usados β -lactâmicos em 61,9% e vancomicina em 58,2%. O tempo médio para o início da terapia antimicrobiana após a identificação do micro-organismo na cultura foi em média $2,75 \pm 0,6$ dias, sendo especificamente para vancomicina $4,6 \pm 0,95$ dias. Após o episódio infeccioso, 111 pacientes receberam alta hospitalar (68,1%), a mortalidade associada à infecção por *S. aureus* foi observada em 38 pacientes (23,3%) e 14 pacientes (8,6%) faleceram por outras causas.

A doença associada (comorbidade) em maior freqüência foi a doença renal crônica (DRC), especialmente em pacientes submetidos a hemodiálise ou diálise peritoneal (44,2%). Também foram freqüentes as doenças do tecido conectivo (22,9%), diabetes mellitus (20,2%), insuficiência cardíaca congestiva (ICC) (17,8%), doença arterial periférica obstrutiva (17,2%), tumor sólido maligno (13,5%) e acidente cérebro-vascular (13,5%). O índice de Charlson ajustado por idade nesses pacientes foi $4,28 \pm 0,2$ e a percentagem de sobrevivência estimada para 10 anos foi $49,3 \pm 3$ %.

Das 163 amostras de *S. aureus*, 73 foram do perfil MSSA, 65 do perfil-CA-MRSA e 25 do perfil-HA-MRSA. Considerando a análise das características clínicas e demográficas em relação aos diferentes perfis, foi observado aumento significativo no tempo de permanência hospitalar dos pacientes com infecções pelo perfil-HA-MRSA ($32,8 \pm 8,3$ dias) comparado com os que tiveram perfil-CA-MRSA ($31 \pm 4,3$ dias) ou MSSA ($19,3 \pm 3,4$ dias) ($p < 0,05$). Também houve mais infecções pelo perfil-CA-MRSA nas unidades cirúrgicas em relação aos outros perfis ($p < 0,05$). No grupo de pacientes com infecções pelo perfil-HA-MRSA a co-infecção foi mais freqüente ($p < 0,05$). Nas outras variáveis analisadas não houve diferenças

estatisticamente significativas, incluindo a taxa de mortalidade associada ($p = 0,7$). As principais características clínicas e demográficas dos pacientes no estudo de caso e controle estão relacionadas na tabela 3.

Para conhecer as variáveis que estão associadas a mortalidade por infecção de *S. aureus*, foi realizado uma análise univariada cujos principais resultados são apresentados na tabela 4. Nesta análise foi observado que vários fatores relacionados com idade avançada influíram no desfecho destes pacientes. Assim, idade extrema, internação na UTI, infecção adquirida na UTI, PNH (incluída a PAVM), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e leucemia foram fatores de risco estatisticamente significantes relacionados à mortalidade por infecção com *S. aureus*. ($p < 0,05$). As infecções por MSSA ($p = 0,5$), por perfil-CA-MRSA ($p = 0,4$) ou perfil-HA-MRSA ($p = 0,9$) não estiveram associadas a aumento na mortalidade por *S. aureus*.

Na análise multivariada (tabela 5), foram demonstradas como fatores independentes da mortalidade dos pacientes com episódios infecciosos por *S. aureus*, a presença de PNH, COPD e leucemia ($p < 0,05$).

Tabela 3. Características Clínicas e Demográficas dos Pacientes com Infecções por *Staphylococcus aureus* no HUPE-UERJ

Características	MSSA (n = 73)	CA-MRSA (n = 65)	HA-MRSA (n = 25)	P-valor
Variáveis demográficas	No. (%)	No. (%)	No. (%)	
Gênero masculino	43 (58.9)	35 (53.8)	13 (52)	0.7
Idade (anos, média ± DP)	50.1 ± 2.4	50 ± 2.9	52 ± 4.1	0.2
Tempo de permanência hospitalar (Dias; Média ± DP)	19.3 ± 3.4	31 ± 4.3	32.8 ± 8.33	0.05
Internação anterior (3 meses)	45 (37)	32 (33.8)	14 (56)	0.3
Setor de Internação				
Clinica médica	27 (37)	22 (33.8)	10 (40)	0.8
Clinica cirúrgica	9 (12.3)	17 (26.1)	4 (16)	0.1
UTI adulto	13 (17.8)	7 (10.8)	5 (20)	0.4
Pediatria	5 (6.9)	8 (12.3)	2 (8)	0.5
Nefrologia (incluindo hemodiálise)	14 (19.2)	9 (13.8)	4 (16)	0.7
Espécimes Clínicos				
Sangue	67 (53.1)	40 (31.7)	19 (15.8)	<0.05
Secreção/Biopsia Pele/Tecidos Moles	4 (5.5)	14 (21.5)	2 (8)	<0.05
Aspirado de secreção traqueal/LBA	-	4 (6.2)	-	<0.05
Secreções/Biopsia Osso e Articulações	2 (2.7)	2 (3.1)	1 (4)	0.9
Urina/Secreção genital	-	2 (3.1)	1 (4)	0.3
Coleções/Biopsia Intra-abdominal	-	3 (4.6)	2 (8)	<0.05
Setor de Coleta				
Clinica médica	28 (38.3)	25 (38.5)	11 (44)	0.9
Clinica cirúrgica	3 (4.1)	14 (21.5)	3 (12)	<0.05
UTI adulto	14 (19.2)	10 (15.4)	5 (20)	0.8
Pediatria	5 (6.8)	6 (9.2)	2 (8)	0.9
Nefrologia (incluindo hemodiálise)	23 (31.5)	10 (15.4)	4 (16)	0.05
Infecções associadas a assistência em saúde	49 (67.1)	46 (70.8)	21 (84)	0.3
Tipo de Infecção				
ICS-RC	29 (39.7)	18 (27.7)	8 (32)	0.3
Infecção de ferida Operatória	6 (8.2)	8 (12.3)	2 (8)	0.6
Infecção Pele /tecidos Moles	10 (13.7)	15 (23.1)	5 (20)	0.3
IIA (incluído peritonite, abscesso, Colangite)	2 (2.7)	4 (6.2)	1 (4)	0.6
Osteomielite/Artrite	3 (4.1)	5 (7.7)	2 (8)	0.6
Pneumonia Comunitária	7 (9.6)	4 (6.2)	-	0.2
Pneumonia Hospitalar (incluída PAVM)	7 (9.6)	7 (10.8)	4 (16)	0.7
Outros	9 (12.3)	4 (6.2)	3 (12)	0.4

* Tempo desde a data de internação. UTI = Unidade de Tratamento Intensivo. MSSA = *Staphylococcus aureus* sensível a metilina; HA-MRSA = MRSA adquirido no hospital; CA-MRSA = MRSA adquirido na comunidade; DP = desvio padrão UTI = Unidade de Tratamento Intensivo; ILBA: Lavado Broncoalveolar. ICS-RC: Infecção de corrente sanguínea relacionada a uso de cateter intravascular; PAVM: Pneumonia associada a uso de ventilação mecânica

Tabela 3. Características Clínicas e Demográficas dos Pacientes com Infecções por *Staphylococcus aureus* no HUPE-UERJ (continuação)

Características	MSSA (n = 73)	CA-MRSA (n = 65)	HA-MRSA (n = 25)	P-valor
	No. (%)	No. (%)	No. (%)	
Co-infecção	10 (13.7)	17 (26.1)	13 (52)	<0.05
Microorganismos Co-infetantes				
<i>Acinetobacter</i> spp.	2 (2.7)	2 (3.1)	-	0.2
<i>Enterobacterias</i>	2 (2.7)	10 (15.3)	3 (12)	<0.05
<i>Enterococcus</i> spp.	1 (1.3)	1 (1.5)	1 (4)	0.9
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	4 (5.5)	4 (6.1)	2 (8)	0.8
<i>Staphylococcus</i> coagulasa-negativa	1 (1.3)	-	5 (20)	<0.05
Terapia Antimicrobiana				
Monoterapia	35 (48)	26 (40)	7 (28)	0.2
Uso de β -lactâmicos	51 (69.8)	34 (52.3)	16 (64)	0.1
Uso de Vancomicina	36 (49.3)	41 (63)	18 (72)	0.08
Tempo até o início de antimicrobianos* (dias) (Media \pm DP)	2.9 \pm 1	3 \pm 1.1	1.3 \pm 0.4	0.5
Tempo para início da vancomicina (dias) (Media \pm DP)	2.9 \pm 0.8	4.8 \pm 1.8	7.6 \pm 2.4	0.1
Tempo de uso de vancomicina (dias) (Media \pm DP)	11.1 \pm 1.1	14.3 \pm 1.3	20.8 \pm 4	0.2
Comorbidades				
Síndrome de Imunodeficiência adquirida	2 (2.7)	2 (3.1)	-	0.7
Acidente cerebrovascular	9 (12.3)	10 (15.4)	3 (12)	0.8
Doença pulmonar obstrutiva crônica	4 (5.5)	3 (4.6)	1 (4)	0.9
Insuficiência cardíaca congestiva	18 (24.6)	6 (9.2)	5 (20)	0.06
Doença do tecido conectivo	14 (19.2)	18 (27.7)	4 (16)	0.4
Diabetes mellitus	12 (16.4)	15 (23.1)	6 (24)	0.5
Demência	2 (2.7)	1 (1.5)	-	0.6
Cirrose	2 (2.7)	4 (6.1)	1 (4)	0.6
Insuficiência renal crônica	36 (49.3)	25 (38.5)	11 (44)	0.4
Leucemia	4 (5.5)	2 (3.1)	-	0.4
Tumor sólido maligno	9 (12.3)	11 (24.6)	2 (12)	0.5
Linfoma	1 (1.3)	1 (1.5)	1 (4)	0.7
Infarto agudo do miocárdio	10 (13.7)	7 (10.8)	4 (16)	0.7
Insuficiência arterial periférica	9 (12.3)	16 (24.6)	3 (12)	0.1
Úlcera gástrica ou duodenal	6 (8.2)	7 (10.8)	-	0.2
Índice de Charlson ajustado por idade (Media \pm DP)	3.8 \pm 0.3	4.9 \pm 0.4	4 \pm 0.5	0.7
Alto índice de Charlson ajustado (índice >7)	5 (6.8)	12 (18.5)	2 (8)	0.08
Sobrevida estimada 10 anos (% \pm DP)	54.2 \pm 4.5	42.8 \pm 4.9	51.7 \pm 8.2	0.2
Baixa sobrevida a 10 anos (índice <40%)	27 (37)	30 (46.1)	10 (40)	0.5
Desfecho				
Alta	46 (63)	49 (75.4)	16 (64)	0.3
Óbito relacionado a infecção por <i>S. aureus</i>	19 (26)	13 (20)	6 (24)	0.7
Óbito não relacionado a infecção por <i>S. aureus</i>	8 (11)	3 (4.6)	3 (12)	0.3

