

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

DAYANE NUNES SOUSA

BACTÉRIAS RELEVANTES NA VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA:
CONTEXTUALIZAÇÃO DA PROBLEMÁTICA DOS PROCESSOS
ENVOLVENDO *Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA (MRSA)

BELO HORIZONTE

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

DAYANE NUNES SOUSA

BACTÉRIAS RELEVANTES NA VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA:
CONTEXTUALIZAÇÃO DA PROBLEMÁTICA DOS PROCESSOS
ENVOLVENDO *Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA (MRSA)

Monografia apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Especialista em Microbiologia.

Orientadora: Prof^ª. Simone Gonçalves dos Santos

Co-orientadora: Prof^ª. Maria Auxiliadora Roque de
Carvalho

BELO HORIZONTE

2013

Dedicatória

Dedico aos meus pais, á todas as pessoas que me apoiaram na execução desta monografia e aos profissionais da área de saúde, em especial aos Microbiologistas.

Agradecimentos

A Deus em primeiro lugar por ter me concedido a oportunidade de realizar esse trabalho, pela sabedoria adquirida, por me proteger e guiar os meus passos.

Aos meus pais, José Abílio de Melo Sousa e Rosimárcia Nunes da Silva e Sousa e a minha irmã Priscilla pela compreensão e atenção, pelo incentivo e exemplo de grande perseverança e ética profissional. A vocês que nunca deixaram de acreditar no meu sucesso, muito obrigada.

À professora orientadora Profa. Simone Gonçalves dos Santos minha gratidão pela confiança, atenção, dedicação, disponibilidade, valiosa orientação, pelo aprendizado proporcionado e pela oportunidade de me orientar nesta monografia.

À co-orientadora Profa. Maria Auxiliadora Roque de Carvalho pela disponibilidade, atenção, confiança e pelo aprendizado proporcionado.

Ao Arnaldo Nalesso, Virgínia Nalesso, Ana Ísis e Paulo Humberto, que gentilmente acolheram a mim e a minha irmã em sua casa no início do curso em Belo Horizonte-MG.

Às minhas amigas e amigos do curso de Especialização em Microbiologia, em especial Camilla Oliveira e Natália Anício, que, de certa forma, contribuíram na execução desse trabalho e pela valiosa amizade que surgiu entre nós.

Às amigas: Samara Moreira, Kahena Soldati e Pérola Muradas, que, mesmo estando distante, me apoiaram desde o princípio do curso. Obrigada pela amizade de vocês, amizade que foi conquistada desde a infância e permanece até hoje.

Agradeço aos alunos de Pós-graduação *stricto sensu* em Medicina Molecular e Neurociências no INCT: Juliana Figueira, Elizete, Luciene, Jéssica Bridi, Célio Júnior e Nancy Bina pelo aprendizado proporcionado ao longo deste ano, principalmente incentivando minha leitura por artigos científicos e que, de certa forma, contribuíram na execução deste trabalho.

Aos professores e funcionários da Universidade Federal de Minas Gerais. Agradeço em especial a toda a equipe docente do curso de Especialização em Microbiologia, que aperfeiçou meu conhecimento na área e que também acrescentou informações importantes ao longo do ano. Aos funcionários, pela atenção e paciência em relação à documentação e cópias.

A todas as pessoas que, mesmo não sendo citadas, contribuíram e foram importantes no desenrolar da pesquisa, tornando mais prazerosa a realização da mesma.

Enfim, agradeço a todos.

Feliz é o homem que acha sabedoria, e
o homem que adquire entendimento.

