

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

GUSTAVO AUGUSTO SANTOS

***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA
(MRSA): CONTEXTO BRASILEIRO, DIAGNÓSTICO
LABORATORIAL E MEDIDAS DE CONTROLE DA
DISSEMINAÇÃO**

GUSTAVO AUGUSTO SANTOS

***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA
(MRSA): CONTEXTO BRASILEIRO, DIAGNÓSTICO
LABORATORIAL E MEDIDAS DE CONTROLE DA
DISSEMINAÇÃO**

Monografia apresentada ao III Curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do certificado de Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientadora: Prof^a. Magna Cristina Paiva

Belo Horizonte

2012

Santos, Gustavo Augusto.
S237s *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA): contexto brasileiro, diagnóstico laboratorial e medidas de controle da disseminação / Gustavo Augusto Santos. – 2012.
30 f.

Orientadora: Prof^a. Magna Cristina Paiva.
Monografia apresentada ao III Curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do certificado de Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas.

1. Estafilococos aureos. 2. Resistência a metilina. 3. Microbiologia médica. I. Paiva, Magna Cristina. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD 616.01

Aos meus pais, com carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, professora Magna Cristina Paiva pelos ensinamentos, paciência e pela orientação deste trabalho;

Aos meus pais e ao meu irmão pelo incentivo de sempre;

Aos amigos Paulo e Walter pelo apoio durante esse período do curso;

A todos os colegas do III Curso de Especialização em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

E a todos que contribuíram de alguma forma para a conclusão deste trabalho.

Cada sonho que você deixa pra trás, é um pedaço do seu futuro que deixa de existir.
Steve Jobs

RESUMO

Foi realizada revisão bibliográfica em artigos científicos e manuais técnicos da área médico laboratorial a respeito do tema *Staphylococcus aureus resistente à meticilina*, uma bactéria Gram-positiva, potencialmente patogênica, tanto no ambiente hospitalar quanto na comunidade, causadora de infecções na pele, feridas operatórias, septicemia, conjuntivites, dentre outros. É um patógeno onipresente e uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, sendo sua epidemiologia fortemente influenciada pela grande variedade de fatores de virulência produzidos e pelo rápido desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos, já existindo linhagens resistentes a praticamente todos os antimicrobianos usados na prática clínica. A meticilina, um antimicrobiano betalactâmico, é considerado de primeira escolha para o tratamento de infecções causadas por *S. aureus*, porém apenas um ano após a sua introdução na prática clínica, no início de 1960, já foi relatado o surgimento de linhagens resistentes a este agente, sendo estas linhagens então denominadas *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA). O sucesso do tratamento das infecções causadas por MRSA depende do diagnóstico precoce e preciso; e deve ser baseado na combinação das informações epidemiológicas, sintomas clínicos e caracterização das linhagens resistentes à meticilina. O controle eficaz de MRSA baseia-se em um grupo de medidas que vão desde a firme adesão aos princípios básicos de controle de infecção, tais como a higienização das mãos, a identificação precoce e o isolamento de pacientes colonizados ou infectados por MRSA, bem como a descolonização em situações específicas.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, oxacilina, MRSA.

ABSTRACT

Literature review was performed in scientific articles and technical manuals of the medical laboratory on the theme methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. The Gram-positive bacteria, potentially pathogenic, both in hospital and in the community, causes skin infections, wounds, septicemia, conjunctivitis, among others. It is a ubiquitous pathogen and a major cause of morbidity and mortality worldwide, and its epidemiology strongly influenced by the wide variety of virulence factors produced and by the rapid development of antimicrobial resistance, already existing strains resistant to virtually all antimicrobials used in clinical practice. Methicillin, a beta-lactam antibiotic, is considered the first choice for the treatment of infections caused by *S. aureus*, but only one year after its introduction into clinical practice in early 1960, has been reported the emergence of strains resistant to this agent, and these strains were then called *S. aureus* resistant to methicillin (MRSA). Successful treatment of MRSA infections depends on early diagnosis and accurate, and should be based on a combination of epidemiological, clinical symptoms and characterization of strains resistant to methicillin. The effective control of MRSA is based on a group of measures ranging from a firm adherence to basic principles of infection control, such as hand hygiene, early identification and isolation of patients colonized or infected with MRSA, as well as decolonization in specific situations.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, oxacillin, MRSA.

LISTA DE ABREVIATURAS

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a metilina

CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*

CA-MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à metilina adquiridos na comunidade

HA-MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente à metilina adquiridos nos serviços de saúde.

PVL: *Panton-Valentine Leucocidina*

PSMA: modulina solúvel em fenol do tipo alfa

PSM- α : *α -type phenol-soluble modulin*

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

CIM: Concentração Inibitória Mínima

VISA: *vancomycin-intermediate S. aureus*

EUA: Estados Unidos da América

OPAS: Organização Pan-Americana da Saúde

PBP: *penicillin-binding protein*

SCCmec: *Staphylococcal cassette chromosome MEC*

CLSI: *Clinical Laboratory Standart Institute*

UFC: unidades formadoras de colônia

mL: mililitros

EPIs: Equipamentos de proteção individual

NHANES: *National Health and Nutrition Examination Survey*

SHEA: *Society for Healthcare Epidemiology of America*

IDSA: *Infectious Diseases Society of America*

°C: graus Celsius

mm: milímetros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Características gerais de <i>S. aureus</i>	11
1.2 Habitat e patogenicidade	12
1.3 Fatores de virulência	12
1.4 Tratamento	14
1.5 Características epidemiológicas do MRSA	16
1.6 Mecanismo de ação da Oxacilina em <i>S. aureus</i>	18
1.7 Mecanismo de resistência à Oxacilina em <i>S. aureus</i>	19
2 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE MRSA	20
2.1 Método de ágar diluição:	23
2.2 Disco difusão com Cefoxitina 30µg/mL:	23
2.3 Diluição em caldo com Cefoxitina 30µg/mL:	24
3 MEDIDAS DE CONTROLE DA DISSEMINAÇÃO	24
4 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus, uma bactéria Gram-positiva, foi descoberta em 1880 e desde então tem se revelado um micro-organismo potencialmente patogênico tanto no ambiente hospitalar quanto na comunidade, causando infecções na pele, feridas operatórias, septicemia, conjuntivites, dentre outros (DEURENBERG e STOBBERINGH, 2008). É considerado um patógeno onipresente e uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, sendo sua epidemiologia fortemente influenciada pela grande variedade de fatores de virulência produzidos e pelo rápido desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos, já existindo linhagens resistentes a praticamente todos os antimicrobianos usados na prática clínica (KOBAYASHI e DELEO, 2009; OLIVEIRA et al., 2001).