* Tempo desde a data de internação. UTI = Unidade de Tratamento Intensivo. MSSA = *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina; HA-MRSA = MRSA adquirido no hospital; CA-MRSA = MRSA adquirido na comunidade; DP = desvio padrão UTI = Unidade de Tratamento Intensivo; ILBA = Lavado Broncoalveolar. ICS-RC: Infecção de corrente sanguínea relacionada a uso de cateter intravascular; PAVM: Pneumonia associada a uso de ventilação mecânica

Tabela 4. Análise Univariada da Mortalidade Associada a Infecções por *Staphylococcus aureus* no HUPE-UERJ

Características	Alta/Óbito não relacionado a infecção por <i>S. aureus</i> (n = 125)	Óbito relacionado a infecção por <i>S. aureus</i> (n = 38)	P-valor
Variáveis demográficas			
Gênero masculino	69 (55.2)	22 (57.9)	0.8
Idade (anos, média ± DP)	47.2 ± 1.2	61 ± 2.8	<0.05
Tempo de permanência hospitalar (Dias; Média ± DP)	27 ± 3.2	19.6 ± 3.7	0.2
Internação anterior (3 meses)	68 (54.4)	23 (60.5)	0.6
Setor de Internação			
Clínica médica	44 (35.2)	15 (39.5)	0.6
Clínica cirúrgica	22 (17.6)	8 (21)	0.6
UTI adulto	14 (11.2)	11 (29)	<0.05
Pediatria	14 (11.2)	1 (2.6)	0.1
Nefrologia (incluindo hemodiálise)	31 (24.8)	3 (7.9)	<0.05
Infecções associadas a assistência em saúde	88 (70.4)	28 (73.7)	0.8
Setor de Coleta			
Clínica médica	45 (36)	19 (50)	0.1
Clínica cirúrgica	18 (14.4)	2 (5.2)	0.1
UTI adulto	18 (14.4)	11 (29)	<0.05
Pediatria	12 (9.6)	1 (2.6)	0.1
Nefrologia (incluindo hemodiálise)	32 (25.6)	5 (13.1)	0.1
Tipo de Infecção			
ICS-RC	45 (36)	10 (26.3)	0.3
Infecção de ferida Operatória	14 (11.2)	2 (5.3)	0.3
Infecção Pele /tecidos Moles	27 (21.6)	3 (7.9)	0.06
IAls (incluído peritonitis, abscess, Colangite)	6 (4.8)	1 (2.6)	0.5
Osteomielite/Artrite	10 (8)	-	
Pneumonia Comunitária	6 (4.8)	5 (13.1)	0.07
Pneumonia Hospitalar (incluída PAVM)	9 (7.2)	9 (23.7)	<0.05

* Início do antibiótico 48 hs depois de identificação da cepa de *Staphylococcus aureus* baseado no reporte de susceptibilidade da cultura). UTI = Unidade de Tratamento Intensivo.

MSSA = *Staphylococcus aureus* sensível a metilina; HA-MRSA = MRSA adquirido no hospital; CA-MRSA = MRSA adquirido na comunidade; DP = desvio padrão UTI = Unidade de Tratamento Intensivo; ILBA: Lavado Broncoalveolar CS-RC: Infecção de corrente sanguínea relacionada a uso de cateter intravascular; PAVM: Pneumonia associada a uso de ventilação mecânica

Tabela 4. Análise Univariada da Mortalidade Associada a Infecções por *Staphylococcus aureus* no HUPE-UERJ (Continuação)

Características	Alta/Óbito não relacionado a	Óbito relacionado a	P-valor
	infecção por <i>S. aureus</i> (n = 125)	infecção por <i>S. aureus</i> (n = 38)	
	No (%)	No (%)	
Co-infecção	29 (23.2)	11 (28.9)	0.5
Terapia Antimicrobiana			
Monoterapia	52 (41.6)	16 (42.1)	1
Uso de β -lactâmicos	80 (64)	21 (55.3)	0.3
Uso de Vancomicina	69 (55.2)	26 (68.4)	0.2
Atraso em terapia antibiótica adequada*	29 (23.2)	8 (21)	1
Atraso em uso de vancomicina adequado*	82 (65.6)	22 (57.9)	0.4
Comorbidades			
Doença pulmonar obstrutiva crônica	3 (2.4)	5 (13.2)	< 0.05
Leucemia	2 (1.6)	4 (10.5)	< 0.05
Acidente cerebrovascular	14 (11.2)	8 (21)	0.1
Cirrose	4 (3.2)	3 (7.9)	0.4
Demência	2 (1.6)	1 (2.6)	0.6
Linfoma	2 (1.6)	1 (2.6)	0.6
Infarto agudo do miocárdio	16 (12.8)	5 (13.2)	1
Úlcera gástrica ou duodenal	10 (8)	3 (7.9)	1
Insuficiência arterial Periférica	22 (17.6)	6 (15.8)	1
Diabetes Mellitus	25 (20)	8 (21)	1
Síndrome de Imunodeficiência adquirida	3 (2.4)	1 (2.6)	1
Insuficiência Cardíaca Congestiva	22 (17.6)	7 (18.4)	1
Doença do tecido conectivo	28 (22.4)	8 (21)	1
Insuficiência Renal crônica	57 (45.6)	15 (39.5)	0.57
Tumor Sólido Maligno	17 (13.3)	5 (13.1)	1
Alto índice de Charlson ajustado (índice > 7)	14 (11.2)	5 (13.1)	0.77
Fenótipos de <i>S. aureus</i>			
MSSA	54 (43.2)	19 (50)	0.5
Perfil-CA-MRSA	52 (41.6)	13 (34.2)	0.4
Perfil-HA-MRSA	19 (15.2)	6 (15.8)	0.9

* Início do antibiótico 48 hs depois de identificação da cepa de *Staphylococcus aureus* baseado no reporte de susceptibilidade de cultura). UTI = Unidade de Tratamento Intensivo.

MSSA = *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina; HA-MRSA = MRSA adquirido no hospital; CA-MRSA = MRSA adquirido na comunidade; DP= desvio padrão UTI = Unidade de Tratamento Intensivo; ILBA: Lavado Broncoalveolar CS-RC: Infecção de corrente sanguínea relacionada a uso de cateter intravascular; PAVM: Pneumonia associada a uso de ventilação mecânica

Tabela 5. Análise multivariada da mortalidade associada à infecção em pacientes com cepas de *S. aureus* (HUPE/UERJ)

Variáveis	Razão de Chances de Odds	Desvio Padrão	p-valor	Intervalo Confiança 95%	
Pneumonia Hospitalar	4.94	2.76	0.004	1.65	14.8
Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	6.09	5.15	0.03	1.16	31.98
Leucemia	8.2	7.97	0.03	1.25	54.7

No gráfico 5, é apresentada a curva de sobrevivência das infecções considerando os fenótipos de *S. aureus*. Não houve diferença na mortalidade associada a um perfil particular, somente foi observada uma ligeira tendência ao aumento da mortalidade em infecções por MSSA na primeira semana ($p = 0,07$).

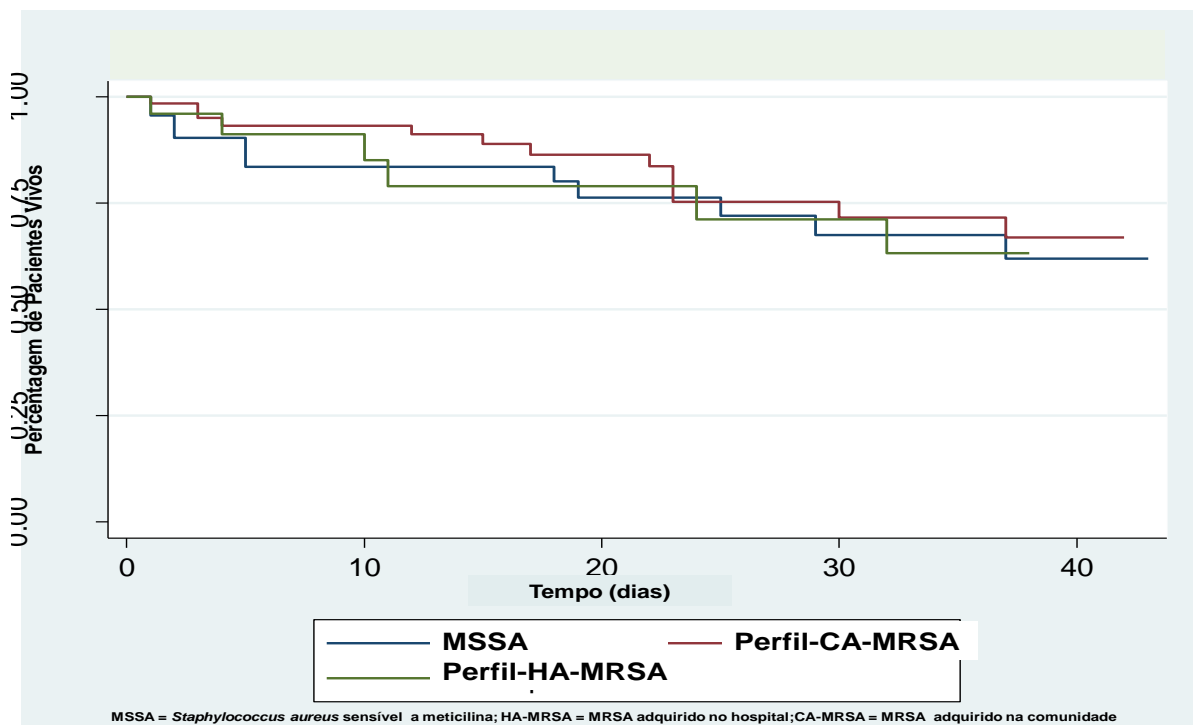


Gráfico 5 - Análises de sobrevivência usando curvas de Kaplan-meier da mortalidade relacionada à infecção por diferentes perfis fenotípicos de *S. aureus*.

4.3 Análise comparativa da susceptibilidade aos antimicrobianos de amostras MRSA aos antibióticos usados em infecções graves.

De um total de 61 MRSA, correspondendo a um subgrupo das 90 amostras do estudo de caso e controle, foi feita uma análise da susceptibilidade aos antimicrobianos por três metodologias. Todas as amostras foram sensíveis a vancomicina, teicoplanina, linezolida e daptomicina independente da metodologia usada (tabela 6).