Provérbios 3:13

RESUMO

O primeiro semi-sintético derivado da penicilina, resistente à hidrólise por estafilococos, foi a meticilina, introduzida na prática clínica em 1960, para o tratamento de infecções causadas por uma linhagem de *Staphylococcus aureus* resistente à penicilina. O mecanismo molecular da resistência de *Staphylococcus aureus* à meticilina (MRSA) consiste na aquisição de um elemento genético móvel denominado *Staphylococcal Cassette Chromosome MEC (SCCmec)*, que contém o gene, *mecA*, responsável pela alteração das proteínas ligadoras de penicilina (PBP). MRSA é uma causa importante de infecções no nível mundial e um problema crescente em toda a América Latina. Estudos epidemiológicos mostram um aumento significativo de infecções por MRSA, tanto no hospital quanto na comunidade. O diagnóstico é baseado numa combinação de informações epidemiológicas, sintomas clínicos e caracterização da estirpe infectante de MRSA. As espécies de *Staphylococcus* podem ser identificadas com base em uma variedade de características fenotípicas convencionais. Uma das maneiras mais eficientes de controlar a propagação de MRSA é através da determinação das características genotípicas de clones de MRSA, bem como da relação genética das estirpes em diferentes regiões geográficas. Métodos rápidos e confiáveis para determinar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos são importantes para instituir a terapêutica apropriada. Contudo, observa-se resistência crescente de MRSA aos agentes antimicrobianos, redução da sensibilidade à vancomicina e dificuldade no tratamento de infecções graves por MRSA, mesmo com antimicrobianos adequados, não tendo sido possível, ainda, encontrar uma imunização ativa e passiva como estratégia eficaz. A alternativa para reduzir as infecções por MRSA e outros estafilococos é aumentar as práticas que diminuem a propagação dessa doença, nas quais podem ser consideradas como precauções de barreira ou isolamento de contato.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, antibioticoterapia, infecção hospitalar, vacinas.

ABSTRACT

The first semi-synthetic penicillin derivative, resistant to hydrolysis by staphylococcal beta-lactamase, methicillin was introduced into clinical practice in 1960 for the treatment of infections caused by a strain of *Staphylococcus aureus* resistant to penicillin. The molecular mechanism of methicillin resistance in *S. aureus* (MRSA) consists of purchasing a mobile genetic element called Staphylococcal Cassette Chromosome MEC (*SCCmec*) containing the *mecA* gene, responsible for the alteration of penicillin binding proteins (PBP). MRSA is a major cause of infections worldwide and a growing problem in Latin America. Epidemiological studies show a significant increase of MRSA infections in both hospital and community. Diagnosis is based on a combination of epidemiological data, clinical symptoms and characterization of the infecting strain of MRSA. The *Staphylococcus* species can be identified based on a variety of conventional phenotypic characteristics. One of the most effective ways to control the spread of MRSA is by determining the genotypic characteristics of MRSA clones and the genetic relatedness of strains in different geographic regions. Fast and reliable methods for antimicrobial susceptibility are important to institute appropriate therapy. However, there is increasing resistance of MRSA to antimicrobial agents, reduced sensitivity to vancomycin and difficulty in treating severe infections caused by MRSA, even with appropriate antibiotics, and it was not yet possible to find an active and passive immunization as an effective strategy. The alternative to reduce MRSA infections is increasing practices that reduce the spread of these microorganisms, which can be considered as barrier precautions or isolating contact.

Keywords: *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin, antibiotics, hospital infection, vaccines.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Os agentes beta-lactâmicos inibem a transpeptidação pela ligação às proteínas de ligação da penicilina (PBPs) nas camadas de peptidoglicano em maturação. A diminuição na síntese do peptidoglicano e o aumento das autolisinas levam à lise e morte da célula.....	21
FIGURA 2 – <i>Staphylococcus aureus</i> visualizado em microscopia após coloração pelo método de Gram.....	32
FIGURA 3 – Estrutura do peptidoglicano em bactérias Gram-positivas.....	34
FIGURA 4 – Abscesso cutâneo no joelho causado por MRSA.....	43
FIGURA 5 - Proporção de bacteremia ocasionada por isolados de <i>S. aureus</i> resistentes á meticilina em países participantes no EARSS, 2002.....	44
FIGURA 6 – Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de uma amostra de CA-MRSA. As setas indicam os discos de cefoxitina e oxacilina, marcadores da resistência ás cefalosporinas e a todos os outros beta-lactâmicos.....	51

LISTA DE TABELA

TABELA 1 – Enzimas e toxinas produzidas por <i>S. aureus</i> que participam dos mecanismos de patogenicidade e de resistência a esse patógeno.....	37
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGR - Acessório de gene regulador locus