Vários antimicrobianos são utilizados para o tratamento de infecções causadas por este micro-organismo, destacando-se a classe dos betalactâmicos, aminoglicosídeos e glicopeptídeos (MALTEZOU e GIAMARELLOU, 2005). A meticilina, um antimicrobiano betalactâmico, é considerado de primeira escolha para o tratamento de infecções causadas por *S. aureus*, porém apenas um ano após a sua introdução na prática clínica, no início de 1960, já foi relatado o surgimento de linhagens resistentes a este agente, sendo estas linhagens então denominadas *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) (MALTEZOU e GIAMARELLOU, 2005). Nas duas décadas seguintes, MRSA se tornou um importante patógeno nosocomial mundial com impacto econômico significativo sobre os sistemas de saúde (MALTEZOU e GIAMARELLOU, 2005). No Brasil, este micro-organismo tem sido o mais frequentemente isolado em infecções nosocomiais, com a prevalência de 40 a 80% na maioria dos hospitais brasileiros. Estes isolados são geralmente resistentes aos aminoglicosídeos, clorafenicol, lincosamidas, macrolídeos, quinolonas, sulfametoxazol-trimetoprima e tetraciclina, com maior susceptibilidade à rifampicina (OLIVEIRA et al., 2001). Infecções por *S. aureus* resistente à meticilina em pacientes da comunidade tem sido agora frequentemente descritas na literatura em todo o mundo. O Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos da América (*Centers for Disease Control and Prevention* - CDC) publicou critérios para distinguir os *S. aureus* resistente à meticilina adquiridos na comunidade (CA-MRSA) do *S. aureus* resistente à meticilina associados aos serviços de atenção à saúde, então denominados de HA-MRSA (*Healthcare-*

Associated). O termo CA-MRSA foi originalmente definido epidemiologicamente como linhagens de MRSA recuperados de pacientes com infecções na comunidade ou atendidos no hospital pela primeira vez (COOKE e BROWN, 2010). É possível que parte das publicações referentes às infecções causadas por CA-MRSA tenham sido realmente causadas por cepas de HA-MRSA que já foram exportadas do sistema de saúde e circularam na comunidade (MALTEZOU e GIAMARELLOU, 2006).

A alta prevalência de MRSA em todo mundo tem sido amplamente discutida e medidas de controle da infecção por MRSA dentro de hospitais e em populações específicas da comunidade são essenciais para conter a disseminação deste agente. Gotuzzo (2010) enfatiza que compreensão, coordenação e planos de ação são necessários para minimizar a prevalência aumentada destas infecções, destacando a importância da educação dos profissionais de saúde na determinação, prevenção e tratamento de MRSA.

1.1 Características gerais do *S. aureus*

S. aureus são cocos Gram positivos que pertencem à família Micrococcaceae, imóveis, não formam esporos, podem ser visualizados à microscopia isolados, aos pares, em curtas cadeias ou ainda agrupados formando cachos (*staphyle* em grego significa cacho de uva). São anaeróbios facultativos, mas crescem melhor em aerobiose do que em anaerobiose. São produtores das enzimas catalase e coagulase e crescem facilmente em ágar-sangue e em ágar-chocolate. As colônias formadas medem entre um e três milímetros e tipicamente produzem um pigmento amarelo ouro devido a presença de carotenóides. A maioria das linhagens produz hemólise dentro de 24 a 36 horas em placas contendo ágar sangue de cavalo, carneiro ou humano (KANAFANI e FOWLER JR, 2006).

Dentro do gênero *Staphylococcus* existem 47 espécies, 24 sub-espécies (LPSN, 2012), sendo que destes, somente 15 espécies são encontradas em amostras humanas. De uma maneira prática, os estafilococos são divididos em duas categorias: coagulase positivos e coagulase negativos de acordo com a resposta ao teste da plasmó coagulase (ANVISA, 2004).

1.2 Habitat e patogenicidade

S. aureus faz parte da microbiota indígena do ser humano e desde a amamentação, indivíduos saudáveis podem albergar o micro-organismo na nasofaringe, ocasionalmente na pele e mais raramente na vagina. A partir destas localizações, *S. aureus* pode contaminar a pele e mucosas dos pacientes, objetos ou outras pessoas por contato direto ou por aerossol, podendo ocasionar infecções letais devido aos fatores de virulência produzidos ou à resistência aos antimicrobianos atualmente utilizados (ANVISA, 2005).

S. aureus têm sido associado com uma variedade de manifestações clínicas que vão desde infecções cutâneas leves a pneumonia letal e sepse (MALTEZOU e GIAMARELLOU, 2006). Pneumonia, osteomielites, artrites, abscessos teciduais, embolia pulmonar, trombose venosa e bacteremias relacionadas à cateter venoso também têm sido descritas associados ao *S. aureus* (RUBINSTEIN, 2008).

1.3 Fatores de virulência

A grande variedade de fatores de virulência produzidos pelos estafilococos associada à capacidade de adquirir resistência aos antimicrobianos tem feito este patógeno o responsável por altas taxas de morbimortalidade nos hospitais (OLIVEIRA et al., 2001).

S. aureus produzem uma infinidade de fatores que promovem a sobrevivência no hospedeiro e contribuem para a sua patogênese. Especificamente, vários destes fatores estão envolvidos na inibição de fatores-chave da função fagocitária que, em última análise permite que o mesmo resista aos mecanismos da imunidade inata do hospedeiro. Por serem capazes de produzirem moléculas que podem inibir o recrutamento de neutrófilos, *S. aureus* impedem que as células de defesa os reconheçam e conseqüentemente impedem que ocorra a fagocitose (KOBAYASHI e DELEO, 2009).

Dentre os principais fatores de virulência estão cápsula, peptidoglicano, ácidos teicóicos, proteína A, adesinas, hemolisinas, enzimas, toxinas extracelulares e

leucocidinas. As toxinas estafilocócicas também são responsáveis pela necrose epidérmica tóxica (síndrome estafilocócica da pele escaldada), síndrome do choque tóxico e intoxicação de origem alimentar (KOBAYASHI e DELEO, 2009).

S. aureus produz várias moléculas capazes de proteger contra os efeitos letais dos neutrófilos e degradar os derivados reativos de oxigênio e os compostos antimicrobianos, o que facilita sua sobrevivência intracelular. Uma das características mais marcantes dos *S. aureus* é a capacidade de produzir uma diversidade de toxinas que atingem as células sanguíneas humanas. Entre estas toxinas incluem-se a alfa-hemolisina, delta-hemolisina, gama-hemolisina, Panton-Valentine Leucocidina (PVL) e a recentemente descoberta modulina solúvel em fenol do tipo alfa (PSMA) (KOBAYASHI e DELEO, 2009).