Tabela 6. Susceptibilidade aos antimicrobianos usados em infecções graves por MRSA em pacientes do HUPE/UERJ

Antibiótico / Metodologia (n = 61)	Média	DP	Intervalo
Vancomicina			
Teste disco - difusão em agar * (mm)	19	3.4	10 - 30
CIM (Microdiluição em caldo, µg/ml)	0.9	0.2	0.25 - 1.5
CIM (E-test®, µg/ml)	1.3	0.4	0.5 - 2
Teicoplanina			
Teste disco - difusão em agar * (mm)	18.1	3.4	11 - 30
CIM (Microdiluição em caldo, µg/ml)	0.5	0.26	0.25 - 1.5
CIM (E-test®, µg/dL)	1	0.57	0.125 - 3
Linezolida			
Teste disco - difusão em agar * (mm)	30.4	4.5	22 - 40
CIM (Microdiluição em caldo, µg/ml)	1.6	0.7	0.25 - 4
CIM (E-test®, µg/ml)	0.7	0.3	0.125 - 1.5
Daptomicina			
CIM (Microdiluição em caldo, µg/ml)	0.8	0.4	0.25 - 2
CIM (E-test®, µg/ml)	0.4	0.3	0.125 - 2

DP: desvio padrão; mm: milímetros; CIM: concentração inibitória mínima

Uma análise comparativa dos resultados obtidos nas diferentes metodologias foram integrados em curvas ROC (gráficos 5 – 8). Os testes de disco-difusão mostraram valores de AUC baixos para vancomicina, linezolida e teicoplanina, o que reflete baixa especificidade e sensibilidade desta metodologia. Não houve correlação

entre os valores da CIM obtidos por microdiluição e por E-test® para linezolidina ($p=0,1$) ou daptomicina ($p = 0,9$). Por outro lado, houve uma boa correlação entre os valores da CIM obtidos no método padrão-ouro e pelo E-test® para teicoplanina ($p=0,05$). Só houve correlação entre o valor da CIM para vancomicina entre as duas metodologias para as amostras MRSA que no E-test® apresentaram valores de CIM $2 \mu\text{g/mL}$ ($p =0.02$) (tabela 7)

Tabela 7. Regressão Logística para CIM de vancomicina
(Ponto de corte $> 1.5 \mu\text{g/ml}$)

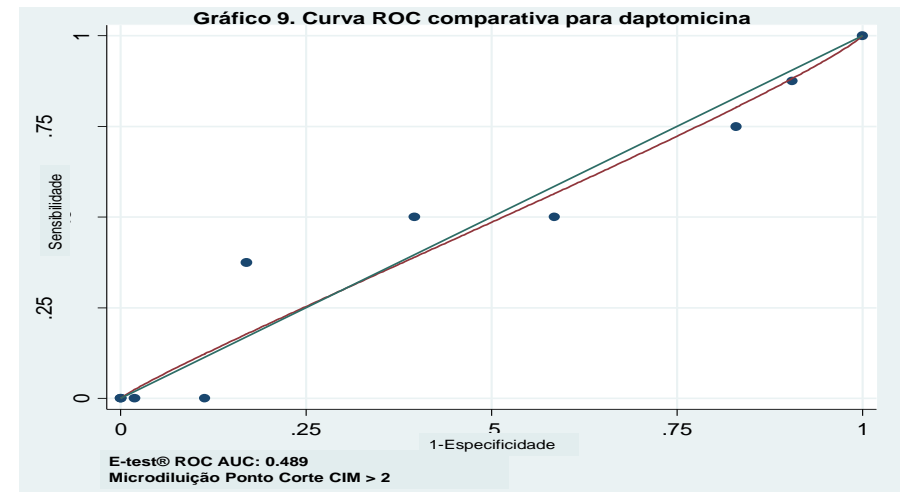
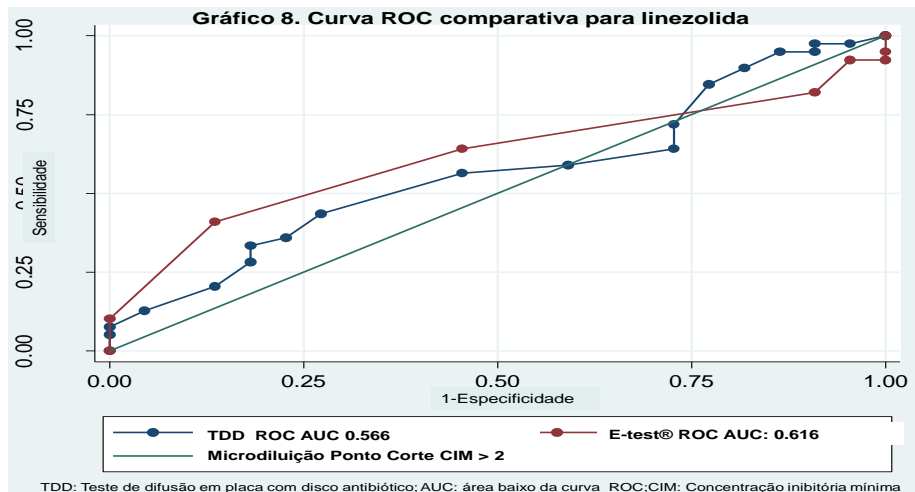
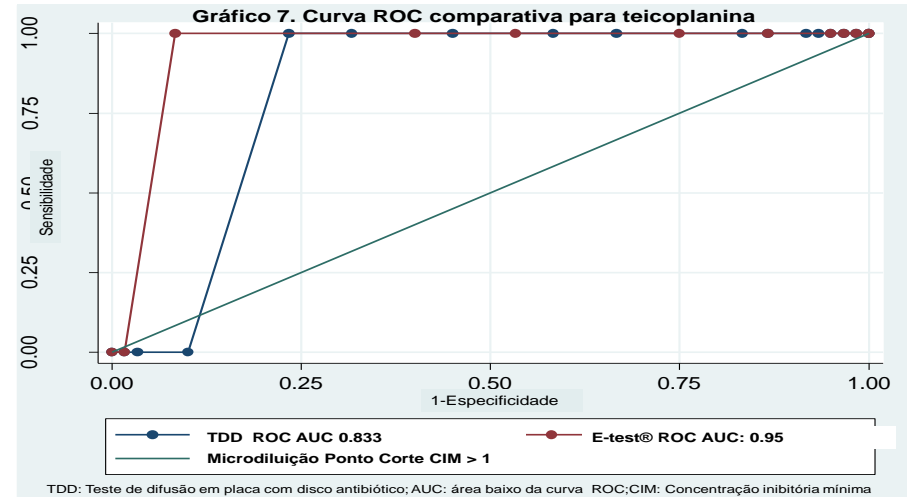
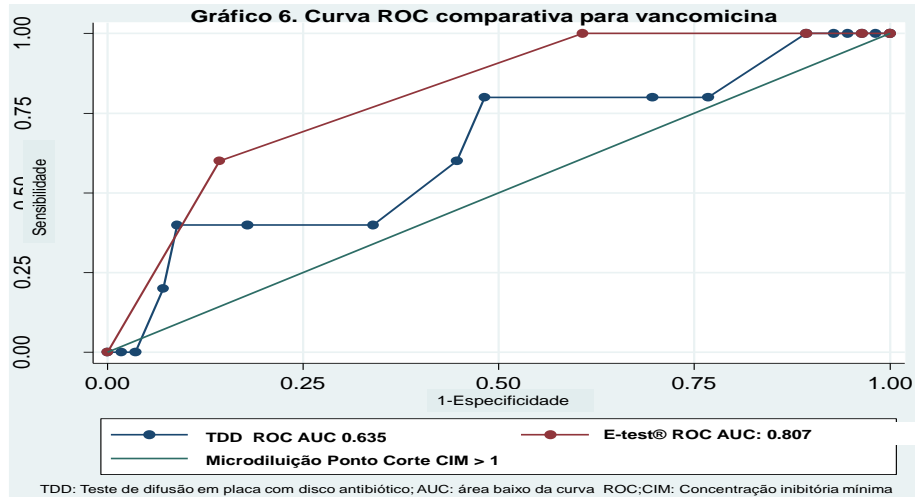
CIM Vancomicina E-test®	Razão de chances de Odds	p-valor	IC95%
0.25	3.1	0.2	-1.6 - 7.9
0.5	-1.3	0.06	-3.1 - 0.3
1.5	3.7	0.03	0.3 - 7.1
2	9	0.02	1.3 – 60.5

IC = Intervalo de confiança; CIM = concentração inibitória mínima ,
valores da CIM em $\mu\text{g/ml}$

Uma análise multivariada foi realizada para avaliar se valores de CIM determinados dos diferentes antimicrobianos estavam relacionados com a mortalidade neste grupo de pacientes (tabela 8). O aumento na CIM de vancomicina ou na CIM de qualquer dos antibióticos testados não foi associado com o aumento na mortalidade, prevalecendo como causa de mortalidade a PNH ($p < 0,05$) e a internação na clínica médica($p=0.05$).

Tabela 8. Análise Multivariada da Mortalidade Relacionada a MRSA

Variável	Razão de chances de Odds	Desvio Padrão	P-valor	Intervalo de Confiança 95%
Pneumonia Hospitalar	9.5	7.7	< 0.05	1.9 - 46.4
Internação na clínica médica	4.1	3	0.05	0.99 - 17.2
CIM vancomicina > 1	1	1.55	0.9	0.06 - 18
CIM teicoplanina > 1.5	3.1	4.1	0.3	0.2 - 41.4
CIM linezolidina ≥ 2	1.4	0.7	0.4	0.5 - 3.9
CIM daptomicina > 1	0.6	0.6	0.6	0.1 - 3.6



Gráficos 6 – 9. Comparação de curvas ROC usando diferentes metodologias (microdiluição em caldo, teste de difusão em agar e E-test®) para vancomicina (gráfico 6), teicoplanina (gráfico 7), linezolida (gráfico 8) e daptomicina (gráfico 9) em cepas infectantes de MRSA HUPE/UERJ. (TDD = teste de difusão em agar; CIM = concentração inibitória mínima, valores em µg/ml).

5 DISCUSSÃO

Existem muitos fatores que estão relacionados na evolução biológica das espécies bacterianas associadas às IAAS (De Sousa et al, 2003; Deurenberg et al, 2008). As novas tecnologias, incluindo, as terapias com medicamentos imunossupressores, o uso de dispositivos invasivos, a pressão de colonização exercida pelo uso continuado de antimicrobianos e as mudanças nos sistemas de saúde, com maior contato no meio comunitário trazem um grande impacto nos ecossistemas microbianos (David et al, 2010).

Condições particulares de disseminação do gênero *Staphylococcus* spp. tais como a capacidade de colonizar com sucesso pele e mucosas de mamíferos, a alta transmissibilidade entre os trabalhadores da saúde e a longa sobrevivência em objetos inanimados podem representar vantagens biológicas na geração de quadros infecciosos (Deurenberg et al, 2008; David et al, 2010).

Mudanças locais nos padrões epidemiológicos da resistência a antimicrobianos destes micro-organismos são fenômenos que devem ser avaliados constantemente para estabelecer protocolos de antibioticoterapia empírica, melhorar as rotinas de controle de IAAS, e maximizar o uso dos recursos orientando as práticas de administração da saúde (Feinstein, 1985).