AIDS – Síndrome de imunodeficiência adquirida

ANVISA - Agência de Vigilância Sanitária

APIC – Associação de Profissionais em Controle de Infecção e Epidemiologia

BCC – Complexo *Burkholderia cepacia*

BGNNF – Bacilos Gram-negativos não fermentador

BORSA – *Borderline oxacillin-resistant S. aureus*

CA-MRSA - *Staphylococcus aureus* metilina resistentes adquiridos na comunidade

CCIH - Comissão de Controle de Infecção em um Hospital

CDC – *Center for Disease Control and Prevention*

CEB – Clone epidêmico brasileiro

DM – Doença meningocócica

DNA – Ácido desoxirribonucléico

EARSS – *European Antimicrobial Resistance System*

ESBL - *Extended-spectrum beta-lactamase*

EUA – Estados Unidos da América

FC – Fibrose cística

HA-MRSA - *Staphylococcus aureus* metilina resistentes associado aos hospitais

HAP – Pneumonia adquirida

HCAP - Serviços de saúde associada à pneumonia

HC-UFU – Hospital das clínicas – Univesidade Federal de Uberlândia

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

IPTM – Infecções de pele e tecidos moles

KPC - *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

MDR - Resistência a múltiplas drogas

MEV - Micrografia eletrônica de varredura

MIC – Concentração mínima inibitória

MLST - *Multilocus Sequence Typing*

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

MSSA - *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina

MS – Ministério de Saúde

NHDS - *National Hospital Discharge Survey*

OPAS – Organização Panamericana de Saúde

ORSAB - Resistência a oxacilina base de ágar de rastreio

OSPC – *Oceania South Pacific Clone*

PAV - Pneumonia associada à ventilação mecânica

PBP - Proteínas ligadoras de penicilina

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PFGE - Campo pulsado de eletroforese em gel

PLPs - Proteínas ligadoras de penicilina

PRSP - Penicilina-resistente *Streptococcus pneumoniae*

PVL – *Leucocidina Panton-Valentine*

RAPD - *Random Amplified Polymorphic DNA*

RFLP - Polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição

RPAH - *Royal Prince Alfred Hospital*

Sinan- Sistema Nacional de Agravos Notificáveis, da

SSCmec – *Staphylococcal chromossome cassette MEC*

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde

SWP – *Oceania Southwest Pacific*

TGase – Transglicosilase

TPase - Transpeptidase

TSST – Síndrome do choque tóxico da toxina-1

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

VISA - Resistência intermediária à vancomicina

VRE - *Vancomycin resistant enterococci*

VRSA – *Staphylococcus aureus* vancomicina-resistente

WA-MRSA – *Western Australian MRSA*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVO GERAL.....	17
2.1 Objetivos específicos.....	17
3 METODOLOGIA.....	18
4 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
4.1 Bases Genéticas da resistência.....	20
4.2 Disseminação clonal.....	23
4.3 Bactérias relevantes na vigilância epidemiológica:...	26
4.3.1 Enterobactérias.....	27
4.3.2 Bastonetes Gram-negativos não fermentadores (BGNNF).....	28
4.3.3 Bactérias Anaeróbias.....	29
4.3.4 Cocos Gram-negativos.....	30
4.3.5 Cocos Gram-positivos.....	30
4.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	31
4.4.1 Características gerais.....	31
4.4.2 Aspectos ecológicos e da sistemática	35
4.4.3 Fatores de virulência e aspectos da patogênese:.....	35
4.5 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA)	40
4.5.1 MRSA no contexto atual.....	42
4.5.2 Resistência a antimicrobianos:	46
4.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E TRATAMENTO DE PROCESSOS ENVOLVENDO <i>S. aureus</i>	53
4.6.1 A relevância do diagnóstico microbiológico, testes de rápida identificação e normas para seu procedimento	53
4.6.2 Métodos diagnósticos fenotípicos:.....	55
4.6.2.1 Métodos de cultivo para seleção de MRSA	57

4.6.2.2 Avaliação do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos	58
4.6.3 Testes genotípicos para tipagem e caracterização clonal.....	60
4.7 TRATAMENTO.....	62
4.7.1 Antibioticoterapia e fatores de risco.....	62
4.7.2 Utilização de Vacinas:	64
4.8 Considerações éticas.....	67
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

1. INTRODUÇÃO

A evolução da resistência dos microrganismos aos antimicrobianos é um dos problemas mais significativos da medicina moderna, representando séria ameaça à saúde humana e animal (SOULSBY, 2012).

O tratamento de infecções bacterianas, particularmente as nosocomiais, tem se tornado cada vez mais complexo e desafiador, pelo aumento da proporção de pacientes imunocomprometidos ou gravemente doentes, aumento da prevalência de patógenos resistentes aos antibióticos no ambiente hospitalar e carência de novos agentes antimicrobianos (NICOLAU, DP, 2011).