Descoberta em 1932, por Panton e Valentine, conforme citado por Kobayashi e DeLeo (2009), a Panton-Valentine Leucocidina era claramente distinta de uma toxina hemolítica e, em experimentos, foi letal para coelhos. Esta toxina citolítica é composta por duas subunidades que se ligam formando um octâmero, o qual formará um poro na membrana das células mielóides e é associada a graves infecções de pele, algumas vezes fatais, na ausência de antimicrobianos (KOBAYASHI e DELEO, 2009). Atualmente tem sido relatada a presença da PVL com alguns tipos específicos de *S. aureus* e desde os anos de 1990, clones virulentos de MRSA associados à comunidade (CA-MRSA), têm sido caracterizados pela presença da toxina PLV (DEURENBERG e STOBBERINGH, 2008).

A alfa hemolisina é uma toxina hemolítica bem caracterizada, altamente conservada entre as linhagens de *S. aureus*, constituindo um fator de virulência importante na pneumonia por *S. aureus*. Embora declaradamente não citolítica para granulócitos, a alfa hemolisina demonstrou ser capaz de formar poros em uma variedade de células do hospedeiro, incluindo linfócitos, monócitos e eritrócitos e é letal em modelos animais de bacteriemias por *S. aureus* (KOBAYASHI e DELEO, 2009).

Os peptídeos PSM- α (do inglês, *α -type phenol-soluble modulin*) têm um acentuado efeito citolítico em neutrófilos humanos *in vitro* e *in vivo*, e linhagens de CA-MRSA produzem níveis muito elevados de PSM- α quando comparados com HA-MRSA fornecendo assim uma explicação, em parte, para a virulência aumentada de CA-MRSA (KOBAYASHI e DELEO, 2009).

1.4 Tratamento

Historicamente, o sucesso do *S. aureus* como um patógeno humano tem sido facilitado por sua forte propensão para desenvolver resistência aos antimicrobianos (KOBAYASHI e DELEO, 2009).

O antibiótico foi usado clinicamente, pela primeira vez, contra infecções causadas por *Staphylococcus aureus*. A penicilina, derivada de um fungo, era um antimicrobiano que funcionava bem contra infecções estafilocócicas até os anos 60, mas começou a perder a eficácia com o surgimento de cepas que produziam uma enzima beta-lactamase, chamada penicilinase, que as tornavam resistentes a este antimicrobiano.

A partir de então, aproximadamente 80% de todas as linhagens de *S. aureus* têm sido resistentes à penicilina.

Penicilinas sintéticas, como a meticilina e as cefalosporinas, foram desenvolvidas, então, para serem resistentes às enzimas beta-lactamases. No Brasil o fármaco equivalente a meticilina é a oxacilina sódica, utilizada nos casos de infecções por micro-organismos resistentes à penicilina.

O uso indiscriminado de cefalosporinas permitiu a seleção de clones de estafilococos resistentes à meticilina e por consequência, também desenvolveram resistência a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos incluindo outras gerações de cefalosporinas e os carbapenêmicos (JELJASZEWICZ, MLYNARCZYK e MLYNARCZYK, 2000). Em 1961, dois anos após a introdução da meticilina, uma penicilina que não era inativada pela enzima penicilinase produzida pelos *S. aureus*, foram descritas linhagens resistentes a esta nova droga devido a outro mecanismo de resistência: aquisição do gene *mecA* (DEURENBERG & STOBBERINGH, 2008). Os isolados de *S. aureus* resistentes à meticilina são denominados MRSA (do inglês, *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) e também são resistentes a todos os antibióticos betalactâmicos (SOUZA, REIS e PIMENTA, 2005).

A vancomicina é utilizada atualmente como tratamento de escolha para MRSA (MOISE et al. 2002). É um antimicrobiano da classe dos glicopeptídeos que interrompe a biossíntese de peptidoglicano da parede celular das bactérias Gram-positivas. É considerada um agente bactericida lento, e há limitações de seu uso em infecções graves causadas por MRSA e no tratamento da pneumonia por penetrar mal nos pulmões nas

doses terapêuticas. A vancomicina apresenta a desvantagem de estar associada à nefrotoxicidade e ototoxicidade, sendo a nefrotoxicidade de grande preocupação em pacientes críticos da Unidade de Terapia Intensiva (UTI), uma população particularmente vulnerável à infecção por MRSA, sendo recomendado o monitoramento da concentração da vancomicina sérica em pacientes com função renal instável ou naqueles recebendo terapia agressiva, prolongada ou concomitante a outros agentes nefrotóxicos (WELTE e PLETZ, 2010). Até 1997, *S. aureus* era uniformemente reconhecido como susceptível à vancomicina, a partir de então vários relatos de falha terapêutica com esta droga têm sido descritos na literatura. As amostras com um elevado nível de resistência à vancomicina (Concentração Inibitória Mínima – CIM de 4 a 8µg/mL) são denominadas de VISA (do inglês, *vancomycin-intermediate S. aureus*) (JELJASZEWICZ, MLYNARCZYK e MLYNARCZYK, 2000). As linhagens de *S. aureus* com CIM maior ou igual a 16µg/mL são denominadas pelo CLSI de VRSA (do inglês *vancomycin-resistant S. aureus*), até o momento foram relatados 12 casos de VRSA nos Estados Unidos (KOBAYASHI, MUSSER, DELEO, 2012). No Brasil, Oliveira e colaboradores (2001) encontraram 5 linhagens de VRSA em um estudo realizado em um hospital na cidade de São Paulo.

Em 1997, a linezolida foi introduzida na prática clínica para tratamento de infecções causadas por VISA (SWANEY et al., 1998). Esta droga é um antimicrobiano sintético da classe das oxazolidinonas que age impedindo a ligação das subunidades ribossomais 30S e 50S, inibindo a síntese de proteínas. Tem atividade contra patógenos Gram-positivos, com ação bacteriostática *in vitro* para estafilococos, mas limitada atividade contra bactérias Gram-negativas. Um efeito adverso comumente observado na terapia com este fármaco é a trombocitopenia, mais comum em tratamentos prolongados e em pacientes com insuficiência renal. A inibição da síntese de proteína mitocondrial pela linezolida pode resultar em efeitos clínicos potencialmente graves, incluindo neuropatia óptica e periférica, além de acidose láctica (WELTE e PLETZ, 2010).

Apenas a vancomicina e a linezolida são aprovados atualmente para o tratamento de pneumonia causada por MRSA nos Estados Unidos, já em alguns países europeus, além destes agentes, a teicoplanina e a Quinupristina/Dalfopristina também são aprovadas para esta finalidade (WELTE e PLETZ, 2010). A teicoplanina é um glicopeptídeo com atividade bactericida contra muitos patógenos Gram-positivos, incluindo MRSA. Possui melhor penetração tissular do que a vancomicina, mas a penetração pulmonar é pouco eficaz.