Na primeira parte deste estudo, foram avaliadas as mudanças temporais nos padrões da resistência de *S. aureus* em nossa instituição. Observamos uma tendência à diminuição das amostras de HA-MRSA (fenotipicamente sugestivas do clone BEC) e ao aumento de amostras perfil-CA-MRSA (que prediz o genótipo MRSA SCC*mec* tipo IV), o que pode refletir um bem sucedido mecanismo de transmissão desse fenótipo nos serviços de saúde. Infelizmente, na nossa amostragem não temos informações anteriores a 2004, época na qual, provavelmente, começou este fenômeno no Brasil (possivelmente originário do Uruguai, onde foi descrito em 2002). Este fato talvez possa explicar a falta de significância estatística.

Estudos realizados no Rio de Janeiro apontam para tendências ao aumento na policlonalidade de cepas MRSA não-multirresistentes derivadas da cepa MRSA SCC*mec* tipo IV, nos serviços de saúde (Schuenck et al, 2009). As mudanças no

perfil molecular de *S. aureus*, apontam para necessidade de estudos dos novos modelos de colonização e infecção nas IAAS.

É importante considerar que no Brasil predominam as IAAS causadas por bactérias Gram-negativas (Gales et al, 2009) e, talvez, a diminuição relativa de amostras com perfil-HA-MRSA esteja relacionada ao aumento de outros micro-organismos que concorrem pelos mesmos nichos ecológicos nos serviços de saúde, como por exemplo, *Acinetobacter* spp. multirresistente, enterobactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) ou carbapenemases, que apresentam um aumento significativo na última década nos serviços de saúde (Bassetti et al, 2011).

Os clones de CA-MRSA parecem ter vantagens na disseminação nos serviços de saúde, contribuindo para isso estão a rápida capacidade de replicação, fatores de virulência, dentre eles a toxina PVL, e os reservatórios animais e humanos que garantem sua supremacia biológica frente ao HA-MRSA (Bootsma et al, 2006).

Na análise da mortalidade global por *S. aureus* (*all-causes-mortality*), a estratificação por fenótipos mostrou que pacientes colonizados ou infectados com amostras perfil-HA-MRSA apresentaram uma mortalidade maior, fato já reconhecido na literatura desde os primeiros relatos (Cosgrove et al, 2003).

Demonstrar associação entre episódios infecciosos e mortalidade é uma difícil tarefa devido às múltiplas variáveis que devem ser consideradas em uma dimensão holística. Existem variáveis relacionadas ao paciente (fatores genéticos, nutricionais, comorbidades, gravidade da infecção, exposições ambientais); ao micro-organismo (fatores de virulência, determinantes de resistência aos antimicrobianos, *fitness*, disseminação em surtos); ao ambiente (pressão seletiva pelo uso de antimicrobianos, variações sazonais); a terapia antimicrobiana usada (adequação, toxicidade, sinergismo, qualidade na produção dos medicamentos) e as características do sistema de saúde (prática de controle de IAAS, aderência aos protocolos de prescrição de antimicrobianos, recursos hospitalares de infraestrutura, rotinas de procedimentos médicos) (Hooton et al, 1981; Huang et al, 2011).

Assim, estudos que tentam relacionar ou atribuir mortalidade a quadros infecciosos devem ser interpretados cuidadosamente, pois com frequência refletem

mais a comorbidade de base dos pacientes, condições do ambiente, da terapia do que a virulência ou a resistência dos micro-organismos.

No estudo de caso e controle não foi observado aumento da mortalidade por algum fenótipo de *S. aureus* em particular, porém ocorreu uma tendência ao aumento na mortalidade das infecções por MSSA na primeira semana, o que contradiz estudos prévios sobre a mortalidade por *S. aureus*, que estabelecem maiores taxas de mortalidade em infecções por MRSA (Cosgrove et al, 2003, Cosgrove et al, 2005; Popovich et al, 2008). Uma das hipóteses para explicar esses resultados pode ser o aumento na prevalência de cepas CA-MRSA com menor virulência que os CA-MRSA do meio comunitário. A prevalência da toxina PVL em CA-MRSA pode chegar até 90% em amostras comunitárias, entretanto os CA-MRSA adquiridos nos serviços de saúde mostram uma baixa prevalência de PVL (0% a 15%), dependendo da instituição e da localização geográfica (Orendi et al, 2010; Valsesia et al, 2010).

No Brasil, estudos de Vidal e colaboradores não mostraram cepas de CA-MRSA hospitalar produtoras de PVL (Vidal et al, 2009). Também é importante considerar que algumas dificuldades na prescrição de antimicrobianos, especialmente pelo uso inadequado da vancomicina (em particular a sobreprescrição na terapia empírica) possam explicar estas tendências.

Um fato interessante foi que apesar dos pacientes com perfil-CA-MRSA apresentarem altos scores do índice de Charlson-ajustado (o que reflete presença de comorbidades), isso não aumentou a mortalidade nesse grupo.

Uma possibilidade para explicar a mortalidade associada à MSSA pode estar relacionada com as características próprias do sistema de saúde local como, por exemplo, o atraso no atendimento e a prescrição tardia da oxacilina, sem descartar maior virulência das cepas comunitárias de MSSA (maior frequência de clones com PVL+) (Gordon et al, 2008). Estudos realizados na Austrália mostraram que as amostras de MSSA PVL+ de origem comunitária aumentaram na última década. (Gubbay et al, 2008; Nimmo et al, 2010).

Algumas patologias (DPOC, PNH e leucemia) estiveram associadas independentemente a mortalidade por *S aureus*, o que pressupõe que programas de controle das IAAS, devem desenvolver estratégias ativas para evitar a colonização e a infecção de pacientes por *S. aureus*. Estas rotinas devem ser avaliadas em estudos futuros e algumas estratégias da prevenção, tais como swabs de orofaringe,

recto e descolonização com mupirocina, precisam ser analisadas em estudos de custo-benefício.

No estudo de susceptibilidade das amostras de pacientes com infecções por MRSA em nossa instituição, não foi observada resistência aos antimicrobianos testados e usados em infecções graves (vancomicina, teicoplanina, daptomicina e linezolida). Existe controversa do significado clínico de infecções por cepas de *S. aureus* sensíveis a vancomicina com CIM acima de 1 µg/mL. O estudo de Hsu e colaboradores em 83 pacientes com infecções por MRSA com CIM para vancomicina acima de 1.5 µg/mL encontrou um aumento da mortalidade em 27%, comparado com aqueles pacientes com amostras com CIM menores (Tenover, 2010).

Outros estudos também têm observado aumento da mortalidade ou a não resolução do quadro infeccioso quando os pacientes estão infectados por *S.aureus* que mostram valores altos de CIM (Tenover et al, 1998; Butterfield et al, 2011). Por outro lado, recentemente van Hal e colaboradores observaram mortalidade reduzida em infecções de corrente sanguínea devida a MRSA com CIM para vancomicina maior de 1 µg/mL (van Hal et al, 2011). Em nosso estudo não observamos diferença na mortalidade em pacientes infectados por MRSA com CIM para vancomicina maior que 1ug/mL, comparados com aqueles pacientes infectados por MRSA com CIM menor que 1ug/mL. Na análise multivariada, a mortalidade esteve associada com outras variáveis, como pneumonia hospitalar e antecedente de internação na clínica médica ($p < 0.05$).

Parece prudente determinar o valor da CIM para vancomicina em todas as amostras de MRSA, especialmente naquelas que causam infecções em pacientes com fatores de risco para endocardite, pois estudos clínicos demonstraram 35% de aumento em endocardite por MRSA com CIM maior de 1.5ug/mL comparado com outros tipos de infecções (Bae et al, 2009). Em conjunto, esses dados também apontam para a necessidade da revisão nos pontos de corte estabelecidos para vancomicina pelos comitês responsáveis pela padronização dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos.

A principal limitação desta tese foi à falta de informação sobre a gravidade dos pacientes no começo dos episódios infecciosos (índices de gravidade), os quais não foram estabelecidos no estudo retrospectivo e no estudo de caso e controle. As

análises das comorbidades e dos tempos para internação na UTI foram medidas indiretas da gravidade dos pacientes.

Também foi importante a falta de informação relativa a dispositivos invasivos tais como cateteres venosos centrais e intubação endotraqueal, reconhecidos fatores de risco no desenvolvimento de infecções por MRSA. As dificuldades próprias dos serviços de saúde dos hospitais públicos e a falta de informação eletrônica em nossa instituição dificultaram o acesso a estes dados.

Outra limitação observada no estudo de caso e controle foi à alta taxa de co-infecção (24%), o que reflete o caráter polimicrobiano das IAAS em nosso meio. É um fato reconhecido que as bactérias Gram-negativas são as principais causas de IAAS no Brasil (Gales et al, 2009), porém a maioria das co-infecções observadas foram por agentes frequentemente associados à colonização (*Staphylococcus coagulase-negativos*).

São necessários estudos que facilitem o conhecimento da epidemiologia das infecções por *S. aureus* em todas as regiões do Brasil. Estudos moleculares são as chaves ao conhecimento da dinâmica destas bactérias nas IAAS e o estudo das toxinas, especialmente da PVL, serão de grande interesse no futuro próximo.

6 CONCLUSÕES

O levantamento da literatura medica brasileira contemporanea mostrou que 90% das cepas MRSA pertencem a dois genótipos principais: SCC*mec* tipo III ou clone epidêmico Brasileiro (Brazilian epidemic clone – BEC - ST 239), e o clone SCC*mec* tipo IV (clone pediátrico).

A sensibilidade a sulfametoxazol-trimetoprima associada à sensibilidade a pelo menos dois dos antimicrobianos não- β -lactâmicos (gentamicina, rifampicina, ciprofloxacina e tetraciclina) pode ser usada na predição de genótipos MRSA SCC*mec* tipo IV (perfil-CA-MRSA).

Contrariamente, amostras de MRSA com resistência a sulfametoxazol-trimetoprima e adicionalmente resistência a qualquer dos antibióticos considerados como marcadores pela regra de predição tem uma alta chance de corresponder ao genotipo MRSA SCC*mec* tipo III (perfil-HA-MRSA).

A mortalidade por todas as causas em pacientes com culturas positivas para *S. aureus* foi maior nos pacientes com perfil-HA-MRSA e perfil-CA-MRSA comparados com o perfil MSSA.

A comparação da mortalidade entre HA-MRSA e CA-MRSA pelo teste de Bonferroni não foi significativa. Os dados ajustados mostram uma diminuição constante do número de infecções ou colonizações pelo perfil-HA-MRSA no período de fevereiro de 2005 a junho de 2011.

Houve aumento significativo no tempo de permanência hospitalar dos pacientes com infecções pelo perfil-HA-MRSA comparado com os que tiveram perfil-CA-MRSA ou MSSA.

Infecções pelo perfil-CA-MRSA foram significativamente mais freqüentes nas unidades cirúrgicas em relação aos outros perfis.

Idade, avançada, internação ou infecção adquirida em UTIs, PNH (incluída a PAVM), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e leucemia foram fatores de risco estatisticamente significantes relacionados à mortalidade por infecção com *S. aureus*.