Staphylococcus aureus é a principal causa de infecções bacterianas humanas, no mundo inteiro, e é endêmico tanto nos hospitais como na comunidade. Sua ubiquidade é facilitada pelo estilo de vida comensal, sendo frequentemente encontrado na pele e na narina anterior dos indivíduos saudáveis. O espectro clínico das infecções varia de infecções relativamente benignas da pele e tecidos moles até infecções sistêmicas graves e de difícil tratamento. A alta incidência de infecções por *S. aureus* está relacionada à habilidade do microrganismo de prontamente adquirir resistência a antimicrobianos (CHAMBERS e DELEO, 2009; KOBAYASHI; MUSSER e DELEO, 2012).

A capacidade de *S. aureus* para desenvolver resistência aos fármacos está bem documentada e talvez seja melhor exemplificada pelo surgimento da linhagem resistente à penicilina, conhecida como fagotipo 80/81, logo após a introdução da penicilina na década de 40. A resistência é conferida por uma penicilinase mediada por plasmídeos que hidrolisa o anel beta-lactâmico da penicilina. *S. aureus* fagotipo 80/81 se espalhou rapidamente e se tornou pandêmico nos hospitais e na comunidade (KOBAYASHI, MUSSER e DELEO, 2012)

A meticilina foi o primeiro antimicrobiano semi-sintético derivado da penicilina resistente à hidrólise por beta-lactamases produzidas por *Staphylococcus* spp. Este fármaco foi introduzido na prática clínica em 1960, para o tratamento de infecções causadas por linhagens de *S. aureus* resistentes à penicilina (JOHNSON, 2011).

O mecanismo molecular de resistência à meticilina é decorrente da aquisição de um elemento genético móvel denominado *Staphylococcal Cassette Chromosome mec*

(SCC*mec*) que contém o gene, *mecA*, responsável pela alteração das proteínas ligadoras de penicilina (PBP). As PBPs são enzimas necessárias para a síntese da parede celular bacteriana. A ligação dos beta-lactâmicos a PBP bloqueia sua função e há formação de uma parede celular débil ou imperfeita que prejudica o desenvolvimento adequado da bactéria. O gene *mecA* codifica a PBP com baixa afinidade aos antimicrobianos beta-lactâmicos, denominada PBP2A ou PBP2'. O SCC*mec* contendo o *mecA* é incorporado ao cromossomo do *S.aureus* em um sítio de localização específica, promovendo, então, resistência bacteriana (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Embora amostras contemporâneas de *S. aureus* resistente à meticilina – MRSA parecessem uniformemente sensíveis a este novo agente, a primeira amostra resistente desta bactéria foi relatada no Reino Unido, um ano após sua introdução na clínica (JOHNSON, 2011). No Brasil, a meticilina foi posteriormente substituída por uma congênera, a oxacilina, à qual, em apenas um ano, este agente infeccioso desenvolveu um novo mecanismo de defesa, ocasionando a emergência do MRSA (LOPES, 2005).

A emergência e a disseminação global de MRSA devem ser vistas como um processo de evolução acelerado, direcionado pela pressão seletiva através da disponibilidade de diversos antimicrobianos introduzidos na prática clínica (CRISÓSTOMOS et al, 2001). Em contraste com a resistência à penicilina em *S. aureus* mediada por plasmídeos, que confere resistência somente à penicilina, SCC*mec* confere um amplo espectro de resistência aos agentes terapêuticos da classe dos beta-lactâmicos e, frequentemente, não-beta-lactâmicos (KOBAYASHI, MUSSER E DELEO, 2012). Assim, linhagens de MRSA vêm adquirindo grande importância mundial, pois estes microrganismos tendem a ser multirresistentes a outras classes de antimicrobianos, limitando a opção terapêutica ao uso de glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina), oxazolidinonas (linezolida) e estreptograminas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Entre os cocos Gram-positivos, a resistência à meticilina observada em estafilococos se tornou um importante problema na América Latina, mostrando variações significativas nas taxas entre diferentes hospitais e entre países específicos. (SADER et al., 2004). Esses autores comentam que, em estudos anteriores, a maioria das amostras de MRSA avaliadas apresentou resistência cruzada a quase todos os agentes antimicrobianos testados, exceto à vancomicina, teicoplanina, quinupristina ou

dalfopristina e linezolida. No seu trabalho, foi, também, observado o decréscimo da sensibilidade dos *Staphylococcus* coagulase negativa à teicoplanina (SADER et al., 2004).