Apesar da linezolida ser considerada superior à teicoplanina para o tratamento de infecções por Gram-positivos (de pele, pneumonia e bacteremia), a teicoplanina é considerada uma droga mais segura, com menor risco de nefrotoxicidade e choques anafiláticos. A trombocitopenia também é observada durante a terapia com a teicoplanina, especialmente quando administrada em doses superiores ao recomendado (WELTE e PLETZ, 2010).

Quinupristina/Dalfopristina consiste na associação de duas estreptograminas, a quinupristina inibe a fase final da síntese protéica e a dalfopristina inibe o estágio inicial da síntese. Essa droga mostrou boa atividade *in vitro* contra muitas bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, incluindo o *S. aureus* resistente a meticilina e a vancomicina, essa droga não foi aprovada para o tratamento de MRSA nos EUA (Estados Unidos da América) devido às taxas de cura clínica ter sido inferiores em ensaios clínicos quando comparado à vancomicina (WELTE e PLETZ, 2010).

Novas drogas foram desenvolvidas recentemente para o tratamento de infecções causadas por MRSA, a ceftaroline e a ceftobiprole, ambas da classe das cefalosporinas. A ceftaroline é uma cefalosporina de quinta geração que exibe um amplo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas, incluindo MRSA e linhagens resistentes de *S. aureus* à vancomicina. Utilizado na concentração de 600mg por via intravenosa, a cada 12 horas, este antimicrobiano se mostrou eficaz em estudos de fase três, no tratamento de infecções complicadas da pele, tecidos moles e pneumonia adquirida na comunidade. Apesar de ter apresentado um bom perfil farmacológico de segurança e baixa propensão para indução de resistência, a ceftaroline necessita ainda de mais estudos de pós-comercialização e experiência clínica (DUPLESSIS e CRUM-CIANFLONE, 2011). Ceftobiprole também é uma cefalosporina de amplo espectro com atividade anti-MRSA, constituindo mais uma opção de tratamento das infecções causadas por estes patógenos. É utilizado na terapia de infecções graves, incluindo infecções de pele e tecidos moles (Cereda et al., 2011).

1.5 Características epidemiológicas do MRSA

A epidemiologia do MRSA está em constante modificação, e os clones circulantes e seus perfis de resistência variam consideravelmente em todas as regiões e países. O

tratamento empírico das infecções com base no conhecimento local dos patógenos é reconhecido por levar a melhores resultados para o paciente, portanto informações epidemiológicas obtidas através de vigilância contínua são essenciais para apoiar as comissões clínicas de controle de infecção nos seus esforços para prevenir e tratar a infecção (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

A vigilância regular do MRSA em ambientes hospitalares nos EUA e na Europa foi estruturada desde o final da década de 1980 e início de 1990. Através destas medidas de vigilância foi possível documentar uma crescente proporção de infecções por MRSA com relatos de mais de 50% dos isolados de *S. aureus* resistentes à meticilina em algumas regiões. Em países com práticas de controle de infecção mais rigorosas, como a Holanda e os países escandinavos têm sido encontradas baixas taxas de infecção por MRSA, mesmo em hospitais (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

Na América Latina, a conscientização dos perigos relacionados com a crescente resistência antimicrobiana motivou a reunião da primeira Conferência Pan-Americana sobre resistência antimicrobiana em 1998, em Caraballeda, Venezuela. Após essa reunião, uma rede de vigilância foi organizada para monitorar a resistência bacteriana em toda a região, sob liderança da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), com especial preocupação com a qualidade dos dados obtidos, padronização e divulgação regular das informações obtidas (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010). Essa rede de monitoramento de resistência aos antimicrobianos mantida pela OPAS fornece informações epidemiológicas sobre a resistência bacteriana em países da América Latina, sendo que alguns países como Argentina, Chile, Equador, Uruguai e Venezuela possuem um organizado sistema de controle de qualidade implantado para apoiar a vigilância local, enquanto em outros países da região, a capacidade de diagnóstico microbiológico, presente apenas em alguns hospitais das maiores cidades, e os dados a respeito de CA-MRSA são limitados (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010). Apesar dos esforços, os recursos para o monitoramento da epidemiologia do MRSA continuam limitados e a verdadeira extensão dessas infecções na região latina ainda não é bem conhecida. Tipicamente, apenas alguns hospitais de grande porte com instalações disponíveis para realizar vigilância microbiológica são capazes de contribuir com o envio de dados. A grande maioria da população da América Latina é servida por pequenos centros comunitários de saúde sem recursos para coletar informações de qualidade que possam contribuir para uma melhor conduta clínica do paciente (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

MRSA tornou-se um patógeno hospitalar endêmico em muitos países, sendo primeiro reportado em hospitais com altas taxas de uso de oxacilina ou meticilina, sendo atualmente tendente a ser resistente a múltiplas drogas. MRSA adquirido em serviços de saúde é tipicamente definido quando adquirido 48 horas ou mais após exposição ao serviço de saúde (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

O MRSA sempre foi reconhecido como um patógeno associado às infecções hospitalares, mas várias publicações têm confirmado que infecções por linhagens de MRSA adquiridas na comunidade (CA-MRSA) estão aumentando, tanto nas áreas urbanas quanto rurais (COLLI, PIZZOLITTO e RADDI, 2009).

No Brasil, o *S. aureus* é um dos micro-organismos Gram-positivos mais frequentemente isolado de infecções hospitalares, e a prevalência dos isolados de MRSA varia de 30 a 60% na maioria dos hospitais brasileiros (ROSSI, 2011). Esses isolados são geralmente resistentes aos aminoglicosídeos, cloranfenicol, lincosamidas, macrolídeos, quinolonas, sulfametoxazol-trimetropim e à tetraciclina, apresentando maior susceptibilidade apenas à rifampicina (OLIVEIRA et al., 2001). O estudo de Cavalcanti e colaboradores (2006), realizado com pacientes em um hospital universitário no estado de Pernambuco, Brasil, demonstrou que a prevalência do *S. aureus* em pacientes internados na UTI daquele hospital foi de 37,7%, sendo que destes isolados 13% se mostraram resistentes à oxacilina, e as narinas foram o local de colonização mais significativa de MRSA. Em outro estudo realizado por Menegotto e Picoli (2007), também em um hospital universitário brasileiro, no estado do Rio Grande do Sul, demonstrou que em uma população sem qualquer relato de infecção ou colonização, nem de admissão em hospitais, cirurgias, diálise ou cateteres, a ocorrência de colonização por *S. aureus* foi de 40%. Destes, 7,5% mostraram-se resistentes à oxacilina, representando isolados de CA-MRSA. Tendo em vista a escassez de novas publicações indicando os índices de colonização por CA-MRSA no Brasil, a significância da frequência de colonização por esta cepa neste estudo alerta para a recente emergência destas cepas na comunidade, até então, estritamente nosocomiais (Menegotto e Picoli, 2007).