Não houve associação entre mortalidade e infecções por um perfil particular de *S.aureus* (MSSA, perfil-CA-MRSA ou perfil-HA-MRSA)

Todas as amostras MRSA foram sensíveis a vancomicina, teicoplanina, linezolida e daptomicina, independente da metodologia usada.

O teste de difusão em agar para vancomicina, linezolida e teicoplanina mostrou baixa especificidade e sensibilidade comparados com o método de microdiluição (padrão-ouro).

Houve uma boa correlação entre os valores da CIM obtidos no método padrão-ouro e pelo E-test® apenas para teicoplanina e vancomicina.

Para vancomicina, a melhor correlação entre os valores da CIM obtidas nas duas metodologias ocorreu quando as amostras apresentaram valores de CIM > 2 µg/ml no E-test®.

O aumento na CIM de vancomicina ou na CIM de qualquer dos antibióticos testados não foi associado com o aumento na mortalidade.

REFERÊNCIAS

- Amaral MM, Coelho LR, Flores RP, Souza RR, Silva-Carvalho MC, Teixeira LA, et al. The Predominant Variant of the Brazilian Epidemic Clonal Complex of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Has an Enhanced Ability to Produce Biofilm and to Adhere to and Invade Airway Epithelial Cells. *J. Infect. Dis.* 2005;192:801–10
- Andrade J, Sales J, David S, et al. Sepsis Brasil: Estudo epidemiológico da sepsis em unidades de terapia intensiva brasileiras. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva.* 2006; jan./mar. 18 (1).
- Austin H, Hill HA, Flanders WD, Greenberg RS. Limitations in the application of case-control methodology. *Epidemiol Rev.* 1994; 16(1):65-76.
- Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yuzawa H, Aoki K, Oguchi A et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet.* 2002;359:1819–27.
- Bae IG, Federspiel JJ, Miró JM, Woods CW, Park L, Rybak MJ, et al. Heterogeneous vancomycin-intermediate susceptibility phenotype in bloodstream methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from an international cohort of patients with infective endocarditis: prevalence, genotype, and clinical significance. *J Infect Dis.* 2009 Nov 1;200(9):1355-66.
- Barber M. Methicillin-resistant *staphylococci*. *J Clin Pathol.* 1961;14:385–93.
- Barrett FF, McGehee RF, Finland M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston City Hospital. Bacteriologic and epidemiologic observations. *N Engl J Med.* 1968; 279:441–8.
- Bassetti M, Ginocchio F, Mikulska M, Taramasso L, Giacobbe DR. Will new antimicrobials overcome resistance among Gram-negatives? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011 Oct;9(10):909-22.
- Bell JM, Turnidge JD. High prevalence of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitalized patients in Asia-Pacific and South Africa: results from SENTRY antimicrobial surveillance program, 1998-1999. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;(46):879-81
- Benoit, S. R., C. Estivariz, C. Mogdasy, W. Pedreira, A. Galiana, A. Galiana et al. Community strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as potential cause of healthcare-associated infections, Uruguay, 2002-2004. *Emerg. Infect. Dis.* 2008;14:1216-23.
- Biedenbach DJ, Moet GL, Jones RN. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2004;(50):59-69

Bloemendaal AL, Brouwer EC, Fluit AC. Methicillin resistance transfer from *Staphylococcus epidermidis* to methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a patient during antibiotic therapy. PLoS One. 2010 Jul 29;5(7):e11841.

Bootsma MCJ, Hota B, Diekmann O, Weinstein RA, Bonten MJM. A mathematical model to determine the growth rate of CA-MRSA and options for control abstract K-1680. In: Program and abstracts of the 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (San Francisco). Washington, DC: American Society for Microbiology. 2006: 365.

Borg MA, Cookson BD, Rasslan O, Gür D, Ben Redjeb S, Benbachir M, et al. Correlation between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prevalence and infection control initiatives within southern and eastern Mediterranean hospitals. J Hosp Infect. 2009 Jan;71(1):36-42.

Boyce JM, Cookson B, Christiansen K, Hori S, Vuopio-Varkila J, Kocagöz S, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet Infect Dis. 2005 Oct;5(10):653-63.

Brady JM, Stemper ME, Weigel A, Chyou PH, Reed KD, Shukla SK. Sporadic "transitional" community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from health care facilities in the United States. J. Clin. Microbiol. 2007;45:2654-61.

Burton DC, Edwards JR, Horan TC, Jernigan JA, Fridkin SK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* central line-associated bloodstream infections in US intensive care units, 1997-2007. JAMA. 2009;301:727-36. .

Butterfield J, Tsuji B, Brown J, Dodds AE, Hardy D, Brown K et al. Predictors of agr dysfunction in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates among patients with MRSA bloodstream infections in the "15-20 mg/L" target vancomycin trough era. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Sep 19.

Campbell KM, Vaughn AF, Russell KL, Smith B, Jimenez DL, Barrozo CP, et al. Risk factors for community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in an outbreak of disease among military trainees in San Diego, California, in 2002. J Clin Microbiol 2004;42:4050-3.

Carvalho KS, Mamizuka EM, Gontijo PF, Methicillin/Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a hospital and public health threat in Brazil. Braz J Infect Dis Jan./Feb.2010 14(1):71-6

Centers for Disease Control and Prevention. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*—Minnesota and North Dakota, 1997–1999. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1999; 48:707–10.

Centers for Disease Control and Prevention. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among competitive sports participants—Colorado, Indiana, Pennsylvania, and Los Angeles County, 2000–2003. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2003;52:793-5.

Centers for Disease Control and Prevention. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin or soft tissue infections in a state prison—Mississippi, 2000. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2001;50:919-22.

Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections—Los Angeles County, California, 2002–2003. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2003;52:88.

Cereda RF, Azevedo HD, Girardello R, Xavier DE, Gales AC; INVITA-A-CEFTO Brazilian Study Group. Antimicrobial activity of ceftobiprole against Gram-negative and Gram-positive pathogens: results from INVITA-A-CEFTO Brazilian study. Braz J Infect Dis. 2011 Aug;15(4):339-48.

Charitakis A, Dimoulas C, Archontakis Z. MRSA: different methods to predict healthcare or community genotype. Congress of the European society of clinical microbiology and infectious disease. 2011 May. Abstract P822.

Chen CJ, Hsueh PR, Su LH, Chiu CH, Lin TY, Huang YC. Change in the molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in Taiwan. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2009;65:199-201.

Chung HJ, Jeon HS, Sung H, Kim MN, Hong SJ. Epidemiological characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children with eczematous atopic dermatitis lesions. J Clin Microbiol. 2008 Mar;46(3):991-5.

Chung MA, Antignac B, Kim C, Tomasz A. Comparative study of the susceptibilities of major epidemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to oxacillin and to the new broad-spectrum cephalosporin ceftobiprole. Antimicrob. Agents Chemother. 2008;52:2709-2717.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Approved standard M100-S19. 2010;29(3) Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Coates T, Bax R, Coates A. Nasal decolonization of *Staphylococcus aureus* with mupirocin: strengths, weaknesses and future prospects. J Antimicrob Chemother. 2009 Jul;64(1):9-15.

Cook PP, Catrou P, Gooch M, Holbert D. Effect of reduction in ciprofloxacin use on prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rates within individual units of a tertiary care hospital. J Hosp Infect 2006;64:348-51.

Coombs GW, Nimmo GR, Pearson JC, Christiansen KJ, Bel JM, Collignon PJ et al. Prevalence of MRSA strains among *Staphylococcus aureus* isolated from outpatients, 2006. Commun. Dis. Intell. 2009;33:10-20.

Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of Mortality Associated with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-analysis Clin Infect Dis. 2003; 36(1): 53-59.

Crum NF, Lee RU, Thornton SA, Stine OC, Wallace MR, Barrozo C, et al. Fifteen-year study of the changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Med*. 2006 Nov;119(11):943-51.

David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Jul;23(3):616-87.

Davis SL, Perri MB, Donabedian SM, Manierski C, Singh A, Vager D et al. Epidemiology and outcomes of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *J Clin Microbiol*. 2007 Jun;45(6):1705-11.

Davis SL, Rybak MJ, Amjad M, Kaatz GW, McKinnon PS. Characteristics of patients with healthcare-associated infection due to SCCmec type IV methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27:1025-31.

De Angelis G, Cipriani M, Cauda R, Tacconelli E. Treatment of skin and soft tissue infections due to community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe: the role of trimethoprim-sulfamethoxazole *Clin Infect Dis*. 2011 Jun 15;52(12):1471-2;

De Haas CJ, Veldkamp KE, Peschel A, Weerkamp F, Van Wamel WJ, Heezius EC et al. Chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus*, a bacterial antiinflammatory agent. *J Exp Med*. 2004 Mar 1;199(5):687-95.

De Sousa MA, de Lencastre H. Evolution of sporadic isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals and their similarities to isolates of community-acquired MRSA. *J Clin Microbiol*. 2003;41:3806–15.

Deisenhofer J. Crystallographic refinement and atomic models of a human Fc fragment and its complex with fragment B of protein A from *Staphylococcus aureus* at 2.9- and 2.8-Å resolution. *Biochemistry*. 1981;20:2361–70.

Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution* 2008; 8(6):747-63.

Diep BA, Chambers HF, Graber CJ, Szumowski JD, Miller LG, Han LL, et al. Emergence of multidrug-resistant, community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone USA300 in men who have sex with men. *Ann. Intern. Med*. 2008;148:249

Ellington MJ, Ganner M, Warner M, Boakes E, Cookson BD, Hill RL, et al. First international spread and dissemination of the virulent Queensland community associated-MRSA strain. *Clin. Microbiol. Infect*. July 15, 2009;doi:10.1111/j.1469-0691.2009.02994.x

Enany S, Yaoita E, Yoshida Y, Enany M, Yamamoto T. Molecular characterization of Pantone-Valentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Egypt. *Microbiol. Res*. 2010; 165:152-62.

Engemann JJ, Carmeli Y, Cosgrove SE, Fowler VG, Bronstein MZ, Trivette SL, et al. Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Clin Infect Dis*. 2003 Mar 1;36(5):592-8.

Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 2002; 99:7687-92.

Enright MC. The evolution of a resistant pathogen - the case of MRSA. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3:474-9.

Eveillard M, de Lassence A, Lancien E, Barnaud G, Ricard JD, Joly-Guillou ML. Evaluation of a strategy of screening multiple anatomical sites for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to a teaching hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006;27:181-4.

Farrin A, Manian F, Griesnauer S. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Is Replacing Traditional Health Care-Associated MRSA Strains in Surgical-Site Infections among Inpatients *Clin Infect Dis*. 2008; 47 (3): 434-5.

Feil EJ, Cooper JE, Grundmann H, Robinson DA, Enright MC, Berendt T, et al. How clonal is *Staphylococcus aureus*? *J. Bacteriol*. 2003;185:3307-16.