Tradicionalmente, as infecções causadas por MRSA eram limitadas aos hospitais (HA-MRSA), mas, nos últimos anos, as infecções associadas ou adquiridas na comunidade envolvendo estes microrganismos, denominados *S. aureus* adquiridos na comunidade (CA-MRSA) estão sendo documentadas de forma crescente em todo o mundo. Epidemiologicamente, estas amostras são definidas como CA-MRSA se coletadas de pacientes ambulatoriais, ou coletadas até 48 horas após admissão hospitalar (GELATTI et al., 2009; JUNIOR, 2009).

Alguns fatores de risco, tais como o aumento do número de cirurgias, o uso de cateteres, a ocorrência da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e doenças pulmonares, a prematuridade, o uso de ventilação mecânica e de imunossupressores, a internação em unidades de terapia intensiva (UTI), o surgimento de novas linhagens bacterianas multirresistentes a drogas, e a disseminação destes genes de resistência têm aumentado significativamente o percentual de infecções hospitalares (RATTI e SOUSA., 2009).

Apesar dos resultados encorajadores das vacinas com polissacarídeos estafilocócicos conjugados de proteínas, a imunização ativa contra *S. aureus* pode ser de utilidade limitada nos grupos de pacientes que apresentam alto risco de infecção, porque estes pacientes muitas vezes são funcionalmente imunocomprometidos. Assim, a imunização passiva com título elevado de imunoglobulinas ou de anticorpos monoclonais proporciona alternativa para a imunização ativa (JOHN e SCHREIBER, 2006).

Staphylococcus aureus, com a sua resistência associada à meticilina, até agora, tem sido quase exclusivamente um patógeno humano, mas já é relatado em animais de produção e de companhia. Animais utilizados na alimentação, como porcos, bezerros e frangos, muitas vezes carregam, sem sinais clínicos, uma cepa especial de MRSA, chamada CC398, embora não exista, ainda, nenhuma evidência de este ser um risco significativo à saúde. Algumas cepas de MRSA adquiridas na comunidade (CA-MRSA) tornaram-se firmemente estabelecidas em todo o mundo e parecem ser mais virulentas e

espalham mais facilmente do que as adquiridas em hospitais. A leucocidina Pantone-Valentine leucocidin (LPV) é a toxina mais comum em cepas CA-MRSA, sendo associada com pneumonia necrotizante e fascite (SOULSBY, 2012).

MRSA continua a ser uma preocupação de saúde pública, apesar de melhoradas as práticas de lavagem das mãos, precauções de isolamento e controle do uso de antimicrobianos. O modo inadequado do cumprimento das precauções de isolamento não é a única razão para os resultados decepcionantes obtidos para erradicar este microrganismo, e as causas alternativas precisam ser identificadas. De acordo com estudos prévios, a depuração de MRSA varia de 7 a 12 meses. A readmissão de portadores assintomáticos de MRSA pode, portanto, contribuir substancialmente para um reservatório desse microrganismo no hospital, o que pode explicar a ausência de uma diminuição na prevalência de HA-MRSA em muitos países (GROHS, 2012).

A presença de MRSA é uma causa importante de infecções no nível mundial e um problema crescente em toda a América Latina. Estudos epidemiológicos definem um aumento considerável de infecções por HA-MRSA e CA-MRSA (ZURITA et al., 2010). Nos hospitais brasileiros, MRSA é responsável por cerca de 37% das infecções estafilocócicas. Um clone de MRSA único, denominado clone endêmico brasileiro (CEB) é responsável pela grande maioria dos infecções. No entanto, estudos têm relatado a ocorrência de infecções por CA-MRSA no sul do Brasil, linhagens estas que, as semelhanças das outras igualmente aos outros CA-MRSA, abrigam, em particular, o *SCCmec* tipo IV (PEREZ e D'AZEVEDO., 2008).

Em relação a situações clínicas, o diagnóstico é baseado numa combinação de informação epidemiológica, sintomas clínicos e caracterização da linhagem infectante de MRSA (ZURITA et al., 2010).

As diretrizes européias e norte-americanas fornecem um excelente ponto de referência para o tratamento de infecções por MRSA, o qual deve ser orientado por questões locais, incluindo as prováveis fontes de infecção e os fatores de risco associados com a população de pacientes. Para isto, precisos diagnósticos laboratoriais e a realização de testes de suscetibilidade aos antimicrobianos são de grande relevância para a geração de dados epidemiológicos locais, conduzindo a escolha da antibioticoterapia definitiva adequada (LUNA et al., 2010).