1.6 Mecanismo de ação da Oxacilina em *S. aureus*

O desenvolvimento dos antibióticos ainda é um dos mais importantes avanços da medicina moderna e através deles tem sido possível salvar inúmeras vidas e controlar as infecções causadas por bactérias patogênicas. A oxacilina é um antimicrobiano pertencente ao grupo das penicilinas resistentes à penicilinase estafilocócica e sua principal indicação é para o tratamento de infecções causadas por estafilococos como septicemias, abscessos e pneumonias. É também utilizada para detectar a resistência, *in vitro*, por ser mais resistente à degradação e mais sensível para a detecção de vários tipos de resistência do *S. aureus* a antimicrobianos (SOUZA, 2011)

Embora os detalhes específicos do mecanismo responsável pelo efeito bactericida das penicilinas ainda não foram completamente desvendados, sabe-se que os antibióticos betalactâmicos exibem seu efeito bactericida através da inibição de enzimas envolvidas na síntese protéica da célula. O anel betalactâmico é espacialmente semelhante a um aminoácido presente na parede celular da bactéria, na presença do qual, durante a síntese da parede, a bactéria utiliza “por engano” o betalactâmico, fato que resulta no comprometimento da integridade celular, aumentando a permeabilidade e assim provocando a lise da célula (DRAWS e BONOMO, 2010). A penicilina acopla num receptor da parede e interfere na transpeptidação que ancora o peptídeoglicano estrutural de forma rígida em volta da célula. Como o interior desta é hiperosmótico, sem uma parede rígida, há entrada de água para dentro da bactéria e a célula se rompe (DAUM, 2007).

1.7 Mecanismo de resistência à Oxacilina em *S. aureus*

Após descobrir a penicilina, Fleming observou a resistência natural de micro-organismos aos antibióticos, descrevendo que bactérias do grupo coli-tifoide não eram inibidas pela penicilina. A causa dessa resistência eram culturas de *Escherichia coli* portadoras de uma enzima capaz de bloquear a ação da penicilina, denominada penicilinase (SOUZA, REIS e PIMENTA, 2005).

Até a década de 1940, a maioria dos *S. aureus* era sensível à penicilina. No fim dos anos 50, porém, o *S. aureus* já tinha adquirido resistência a praticamente todos os antibióticos de uso parenteral, incluindo a eritromicina e a tetraciclina (SOUZA, REIS e PIMENTA, 2005). A utilização das penicilinas resistentes a penicilinas, na década de

1960, possibilitou um avanço na terapêutica antiestafilocócica. Com o uso das penicilinas semi-sintéticas, como a meticilina empregada no tratamento de infecções estafilocócicas, surgiram linhagens resistentes à meticilina (MRSA), cujo padrão de resistência se estende a outros antimicrobianos betalactâmicos (SOUZA, REIS e PIMENTA, 2005).

A produção da enzima betalactamase é o mais comum e importante mecanismo de resistência do *S.aureus*, pois esta é capaz de inativar os antibióticos portadores do anel betalactâmico (DRAWS e BONOMO, 2010).

Atualmente, o mecanismo de resistência à oxacilina em *S. aureus* de maior preocupação é aquele resultante da alteração do receptor deste antimicrobiano codificado pelo gene *mecA*, uma vez que este reside em elementos genéticos móveis e pode ser transferido horizontalmente entre as espécies de *Staphylococcus* (KATAYAMA et al., 2005). O gene *mecA* codifica a síntese da proteína PBP2a (do inglês, *penicillin-binding protein*), a qual substitui outras proteínas ligadoras de penicilina na membrana celular e possui baixa afinidade para antibióticos betalactâmicos (de SOUZA, 2011; SOUZA, REIS e PIMENTA, 2005). As PBPs são enzimas que catalizam a etapa final da síntese da parede celular bacteriana, estão localizadas na membrana celular da bactéria e se ligam aos antibióticos betalactâmicos por ligações covalentes. A resistência ocorre devido à produção de uma PBP adicional, irregular, denominada PBP2a, que possui baixa afinidade com os antibióticos betalactâmicos (de SOUZA, 2011, SOUZA, REIS e PIMENTA, 2005). Esta proteína alterada, codificada pelo gene *mecA*, faz parte de uma ilha genômica de resistência chamada *staphylococcal cassette chromosome MEC* (SCCmec), e é responsável pela resistência intrínseca dos estafilococos à oxacilina e a todos os betalactâmicos, podendo também apresentar resistência à outros antimicrobianos (de SOUZA, 2011). Foram descritos até o momento cinco tipos de elementos SCCmec (tipos I a V). Os tipos I, II, e III estão relacionados ao HA-MRSA, enquanto os tipos IV e V foram identificados pela primeira vez em linhagens de CA-MRSA, tendo se tornado frequente nesses isolados. (KATAYAMA et al., 2005; VALSESIA, 2010).

2 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE MRSA

O sucesso do tratamento das infecções causadas por MRSA depende do diagnóstico precoce e preciso; e deve ser baseado na combinação das informações epidemiológicas, sintomas clínicos e caracterização das linhagens resistentes à oxacilina (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010). Estão disponíveis atualmente vários manuais técnicos com recomendações para as melhores práticas no diagnóstico e tratamento do MRSA. Entretanto, a adoção desses manuais pode ser esporádica, especialmente a nível regional, onde os recursos podem ser fatores limitantes. A maioria desses manuais possui uma ampla gama de opções para o diagnóstico do MRSA, que poderia ser adaptado às diferentes condições regionais e econômicas, entretanto atualmente ainda não está claro qual seria o teste mais eficiente e apropriado de acordo com as circunstâncias específicas (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

A identificação preliminar dos estafilococos de um modo geral é baseada na morfologia que estes apresentam em meio líquido visualizado à microscopia, mostrando-se em forma de cocos aos pares, em cachos ou agrupados. Para o cultivo é realizada a inoculação primária em placa de ágar sangue de carneiro que deve ser incubada em atmosfera contendo 5% de CO₂. As colônias de estafilococos são geralmente grandes, convexas, de coloração variando de branco-porcelana a amarelo, a coloração amarelada ocorre somente após incubação prolongada (72 horas) e à temperatura ambiente e pode apresentar halos de hemólise ou não (ANVISA, 2004).