Feinstein AR. *Clinical epidemiology*. 1985. Philadelphia WB Saunders

Fluit AC, Wielders CL, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study. *J Clin Microbiol* 2001;(39):3727-32

Forcade NA, Parchman ML, Jorgensen JH, Du LC, Nyren NR, Treviño LB, et al. Prevalence, Severity, and Treatment of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) Skin and Soft Tissue Infections in 10 Medical Clinics in Texas: A South Texas Ambulatory Research Network (STARNet) Study. *J Am Board Fam Med*. 2011 Sep-Oct;24(5):543-50.

Fortes CQ, Espanha CA, Bustorff FP, Zappa BC, Ferreira AL, Moreira RB, et al. First Reported Case of Infective Endocarditis Caused by Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Not Associated With Healthcare Contact in Brazil. *Braz J. Infect. Dis*. 2008;12(6):541-3.

Foster TJ. Immune evasion by *staphylococci*. *Nat Rev Microbiol*. 2005;3:948–58.

Fowler T, Wann ER, Joh D, Johansson S, Foster TJ, Höök M. Cellular invasion by *Staphylococcus aureus* involves a fibronectin bridge between the bacterial fibronectin-binding MSCRAMMs and host cell beta1 integrins. *Eur J Cell Biol*. 2000;79:672–679.

- Frazer BW, Salz TO, Lambert L, Perdreau-Remington F. Fatal community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia in an immunocompetent young adult. *Ann Emerg Med* 2005;46:401-4.
- Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *N Engl J Med* 2005;352:1436-44.
- Fridkin SK, Hill HA, Volkova NV, Edwards JR, Lawton RM, Gaynes RP, et al. Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology Project Hospitals. Temporal changes in prevalence of antimicrobial resistance in 23 US hospitals. *Emerg Infect Dis.* 2002; 8:697-701.
- Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al. Health care-associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med* 2002;137:791-7.
- Furuno JP, Perencevich EN, Johnson JA, Wright MO, McGregor JC, Morris JG Jr, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant Enterococci co-colonization. *Emerg Infect Dis.* 2005 Oct;11(10):1539-44.
- Gales AC, Sader HS, Ribeiro J, Zoccoli C, Barth A, Pignatari AC Antimicrobial Susceptibility of Gram-Positive Bacteria Isolated in Brazilian Hospitals Participating in the SENTRY Program (2005-2008). *Braz J Infect Dis.* 2009 Apr;13(2):90-8.
- Gardam MA, Lemieux C, Reason P, van Dijk M, Goel V. Healthcare-associated infections as patient safety indicators. *Healthc Pap.* 2009;9(3):8-24.
- Gauduchon V, Cozon G, Vandenesch F, Genestier AL, Eyssade N, Peyrol S, et al. Neutralization of *Staphylococcus aureus* Panton Valentine leukocidin by intravenous immunoglobulin *in vitro*. *J Infect Dis.* 2004 Jan 15;189(2):346-53.
- Georgopapadakou NH. Penicillin-binding proteins and bacterial resistance to beta-lactams. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37:2045-53.
- Gilbert RJ, Wieneke AA, Lanser J, Simkovicová M. Serological detection of enterotoxin in foods implicated in staphylococcal food poisoning. *J Hyg (Lond).* 1972 Dec;70(4):755-62.
- Gladstone GP, Van Heyningen WE. Staphylococcal leucocidins. *Br J Exp Pathol.* 1957;38:123-37.
- Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis.* 2008;46(Suppl 5):S350-S359.
- Gotuzzo E. Current status and recommendations on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Latin America. *Braz J Infect Dis.* 2010 Dec 14; Suppl 2:S77-8.

- Gould IM, Cauda R, Esposito S, Gudiol F, Mazzei T, Garau J. Management of serious methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: what are the limits? Int J Antimicrob Agents. 2011 Mar;37(3):202-9.
- Groom AV, Wolsey DH, Naimi TS, Smith K, Johnson S, Boxrud D, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a rural American Indian community. JAMA 2001; 286:1201–5
- Gubbay JB, Gosbell IB, Barbagiannakos T, Vickery AM, Mercer JL, Watson M. Clinical features, epidemiology, antimicrobial resistance, and exotoxin genes (including that of Panton-Valentine leukocidin) of gentamicin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (GS-MRSA) isolated at a paediatric teaching hospital in New South Wales, Australia. Pathology 2008;40:64-71.
- Halcomb EJ, Griffiths R, Fernandez R. Role of MRSA reservoirs in the acute care setting. Int J Evid Based Healthc. 2008 Mar;6(1):50-77. doi: 10.1111/j.1744-1609.2007.00096.x.
- Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG, Munn VP, et al. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals. Am J Epidemiol. 1985 Feb;121(2):182-205.
- Hardy KJ, Oppenheim BA, Gossain S, Gao F, Hawkey PM A study of the relationship between environmental contamination with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and patients' acquisition of MRSA. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006 Feb;27(2):127-32.
- Hartman B, Tomasz A. Altered penicillin-binding proteins in methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1981; 19:726-35.
- Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Gaskin RE, Boyle-Vavra S, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. JAMA 1998; 279:593–8.
- Holden MT, Feil EJ, Lindsay JA, Peacock SJ, Day NP, Enright MC, et al. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2004;101:9786-91.
- Hooton TM, Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Carroll RJ. The joint associations of multiple risk factors with the occurrence of nosocomial infection. Am J Med. 1981 Apr;70(4):960-70.
- Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. Am J Infect Cont 2008 jun; 36(5):309-332
- Huang SS, Hinrichsen VL, Datta R, Spurchise L, Miroshnik I, Nelson K, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection and Hospitalization in High-Risk Patients in the Year following Detection PLoS One. 2011; 6(9): e24340.

- Huang SS, Yokoe DS, Hinrichsen VL, Spurchise LS, Datta R, Miroshnik I, et al. Impact of routine intensive care unit surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2006;43:971-8.
- Ito T, Iijima M, Fukushima T, Nonoyama M, Ishii M, Baranovich T, et al. Pediatric pneumonia death caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 2008;14:1312-14.
- Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:2637-51.
- Ito T, Okuma K, Ma XX, Yuzawa H, Hiramatsu K. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Updat* 2003; 6:41-52.
- Jernigan JA, Pullen AL, Partin C, Jarvis WR. Prevalence of and risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an outpatient clinic population. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24:445–50.
- Kaase M, Baars B, Friedrich S, Szabados F, Gatermann SG. Performance of MicroScan WalkAway and Vitek 2 for Detection of Oxacillin Resistance in a Set of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates with Diverse Genetic Backgrounds *Journal of Clinical Microbiology.* 2009; 47(8):2623-25.
- Kallen AJ, Mu Y, Bulens S, Reingold A, Petit S, Gershman K, et al. Health care-associated invasive MRSA infections, 2005-2008. *JAMA.* 2010;304:641–8.
- Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:1549–55.
- Kazakova SV, Hageman JC, Matava M, Srinivasan A, Phelan L, Garfinkel B, et al. A clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among professional football players. *N Engl J Med* 2005;352:468–75.
- Keene A, Vavagiakis P, Lee MH, Finnerty K, Nicolls D, Cespedes C, et al. *Staphylococcus aureus* colonization and the risk of infection in critically ill patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005 Jul;26(7):622-8.
- Kelesidis T, Humphries R, Ward K, Lewinski MA, Yang OO. Combination therapy with daptomycin, linezolid, and rifampin as treatment option for MRSA meningitis and bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011 Aug 18.
- Kilic A, Mert G, Senses Z, Bedir O, Aydogan H, Basustaoglu AC, et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal isolates from Turkey. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2008;94:615-19.

King MD, Humphrey BJ, Wang YF, Kourbatova EV, Ray SM, Blumberg HM. Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA 300 clone as the predominant cause of skin and soft-tissue infections. *Ann Intern Med* 2006;144:309-17.

Klein E, Smith DL, Laxminarayan R. Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999-2005. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:1840-6.

Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R; National Nosocomial Infections Surveillance System. Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992-2003. *Clin Infect Dis*. 2006;42:389-91.

Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. 2007;298:1763-71.

Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, et al, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 1995:282-98.

Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*. 1997 Jul;10(3):505-20.

Kluytmans-Vandenbergh MF, Kluytmans JA. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: current perspectives. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Mar;12 Suppl 1:9-15.

Kourbatova EV, Halvosa JS, King MD, Ray SM, White N, Blumberg HM. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA 300 clone as a cause of health care-associated infections among patients with prosthetic joint infections. *Am J Infect Control* 2005;33:385-91.

Kreiswirth B, Komblum J, Arbeit RD, Eisner W, Maslow JN, cGeer A, et al. Evidence for a clonal origin of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Science*. 1993;259:227-30.

Labandeira-Rey M, Couzon F, Boisset S, Brown EL, Bes M, Benito Y. et al. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. *Science*. 2007; 315:1130-3

Lamaro-Cardoso J, Lencastre H, Kipnis A, Pimenta FC, Oliveira LS, Oliveira RM et al. Molecular Epidemiology and Risk Factors for Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Infants Attending Day Care Centers in Brazil. *J. Clin. Microbiol*. 2009 Dec;47 (12):3991-7

Landau R, *Pharmaceutical innovation: revolutionizing human health*. Philadelphia: Chemical Heritage Press; 1999.

Levine DP, Lanfranco OA. MRSA guidelines: a matter of time. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011 May;9(5):495-6.

Lina G, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*. 1999 Nov;29(5):1128-32.

Loureiro MM, Moraes BA, Quadra MR, Pinheiro GS, Suffys PN, Asensi MD. Molecular Epidemiology of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Newborns in a Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2000 Nov./Dec;95(6): 777-82.

Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*. 1998;339:520–32.

Ma XX, Galiana A, Pedreira W, Mowszowicz M, Christophersen I, Machiavello S, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Uruguay. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:973–6.

Maree CL, Daum RS, Boyle-Vavra S, Matayoshi K, Miller LG. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing healthcare-associated infections. *Emerg Infect Dis* 2007;13:236-42.

Matsui H, Hanaki H, Inoue M, Akama H, Nakae T, Sunakawa K, et al. Development of an Immunochromatographic Strip for Simple Detection of Penicillin-Binding Protein 2' Development of an Immunochromatographic Strip for Simple Detection of Penicillin-Binding Protein 2' *Clin Vaccine Immunol*. 2011 February; 18(2): 248–253.

McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. *J Clin Microbiol* 2003; 41:5113–20.

Memmi G, Filipe SR, Pinho MG, Fu Z, Cheung A. *Staphylococcus aureus* PBP4 is essential for beta-lactam resistance in community-acquired methicillin-resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Nov;52(11):3955-66.

Mikla E, Hæggman ES, Balode A, Sanchez B, Martinsons A, Olsson-Liljequist O, et al. Report on the first PVL-positive community-acquired MRSA strain in Latvia. *Euro Surveill*. 2004;9(11):483-5.