Para diferenciar seguramente os estafilococos dos estreptococos, é realizada a prova da catalase, que consiste em colocar sobre uma lâmina de vidro a colônia suspeita em uma gota de água oxigenada a 3%, observando a formação de bolhas (liberação de oxigênio pela quebra do peróxido de hidrogênio pela enzima catalase). Para a família Micrococcaceae (estafilococos) a prova é geralmente positiva, sendo negativa para a família Streptococcaceae (estreptococos) (ANVISA, 2004). O Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde da ANVISA (2004) recomenda não carregar o meio de cultura ágar sangue ao coletar a colônia o que poderia acarretar resultados falso-positivos, uma vez que o sangue do meio de cultura contém catalase.

Vários testes bioquímico-fisiológicos são utilizados na identificação das espécies de *Staphylococcus* envolvidas nas infecções humanas (ANVISA, 2004). A prova da coagulase é uma forma importante e simples de identificar o *S. aureus* e pode ser realizada em tubo ou em lâmina. O teste da coagulase em lâmina se baseia no fato da

maioria das linhagens de *S. aureus* possuem a coagulase ligada (ou fator aglutinante “clumping factor”) na superfície da parede celular, que reage com o fibrinogênio do plasma causando a coagulação do mesmo. Já a prova quando realizada em tubo baseia-se na presença da coagulase livre, que reage com um fator plasmático formando um complexo que atua sobre o fibrinogênio formando a fibrina (ANVISA, 2004).

O teste de susceptibilidade aos antimicrobianos polimixina B e novobiocina são relativamente baratos e fáceis de serem utilizados e também podem fazer parte da série de identificação dos *S. aureus*. São adicionados discos contendo estes antimicrobianos em concentrações conhecidas à placa de ágar na qual foi inoculada a linhagem de *Staphylococcus* em teste. Os *S. aureus* são resistentes à polimixina B, e são sensíveis assim como outros estafilococos coagulase negativos à novobiocina, sendo que o *S. saprophyticus* se mostra resistente a este antimicrobiano (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

Para detecção da resistência a oxacilina dos *S. aureus*, várias opções de testes de susceptibilidade estão disponibilizados atualmente, incluindo a difusão de disco em ágar, medidas de concentração inibitória mínima (CIM), ágar cromogênico, aglutinação em látex, métodos automatizados, métodos rápidos de detecção e métodos moleculares (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

O crescimento em diferentes diluições do agente antimicrobiano em caldo ou ágar revela a CIM, possui a vantagem de ser quantitativa, porém é relativamente mais cara e mais trabalhosa do que o método de difusão de disco em ágar (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010). O *Etest*[®] (BioMerieux) consiste em um sistema que tem como base tiras de plástico contendo um gradiente pré-definido de 15 concentrações de antimicrobiano. É um sistema fácil de ser utilizado, porém pouco difundido na América Latina devido ao custo (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

Ágares cromogênicos específicos para MRSA também foram desenvolvidos e permitem a detecção rápida de colônias através de reações coloridas, possui alta sensibilidade e é apropriado para triagem rápida de MRSA (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010). Os sistemas automatizados empregam uma bateria de testes para proporcionar uma abordagem rápida da identificação do *S aureus* e MRSA. São convenientes e confiáveis, embora alguns falsos positivos possam ocorrer (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

Os métodos moleculares permitem identificar linhagens de MRSA que possuem o gene *mecA* que codifica a proteína de ligação da penicilina 2a (PBP2a), é um método simples e específico que permite a caracterização rápida e inequívoca de MRSA, mas as questões relativas ao custo ainda reduzem seu uso generalizado (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

O *Clinical Laboratory Standart Institute* (CLSI, 2011), um documento de referência internacional e amplamente adotado como critério no Brasil estabelece protocolos para a detecção de MRSA utilizando as seguintes metodologias:

2.1 Método de ágar diluição:

Neste teste é realizada a incorporação do antimicrobiano oxacilina na concentração de 6 µg/mL ao meio de cultura na forma de ágar e distribuído em placas de Petri individuais. As amostras bacterianas são inoculadas sobre a superfície do ágar utilizando um inoculador, que dispensa de 1 µL de solução contendo aproximadamente o inóculo final de $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia (UFC)/mL. As placas inoculadas são incubadas por 24 horas, numa temperatura que pode variar de 33 a 35 °C, sendo que temperaturas acima de 35 °C podem não detectar MRSA. Após este período, o resultado é determinado através da leitura cuidadosa da placa examinada contra a luz, e o aparecimento de pelo menos uma colônia na placa é indicativa de resistência à oxacilina (CLSI, 2011).

2.2 Disco difusão com Cefoxitina 30µg/mL:

O teste de disco-difusão consiste em colocar discos contendo o agente antimicrobiano na superfície da placa de ágar contendo a suspensão bacteriana e determinação da zona de inibição formada ao redor das colônias após um período de 24 horas e a leitura é feita segurando a placa contra uma fonte de luz (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010).

O CLSI (2011) recomenda pesquisar resistência à oxacilina mediada pelo gene *mecA*. Para isso discos de cefoxitina na concentração de 30 microgramas são inseridos em placas contendo a suspensão bacteriana em ágar Mueller-Hinton que são incubadas na temperatura de 33 a 35 °C por 16 a 18 horas. O resultado de halo inferior

ou igual à 21 mm indica isolados *mecA* positivos, esses isolados devem ser relatados como resistentes à oxacilina assim como a outros agentes betalactâmicos

2.3 Diluição em caldo com Cefoxitina 30µg/mL:

Utilizando o caldo de Müller-Hinton cátion-ajustado contendo quatro microgramas de cefoxitina por mL, é realizada a incubação da microdiluição em uma temperatura que varia de 33 a 35 °C por 16 a 20 horas. Crescimentos em concentrações acima de 4 microgramas por mL indicam isolados *mecA* positivos, e os que crescem abaixo desta concentração são considerados *mecA* negativos. Os isolados *mecA* positivos devem ser reportados como resistentes à oxacilina ou outros agentes betalactâmicos.

3 MEDIDAS DE CONTROLE DA DISSEMINAÇÃO

O controle eficaz de MRSA baseia-se em um grupo de medidas que vão desde a firme adesão aos princípios básicos de controle de infecção, tais como a higiene das mãos, a identificação precoce e o isolamento de pacientes colonizados ou infectados por MRSA, bem como a descolonização em situações específicas. A higiene das mãos é uma das medidas mais básicas e fundamentais no controle das infecções, e deve ser realizada antes e após o contato com o paciente, antes de entrar no quarto do paciente, antes e após utilizar luvas, lembrando que o a utilização de luvas não substitui a lavagem das mãos (ALVAREZ, LABARCA e SALLES, 2010). Para ajudar no melhor cumprimento das recomendações que evitam a propagação deste micro-organismo, é importante conhecer os fatores de risco, os mecanismos de transmissão e a epidemiologia local do MRSA. (ALVAREZ, LABARCA e SALLES, 2010).

Hospitalização, residência em instituições de longa permanência, cirurgia, hemodiálise e contato com pessoas portadoras de MRSA são fatores de risco para exposição ao MRSA (MEJÍA, ZURITA e GUZMÁN-BLANCO, 2010). Já o CA-MRSA pode ser transmitido por contato direto entre pessoas que compartilham intimamente o

mesmo espaço, como acampamentos, creches, hotéis, internatos, creches e outros (COLLI, PIZZOLITTO e RADDI, 2009).

Várias organizações profissionais, de saúde pública e governamentais publicam periodicamente diretrizes baseadas em evidências e políticas de prevenção e controle da transmissão do MRSA. As recomendações são na maioria das vezes semelhantes, diferindo apenas no que diz respeito à utilização dos testes de vigilância ativa para identificar pacientes colonizados com a forma assintomática de MRSA (CALFE et al., 2008).

O CDC em suas diretrizes para prevenção do MRSA recomenda que os hospitais devem dispor de procedimentos adequados para atendimento de rotina, limpeza e desinfecção de superfícies frequentemente tocadas (CARVALHO, MAMIZUKA E GONTIJO-FILHO, 2010). Esta instituição recomenda ainda a implementação de precauções de contato com os pacientes colonizados ou infectados, tais precauções incluem o uso de quartos particulares, de equipamentos de proteção individual (EPIs) para os profissionais de saúde e de adesão rigorosa aos princípios de higiene. Há evidências importantes que demonstram que adoção dessas práticas reduz de forma substancial a transmissão de patógenos resistentes dentro do hospital, entretanto adesão à estas diretrizes muitas vezes tem sido abaixo do esperado (KANAFANI e FOWLER JR., 2006).

Sabe-se que para cada pessoa infectada com o MRSA, muitos outros estão colonizados por este microorganismo, o *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) estima que 1,5% dos residentes dos EUA, ou mais de quatro milhões de pessoas, são colonizadas em suas narinas anteriores, o local mais comum de transporte do MRSA (Diekema e Climo, 2008).

Embora os resultados das terapias de descolonização nasal de pacientes ainda seja controverso (CDC, 2006; DUAM, 2007), os portadores de MRSA estão em maior risco de infecção do que os não portadores, e 25% dos indivíduos que adquirem colonização pelo MRSA no hospital posteriormente irão desenvolver infecção, estes pacientes servirão ainda como reservatórios para transmissão na comunidade, o que demonstra que o MRSA não é um problema apenas hospitalar (Diekema e Climo, 2008).

O SHEA (*Society for Healthcare Epidemiology of America*) em parceria com o IDSA (*Infectious Diseases Society of America*) destaca a importância da infra-estrutura hospitalar necessária para prevenir a transmissão do MRSA. O hospital deve contar

com um programa de controle composto por um número suficiente de pessoal treinado para permitir a realização contínua de vigilância, de forma a prevenir a infecção, sem comprometer o controle de outras infecções e atividades. Deve contar ainda com sistemas de tecnologia da informação capaz de permitir a rápida notificação do pessoal clínico, o controle de novos isolados de MRSA e a coleta dos dados necessários para a vigilância e identificação dos pacientes colonizados com o MRSA. Além disso, deve haver suprimentos suficientes para higienização das mãos, EPIs adequados, recursos para fornecer treinamento e capacitação contínua dos profissionais de saúde, pacientes e visitantes, além de contar com o suporte laboratorial adequado (CALFEE et al., 2008).

O Manual de Investigação e Controle de Bactérias Multirresistentes da ANVISA (2007) recomenda identificar precocemente o paciente colonizado ou com infecção, identificar o isolamento por meio de placa ilustrativa e respeitar as medidas de isolamento de contato preconizadas pelo Serviço de Controle de Infecção Hospitalar. As medidas recomendadas para o controle das infecções podem ser simplificadas como sendo aquelas destinadas à vigilância epidemiológica das infecções. Estas devem ser devidamente registradas e constantemente monitoradas (ANVISA, 2007). O Manual enfatiza ainda a higienização das mãos como uma medida de precaução fundamental, devendo ser realizada após cada troca de luvas utilizando sempre álcool-gel ou solução degermante (clorexidina a 2% ou PVPI- Polivinil Pirrolidona Iodo a 10%). Luvas limpas devem ser utilizadas a cada contato com o paciente, e devem ser trocadas após contato com material biológico e retiradas antes de deixar o quarto do paciente. Superfícies ambientais devem ser limpas e desinfetadas com álcool 70%, ou produto compatível com a natureza da superfície. Equipamentos de uso médico também devem ser desinfetados com álcool 70% antes e após o uso (ANVISA, 2007).

Uma medida de impacto e atualmente pesquisada é a vacina, a qual poderia prevenir as infecções causadas por *S. aureus*, entretanto alguns fatores inviabilizam sua produção. A cápsula do *S. aureus* não é diretamente ligada à sua virulência como ocorre com outras bactérias capsuladas. E ainda, não está claro se a infecção natural causada por *S. aureus* induz a uma resposta imune humoral protetora. Finalmente, a deficiência de anticorpos e de células B em animais e pacientes não predisuseram a infecções mais frequentes e severas por *S. aureus*. (SPELLBERG e DAUM, 2011).