Millar BC, Loughrey A, Elborn JS, Moore JE. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *J Hosp Infect* 2007; 67: 109–13.

Miller LG, Perdreau-Remington F, Bayer AS, Diep B, Tan N, Bharada K, et al. Clinical and epidemiologic characteristics cannot distinguish community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection from methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infection: a prospective investigation. *Clin Infect Dis* 2007;44:471-82.

Miller LG, Perdreau-Remington F, Rieg G, Mehdi S, Perloth J, Bayer AS, et al. Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Los Angeles. *N Engl J Med* 2005;352:1445-53.

Miranda OP, Silva-Carvalho MC, Ribeiro A, Portela F, Cordeiro RP, Caetano N, et al. Emergence in Brazil of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying SCC*mec* IV that are related genetically to the USA800 clone. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13:1165-72.

Moore CL, Lu M, Cheema F, Osaki-Kiyan P, Perri MB, Donabedian S, et al. Prediction of Failure in Vancomycin-Treated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infection: a Clinically Useful Risk Stratification Tool. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Oct;55(10):4581-8.

Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med* 2006;355:666-74.

Moreillon P, Que Y, Glauser M. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Sixth Edition, Mandell, Bennett, Dolin, eds, Elsevier Churchill Livingstone Inc., 2005 1(251):2909-2916,

Moreira MR, Cardoso RL, Almeida AB, Gontijo Filho PP. Risk factors and evolution of Ventilator-associated pneumonia by *Staphylococcus aureus* sensitive or resistant to Oxacillin in patients at Intensive Care Unit of a Brazilian University Hospital. *Braz J Infect Dis* 2008; 12(6):499-503.

Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and Enterococcus. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:362-86.

Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, et al. Comparison of community-and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA* 2003; 290:2976–84.

Nakasone I, Kinjo T, Yamane N, Kisanuki K, Shiohira CM. Laboratory-based evaluation of the colorimetric VITEK-2 Compact system for species identification and of the Advanced Expert System for detection of antimicrobial resistances: VITEK-2 Compact system identification and antimicrobial susceptibility testing. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 2007;58:191-8.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, 6th ed. Approved standard M7-A6. 2003. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.

- Nejma B, Mastouri M, Jrad BB, Nour M. Characterization of ST80 Panton-Valentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in Tunisia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; doi:10.1016/j.diagmicrobio.2008.02.010.
- Newsom SW. Ogston's Coccus. *J Hosp Infect* 2008;(70):369-72
- Nimmo GR, Schooneveldt JM, Sutherland JL, Power S, Olesen D, Selvey C, et al. Epidemiology of non-multiresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Queensland, Australia: associations with indigenous populations and Panton-Valentine leukocidin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010 Oct;29(10):1253-9.
- Nonhoff, C., S. Rottiers, and M. J. Struelens. 2005. Evaluation of the Vitek 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Staphylococcus* spp. *Clin. Microbiol. Infect.* 11:150-3.
- Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated mec elements. *Microb Drug Resist* 2001; 7:349-61.
- Oliveira GA, Faria JB, Levy CE. Characterization of the Brazilian Endemic Clone of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Hospitals Throughout Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 2001;5(4):163-70.
- Orendi JM, Coetzee N, Ellington MJ, Boakes E, Cookson BD, Hardy KJ, Hawkey PM, Kearns AM. Community and nosocomial transmission of Panton-Valentine leukocidin-positive community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: implications for healthcare. *J Hosp Infect.* 2010 Aug;75(4):258-64.
- Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Höök M. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol.* 1994;48:585–617.
- Perez LR, D'Azevedo PA. Clonal types and antimicrobial resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitals in south Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 2008;50(3): 135-7.
- Perkins D, Hogue JS, Fairchok M, Braun L, Viscount HB. Mupirocin resistance screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at the Madigan Army Medical Center. *Mil. Med.* 2008;173:604-8.
- Pignatari A, Pfaller M, Hollis R, Sesso R, Leme I, Herwaldt L. *Staphylococcus aureus* colonization and infection in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Microbiol.* 1990 Sep;28(9):1898-902.
- Pittet D, Dharan S., Touveneau S, Sauvan V, Perneger TV. Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. *Arch Intern Med* 1999;(159): 821-6

Popovich KJ, Hota B, Rice T, Aroutcheva A, Weinstein RA. A phenotypic prediction rule for community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2007;45:2293-5.

Popovich KJ, Weinstein RA, Hota B. Are Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strains Replacing Traditional Nosocomial MRSA Strains Clin Infect Dis. 2008; 46:787–94.

Razera F, De Stefani S, Bonamigo RR, Olm GS, Dias CA, Narvaez GA .CA-MRSA em furunculose: relato de caso do sul do Brasil. An Bras Dermatol. 2009;84(5):515-8.

Reed SD, Friedman JY, Engemann JJ, Griffiths RI, Anstrom KJ, Kaye KS, et al. Costs and outcomes among hemodialysis-dependent patients with methicillin-resistant or methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. Infect Control Hosp Epidemiol. 2005 Feb;26(2):175-83.

Reinert C, McCulloch JA, Watanabe S, Ito T, Hiramatsu K, Mamizuka EM. Type IV SCCmec found in decade old Brazilian MRSA isolates. Braz J Infect Dis 2008; 12(3):213-6.

Reiter KC, Machado AB, de Freitas AL, Barth AL. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type III in cystic fibrosis patients in southern, Brazil. Rev. Socied. Bras. Med. Trop. Jul-ago 2010;43(4):377-81.

Reyes J, Rincón S, Díaz L, Panesso D, Contreras GA, Zurita J, et al. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 sequence type 8 lineage in Latin America. Clin Infect Dis. 2009 Dec 15;49(12):1861-7.

Ribeiro A, Coronado AZ, Silva-Carvalho MC, Ferreira-Carvalho BT, Dias C, Rozenbaum R, et al. Detection and characterization of international community-acquired infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Rio de Janeiro and Porto Alegre cities causing both community- and hospital-associated diseases. Diagn Microbiol Infect Dis 2007; 59:339-45.

Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, Berquo L, Ferreira FA, Soares RN et al. First Report of Infection with Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in South America. J. Clin. Microbiol. Apr. 2005; 43(4):1985–8.

Richet HM, Benbachir M, Brown DE, Giamarellou H, Gould I, Gubina M, et al. Are there regional variations in the diagnosis, surveillance, and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? Infect Control Hosp Epidemiol. 2003 May;24(5):334-41.

Roberts MC, Soge OO, No D, Beck NK, Meschke JS. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from fire stations in two northwest fire districts. Am J Infect Control. 2011 Jun;39(5):382-9.

Robinson DA, Enright MC. Evolutionary models of the emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3926-34.

Robinson DA, Kearns AM, Holmes A, Morrison D, Grundmann H, Edwards G, et al. Re-emergence of early pandemic *Staphylococcus aureus* as a community-acquired methicillin-resistant clone. *Lancet* 2005;365:1256-8.

Rodríguez-Noriega E, Seas C; Grupo Latinoamericano de Trabajo sobre Resistência en Gram-Positivos. The changing pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America: implications for clinical practice in the region. *Rev Chilena Infectol.* 2010 Aug;27 Suppl 2:S59-69.

Roisin S, Nonhoff C, Denis O, Struelens MJ. Evaluation of new Vitek 2 card and disk diffusion method for determining susceptibility of *Staphylococcus aureus* to oxacillin. *J. Clin. Microbiol.* 2008;46:2525-28.

Rozenbaum R, Sampaio MG, Batista GS, Garibaldi AM, Terra GM, Souza MJ, et al. The first report in Brazil of severe infection caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) *Braz J Med Biol Res.* August 2009;42(8) 756-60

Rozenbaum R, Silva-Carvalho MC, Souza RR, Melo MC, Gobbi CN, Coelho LR et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disseminated in a home care system. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006 Oct;27(10):1041-50.

Safdar N, Bradley SF. *Staphylococcus aureus* pneumonia: emergence of MRSA in the community. *Semin Respir Crit Care Med* 2005;26:643-9.

Santos KR, Teixeira LM, Leal GS, Fonseca LS, Gontijo PP. DNA typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: isolates and factors associated with nosocomial acquisition in two Brazilian university hospitals. *J. Med. Microbiol.* 1999;48:17-23.

Sauvage E, Kerff F, Terrak M, Ayala JA, Charlier P. The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev.* 2008 Mar;32(2):234-58.

Sax H, Hugonnet S, Harbarth S, Herrault P, Pittet D. Variation in nosocomial infection prevalence according to patient care setting: a hospital-wide survey. *J Hosp Infect.* 2001 May;48(1):27-32.

Schuenck RP, Nouér SA, Winter Cde O, Cavalcante FS, Scotti TD, Ferreira AL, et al. Polyclonal presence of non-multiresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying SCCmec IV in health care-associated infections in a hospital in Rio de Janeiro, Brazil *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* Volume 64, Issue 4, August 2009, Pages 434-41

Schwarz-Linek U, Höök M, Potts JR. The molecular basis of fibronectin-mediated bacterial adherence to host cells. *Mol Microbiol.* 2004;52:631–41.

Sehulster L, Chinn RY. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm Rep* 2003;52:1-42.

Selwyn S. Hospital Infection: the first 2500 years. *J Hosp Infect* 1991;(18 suppl A): 5-64

Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG, Halvosa SJ, Wang YF, King MD, et al. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. *Clin Infect Dis* 2006;42:647-56.

Shamsudin MN, Sekawi Z, van Belkum A, Neela V. 2008. First community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Malaysia. *J. Med. Microbiol.* 57:1180-1

Sheretz RJ, Reagan DR, Hampton KD, Robertson KL, Streed SA, Hoen HM, et al. A cloud adult: the *Staphylococcus aureus*-virus interaction revisited. *Ann Intern Med.* 1996;124:539-47.

Shet A, Mathema B, Mediavilla JR, Kishii K, Mehandru S, Jeane-Pierre P, et al. Colonization and subsequent skin and soft tissue infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a cohort of otherwise healthy adults infected with HIV type 1. *J. Infect. Dis.* 2009;200:88-93.

Shinefield HR, Ruff NL. Staphylococcal infections: a historical perspective. *Infect Dis Clin North Am.* 2009 Mar;23(1):1-15.

Shore AC, Deasy EC, Slickers P, Brennan G, O'Connell B, Monecke S, 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*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Aug;55(8):3765-73.

Silva LV, Araújo MT, Santos KR, Nunes AP. Evaluation of the synergistic potential of vancomycin combined with other antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp strains. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011 Feb;106(1):44-50.

Smith DL, Dushoff J, Perencevich EN, Harris AD, Levin SA. Persistent colonization and the spread of antibiotic resistance in nosocomial pathogens: resistance is a regional problem. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Mar 9;101(10):3709-14.

Smith DL, Levin SA, Laxminarayan R Strategic interactions in multi-institutional epidemics of antibiotic resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Feb 22;102(8):3153-8.

Sousa-Junior FC, Silva-Carvalho MC, Fernandes MJ, Vieira MF, Pellegrino FL, Figueiredo AM, et al. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates obtained in the Northeast region of Brazil. *Braz J Med Biol Res,* October 2009;42(10) 877-81

Sritharan M, Sritharan V. Emerging problems in the management of infectious diseases: the biofilms. *Indian J Med Microbiol.* 2004;22:140-2.

Steward CD, Raney PM, Morrell AK, Williams PP, McDougal LK, Jevitt L, McGowan JE Jr, Tenover FC. Testing for induction of clindamycin resistance in erythromycin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2005 Apr;43(4):1716-21.

Tacconelli E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: source control and surveillance organization. Clin Microbiol Infect. 2009;15(Suppl 7):31–8.

Takano T, Higuchi W, Otsuka T, Baranovich T, Enany S, Saito K, et al. Novel characteristics of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* belonging to multilocus sequence type 59 in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52:837-45.

Tang YW, Stratton CW. *Staphylococcus aureus*: An old pathogen with new weapons. Clin Lab Med. 2010;30:179–208.

Tenover FC, Lancaster MV, Hill BC, Steward CD, Stocker SA, Hancock GA, et al. Characterization of *staphylococci* with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. J Clin Microbiol. 1998 Apr;36(4):1020-7. Erratum in: J Clin Microbiol 1998 Jul;36(7):2167.

Tenover FC. The quest to identify heterogeneously resistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* strains. Int J Antimicrob Agents. 2010 Oct;36(4):303-6.

Todd J, Fishaut M, Kapral F, Welch T. Toxic-shock syndrome associated with phage-group-I *Staphylococci*. Lancet. 1978;2:1116–8.

Tong SY, McDonald MI, Holt DC, Currie BJ. Global implications of the emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in indigenous populations. Clin. Infect. Dis. 2008;46:1871-78.

Trindade PA, Pacheco RL, Costa SF, Rossi F, Barone AA, Mamizuka EM, Levin AS. Prevalence of SCCmec Type IV in Nosocomial Bloodstream Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* J clin. Microbiol. July 2005; 43(7):3435–37

Tristan A, Bes M, Meugnier H, Lina G, Bozdogan B, Courvalin P, et al. Global distribution of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. Emerg Infect Dis 2007; 13:594-600.

Udo EE, O'Brien FG, Al-Sweih N, Noronha B, Matthew B, Grubb WB. Genetic lineages of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Kuwait hospitals. J. Clin. Microbiol. 2008;46:3514-6.

Udo EE, Pearman JW, Grubb WB. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. J Hosp Infect 1993;25:97-108.

Valsesia G, Rossi M, Bertschy S, Pfyffer GE. Emergence of SCCmec type IV and SCCmec type V methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the Panton-Valentine leukocidin genes in a large academic teaching hospital in central

Switzerland: external invaders or persisting circulators? *J Clin Microbiol.* 2010 Mar;48(3):720-7.

van Hal SJ, Paterson DL. Systematic review and meta-analysis of the significance of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Jan;55(1):405-10.

van Rijen M, Bonten M, Wenzel R, Kluytmans J. Mupirocin ointment for preventing *Staphylococcus aureus* infections in nasal carriers. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008 Oct 8;(4):CD006216.

Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:978-84.

Vidal PM, Trindade PA, Garcia TO, Pacheco RL, Costa SF, Reinert C, et al. Differences Between "Classical" Risk Factors for Infections Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Risk Factors for Nosocomial Bloodstream Infections Caused by Multiple Clones of the Staphylococcal Cassette Chromosome mec Type IV MRSA Strain. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2009; 30:139-14

Vivoni AM, Diep BA, Magalhaes AC, Santos KR, Riley LW, Sensabaugh GF, et al. Clonal Composition of *Staphylococcus aureus* Isolates at a Brazilian University Hospital: Identification of International Circulating Lineages. *J. Clin. Microbiol.* May 2006;44(5):1686–91

von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J Med.* 2001 Jan 4;344(1):11-6.

Vriens MR, Blok HE, Gigengack-Baars AC, Mascini EM, van der Werken C, Verhoef J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage among patients after hospital discharge. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005 Jul;26(7):629-33.

Wannet WJ, Spalburg E, Heck ME, Pluister GN, Tiemersma E, Willems RJ, et al. Emergence of virulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton-Valentine leukocidin genes in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 2005; 43:3341-5.

Weber J. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2005;41 (Suppl 4):269-72

Welte T, Pletz MW. Antimicrobial treatment of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pneumonia: current and future options. *Int J Antimicrob Agents.* 2010 Nov;36(5):391-400

Wertheim HF, van Leeuwen WB, Snijders S, Vos MC, Voss A, Vandenbroucke-Grauls CM, et al. Associations between *Staphylococcus aureus* Genotype, Infection, and In-Hospital Mortality: A Nested Case-Control Study. *J Infect Dis.* 2005 Oct 1;192(7):1196-200.

Whitby M, McLaws ML, Berry G. Risk of death from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a meta-analysis. *Med J Aust.* 2001 Sep 3;175(5):264-7.

Wielders CL, Vriens MR, Brisse S, de Graaf-Miltenburg LA, Troelstra A, Fleer A, et al. Evidence for in-vivo transfer of *mecA* DNA between strains of *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2001;357:1674–5.

Wirtz C, Witte W, Wolz C, Goerke C. Transcription of the phage-encoded Panton-Valentine leukocidin of *Staphylococcus aureus* is dependent on the phage life-cycle and on the host background. *Microbiology.* 2009;155:3491–9.

Wiskirchen DE, Crandon JL, Furtado GH, Williams G, Nicolau DP. *In vivo* efficacy of a human-simulated regimen of ceftaroline combined with NXL104 against extended-spectrum-beta-lactamase (ESBL)-producing and non-ESBL-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Jul;55(7):3220-5.

World Health Organization, Liam Donaldson, Press communicate available. [acesso em 01 nov 2011]. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2011/patient_safety_20110721/en/. 2011

Yalcin A. Socioeconomic burden of nosocomial infections. *Indian J Med Sci* 2003;(57):450-6

Yanagisawa C, Hanaki H, Natae T, Sunakawa K. Neutralization of staphylococcal exotoxins *in vitro* by human-origin intravenous immunoglobulin. *J Infect Chemother.* 2007;13:368–372..

APÊNDICE - Ficha desenhada para coleta de dados epidemiológicos usados no estudo caso e controle de desfechos em infecções por *S. aureus*

<p>FICHA DE NOTIFICAÇÃO</p> <p>Hospital:</p> <p>Nº Paciente: Nº Notificação:</p> <p>Sexo: (0) Masculino (1) Feminino</p> <p>Data nascimento: _ _ _ _</p> <p>Unidade Internação: (0)UTI adultos (1)UTI pediatria (2) Emergência adultos (3) Emergência pediátrica (4) Internação clínica adultos (5) Internação clínica pediatria (6) Internação cirúrgica adultos (7) Internação cirúrgica pediatria (9) UTI Neonatal (10) Outro Qual?</p> <p>Tipo Internação: (0) SUS (1) Privado ou Convênio</p> <p>Data Diagnóstico: __ / __ / __</p> <p>Data Notificação __ / __ / __</p>	<p>CA –MRSA</p> <p>NHOSP</p> <p>NPAC /</p> <p>SEXO</p> <p>IDADE</p> <p>INTERNA</p> <p>TIPOINTERNA</p> <p>DATADIAG //</p> <p>DATANOT //</p>
<p>Tipo Amostra: (0)Sangue (1)Líquor (2)Lavado Bronco Alveolar (3)Biopsia pele (4) Biopsia Osso (5) outro Qual?</p>	<p>TIPOAMOSTRA</p>
<p>Procedência do paciente: (0) comunidade (1) hospital</p>	<p>PROCED</p>
<p>Internação últimos 90 dias (mais de 48 hs)? (0) Não (1) Sim</p> <p>No mesmo hospital? (0) Não (1) Sim (8) Não se aplica</p> <p>Tempo de internação até o diagnóstico ___ dias</p>	<p>INTERNA90</p> <p>MESMOHOSP</p> <p>TEMPOINT D</p>
<p>Realizou procedimento cirúrgico na internação atual? (0) Não (1) Sim Qual?</p>	<p>CIRURG</p>
<p>Tipo Notificação: (0) Infecção hospitalar relacionada à internação atual (1) Infecção não associada a internação atual (2) Colonização na internação atual (3) Colonização em outra internação (4) Colonização não especificada</p>	<p>TIPONOTIFICA</p>

<p>Co-morbidades:</p> <p>Doença Pulmonar Crônica (0) Não (1) Sim</p> <p>Insuficiência Cardíaca Congestiva (0) Não (1) Sim</p> <p>Trauma (0) Não (1) Sim</p> <p>Diabetes (0) Não (1) Sim</p> <p>Infarto Agudo do Miocárdio (0) Não (1) Sim</p> <p>Leucemia (0) Não (1) Sim</p> <p>Linfoma (0) Não (1) Sim</p> <p>SIDA (0) Não (1) Sim</p> <p>Insuficiência renal (0) Não (1) Sim</p> <p>Doença neurológica (0) Não (1) Sim</p> <p>Outro (0) Não (1) Sim Qual?</p>	<p>DRESP</p> <p>DCARD</p> <p>TRAUMA</p> <p>DIAB</p> <p>LEUCE</p> <p>LINFO</p> <p>SIDA</p> <p>INSRENAL</p> <p>DNEURO</p> <p>OUTRO</p>
<p>Realizada tipagem molecular? (0) Não (1) Sim</p>	<p>TIPAGEM</p>
<p>Tratamento prévio com antimicrobianos na internação atual (nos últimos 90 dias?) (0) Não (1) Sim</p> <p>Se sim Qual ?(0)Não (1)Sim) Aminoglicosídeo</p> <p>Penicilinas</p> <p>Cefalosporinas</p> <p>Quinolonas</p> <p>Tigeciclina/tetraciclina</p> <p>Polimixinas</p> <p>Carbapenêmico</p> <p>Outros</p> <p>não se aplica</p>	<p>PANTIMICRO</p> <p>AMINO</p> <p>PENIC</p> <p>CEFAL</p> <p>QUINO</p> <p>TETRA</p> <p>POLIM</p> <p>CARBA</p> <p>OUTRO</p> <p>NA</p>
<p>Tratamento farmacológico: (0) oxacilina (1) clindamicina (2) doxicilina</p> <p>(3) Vancomicina (4) Rifampicina (5) Aminoglicosídeo (6) Cciprofloxacina (7) outro</p> <p>(8) associação Qual? (8) não se aplica</p>	<p>FARMACO</p>
<p>Desfecho: (0) melhora clínica (1) cura microbiológica</p> <p>(2) óbito relacionado à infecção (3) óbito não relacionado à infecção 4) não definido (5) outro Qual?</p>	<p>DESFECHO</p>