4 CONCLUSÃO

O *S. aureus* é um dos principais patógenos relacionados com infecções em todo o mundo, causando morbidades tanto no ambiente hospitalar quanto na comunidade. Atualmente tem sido cada vez mais frequente o relato de resistência deste patógeno a vários antimicrobianos, dentre eles a resistência a oxacilina, a qual caracteriza o MRSA, o que tem preocupado a comunidade médica do Brasil e do mundo. Uma medida que visa diminuir o impacto da resistência do *S. aureus* é o uso consciente e correto dos antimicrobianos, buscando uma rápida e eficaz resposta terapêutica. É importante ressaltar que a orientação da terapêutica deve ser pautada em testes de susceptibilidade aos antimicrobianos, os quais devem ser criteriosamente realizados seguindo protocolos padronizados e atualizados. Para evitar a disseminação de MRSA é imprescindível manter o controle e a vigilância epidemiológica dos casos de resistência bacteriana, adotando medidas de biossegurança, como a lavagem frequente e correta das mãos, uma medida simples e extremamente eficaz. Adicionalmente, é necessário que esteja disponível uma estrutura laboratorial adequada nos hospitais, com capacitação contínua dos profissionais da área da saúde e uma rede de informação para o controle das infecções hospitalares, buscando uma resposta adequada para cada caso encontrado de resistência às drogas usuais. Como perspectivas no controle da disseminação do MRSA, a utilização de ferramentas da biologia molecular poderá no futuro permitir um diagnóstico preciso e específico de MRSA, contribuindo para um melhor entendimento dos mecanismos de resistência e o desenvolvimento de uma vacina contra o *S. aureus* seria algo extremamente benéfico e de grande impacto para a saúde pública.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, Carlos, LABARCA, Jaime, SALLES, Mauro. Prevention strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. **Braz. J. Infect. Dis.**, v.14, Supl.2, p.107-118, 2010.
- CALFEE, David P. et al. Strategies to Prevent Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Acute Care Hospitals. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v.29, s.1, p.62–80, 2008.
- CARVALHO, Karinne Spirandelli, MAMIZUKA, Elsa Masae, GONTIJO, Filho Paulo P. Methicillin/Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a hospital and public health threat in Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v.14, n.1, p.71-76, 2010.
- CEREDA, Rosângela Ferraz et al. Antimicrobial activity of ceftobiprole against Gram-negative and Gram-positive pathogens: results from INVITA-A-CEFTO Brazilian study. **Braz. J. Infect. Dis.**, v.15, n.4, p.339-348, 2011.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, v.31, n.1, 172p., 2011.
- COLLI, V.C., PIZZOLITTO, A.C., RADDI, M.S.G. Determinação da resistência de *Staphylococcus aureus*: um desafio? **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.30, n.1, p.115-118, 2009.
- COOKE, Fiona J., BROWN Nicholas M. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **British Medical Bulletin**, v.94, p.215–227, 2010.
- DAUM, Robert S. Skin and Soft-Tissue Infections Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **N. Engl. J. Med.**, v.357, p.380-90, 2007.
- de SOUZA, Mateus Prieto. *Staphylococcus aureus* Resistente à Oxacilina. **NewsLab**, 105 ed., 2011.
- DELEO, Frank R. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Lancet**, v.375, p.1557 - 1568, 2010.
- DEURENBERG, Ruud H., STOBBERINGH, Ellen E. The evolution of *Staphylococcus aureus*. **Infection, Genetics and Evolution**, v.8, p.747–763, 2008.
- DIEKEMA, Daniel J., CLIMO, Michael. Preventing MRSA Infections: Finding It Is Not Enough. **JAMA**, v.299, n.10, p.1190-1192, 2008.
- DRAWZ, Sarah M., BONOMO, Robert A. Three Decades of β -Lactamase Inhibitors. **Clin. Microbiol. Rev.** v. 23, n. 1, p.160–201, 2010.

DUPLESSIS, Christopher, CRUM-CIANFLONE, Nancy F. Ceftaroline: A New Cephalosporin with Activity against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Clin. Med. Rev. Ther.**, 2011.

GOTUZZO, Eduardo. Current status and recommendations on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Latin America. **Braz. J. Infect. Dis.**, v.14, Supl.2, p.77-78, 2010.

GUZMÁN-BLANCO, Manuel et al.. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.34, p.304–308, 2009.

JELJASZEWICZ, J., MLYNARCZYK, G., MLYNARCZYK, A. Antibiotic resistance in Gram-positive cocci. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.16, p. 473–478, 2000.

KANAFANI, Zeina A., FOWLER JR., Vance G. *Staphylococcus aureus* Infections: New Challenges from an Old Pathogen. **Enferm. Infec. Microbiol. Clin.**, v.24, n.3, p.182-193, 2006.

KATAYAMA, Yuki et al.. Genetic Background Affects Stability of *mecA* in *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Microbiol.**, v.43, n.5, p.2380-2383, 2005.

KOBAYASHI, Scott D., DELEO, Frank R. An update on community-associated MRSA virulence. **Current Opinion in Pharmacology**, v.9, p.545–551, 2009.

KOBAYASHI, Scott D., MUSSER, James M., DELEO, Frank R. Genomic Analysis of the Emergence of Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **mBio**, Jul/Ago v.3, n5, 2012.

LPSN. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Disponível em <<http://www.bacterio.cict.fr/>>. Acesso em 05 de outubro de 2012.

MALTEZOU, Helen C., GIAMARELLOU, Helen, Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.27, p.87-96, 2006.

MEJÍA, Carlos, ZURITA, Jeannete, GUZMÁN-BLANCO, Manuel. Epidemiology and surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. **Braz. J. Infect. Dis.** v.14, Supl. 2, p.79-86, 2010.

MENEGOTTO, Fabíola Rossi, PICOLI, Simone Ulrich. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, vol. 39, n.2, pag. 147-150, 2007.

Ministério da Saúde do Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. Brasília: Editora Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004.

MOISE, Pamela A. et al. The efficacy and safety of linezolid as treatment for *Staphylococcus aureus* infections in compassionate use patients who are intolerant of, or who have failed to respond to, vancomycin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.50, p.1017–1026, 2002.

OLIVEIRA, Geraldo A. et al. Characterization of the Brazilian Endemic Clone of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Hospitals Throughout Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.5, n.4, p.163-170, 2001.

OLIVEIRA, Geraldo A. et al. Isolation in Brazil of nosocomial *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.** v.22, n.7, p. 443-448, 2001.

ROSSI, Flávia. The Challenges of Antimicrobial Resistance in Brazil. **Clinical Infectious Diseases**. v. 52, n. 9, p.1138-1143, 2011.

RUBINSTEIN, Ethan. *Staphylococcus aureus* bacteraemia with known sources. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.32, p.18–20, 2008.

SOUZA, Marshal Vieira, REIS, Cleômenes e PIMENTA, Fabiana Cristina. Revisão sobre a aquisição gradual de resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos. **Revista De Patologia Tropical**, v.34, n.1, p. 27-36, 2005.

SPELLBERG, Brad, DAUM, Robert. Development of a vaccine against *Staphylococcus aureus*. **Semin. Immunopathol.**, v.34, n.2, p.335-348, 2011.

SWANEY, Steve M. et al. The Oxazolidinone Linezolid Inhibits Initiation of Protein Synthesis in Bacteria. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 42, n. 12, p. 3251–3255, 1998.

VALSESIA, Giorgia et al. Emergence of SCCmec Type IV and SCCmec Type V Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Containing the Pantone-Valentine Leukocidin Genes in a Large Academic Teaching Hospital in Central Switzerland: External Invaders or Persisting Circulators? **Journal of Clinical Microbiology**, v.48, n.3, p. 720–727, 2010.

WELTE, Tobias, PLETZ, Mathias W. Antimicrobial treatment of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pneumonia: current and future options. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.36, p.391–400, 2010.

ZURITA, Jeannete, MEJÍA, Carlos, GUZMÁN-BLANCO. Diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. **Braz. J. Infect. Dis.**, v.14, Supl.2, p.97-106, 2010.