A Microbiologia Clínica é, necessariamente, dinâmica, e deve ser sustentada pelo avanço científico e tecnológico. Da integração clínico-microbiológica espera-se enfrentar de maneira mais objetiva os desafios para o diagnóstico e o tratamento das doenças infecciosas. É neste contexto que se pretende contribuir com esta revisão da literatura.

2. OBJETIVO GERAL

Contextualizar o atual estado do diagnóstico e os respectivos tratamentos de processos envolvendo *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA).

2.1 Objetivos específicos

- Pela revisão da literatura,

- Comentar sobre as infecções hospitalares e adquiridas na comunidade ocasionadas por MRSA, dando ênfase às infecções em hospitais;
- Relatar a situação do diagnóstico de processos infecciosos envolvendo MRSA e os antimicrobianos utilizados na terapia;
- Abordar sobre a situação atual das vacinas e aspectos éticos envolvendo os indivíduos portadores sintomáticos e assintomáticos de MRSA.

3. METODOLOGIA

As informações atualizadas abordando o tema foram realizadas sob a forma de revisão de literatura, utilizando artigos científicos das bases de dados Pubmed, Lilacs, Medline, Ann-clinmicrob e portal Capes, livros de Microbiologia, informações online do *Center for Disease and Control and Prevention* (CDC), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério de Saúde (MS), entre outros. Foram utilizadas pesquisas com as seguintes palavras-chave: *Staphylococcus aureus* meticilina resistente, antibioticoterapia, infecção hospitalar e vacinas, pesquisando-se nas línguas inglesa, francesa, portuguesa e espanhola.

REVISÃO DA LITERATURA

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Bases genéticas da resistência

Dentre os parâmetros considerados para a classificação dos antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções bacterianas destaca-se o mecanismo de ação, isto é, o componente celular ou sistema que afetam, cujas possibilidades principais se apresentam como: interferência na síntese da parede celular, na síntese de proteínas, no metabolismo dos ácidos nucléicos, interferência em reações enzimáticas (análogos estruturais) e nas funções da membrana celular. Os antimicrobianos que agem inibindo a síntese da parede celular são os mais usados e incluem os beta-lactâmicos, tais como as penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, monobactâmicos e os glicopeptídios incluindo a vancomicina e a teicoplanina. Os antimicrobianos podem ser classificados quanto às consequências da ação das drogas, isto é: as que induzem a morte celular (drogas bactericidas) e os antimicrobianos que apenas inibem o crescimento das células (drogas bacteriostáticas) (TENOVER, 2006; KOHANSKI, DWYER, COLLINS., 2010).

O aparecimento de resistência a múltiplos agentes antimicrobianos em bactérias patogênicas tornou-se uma ameaça para a saúde pública significando a perda ou redução da eficácia dos agentes antimicrobianos disponíveis para infecções causadas por determinadas bactérias. Um microrganismo pode apresentar resistência intrínseca ou adquirida a algum antimicrobiano. É considerada resistência intrínseca a propriedade genética estável codificada no DNA cromossômico e partilhada por todos os membros do gênero. A resistência adquirida ocorre quando há uma mudança no DNA da bactéria na qual uma nova característica fenotípica pode ser expressa. As bactérias podem expressar resistência através de uma mutação no DNA cromossômico ou por aquisição de novo DNA, podendo, então, ser esta de origem extra-cromossômica ou cromossômica (MCMANUS, 1997; MAGIORAKOS et al., 2011).

- Interferência nas sínteses da parede celular

De acordo com Kohanski, Dwyer, Collins (2010), a célula bacteriana é revestida por camadas de peptidoglicano (PG, ou mureína), uma matriz polimérica covalentemente ligada por reações cruzadas, que é composta de β -(1-4)-*N*-acetil-

hexosaminas ligadas a peptídios. Os agentes beta-lactâmicos (incluindo as penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos) e glicopeptídeos estão entre as classes de antimicrobianos que interferem em passos específicos na biossíntese da parede celular. O sucesso do tratamento com um inibidor da síntese da parede celular pode resultar em mudanças no tamanho e forma da célula, induzir respostas ao estresse celular, e culminar em lise das células. Por exemplo, os beta-lactâmicos bloqueiam as ligações cruzadas de unidades de PG pela inibição da reação de formação da ligação peptídica, catalisada por transpeptidases (FIGURA 01), que são também conhecidas como proteínas de ligação à penicilina (PBP).

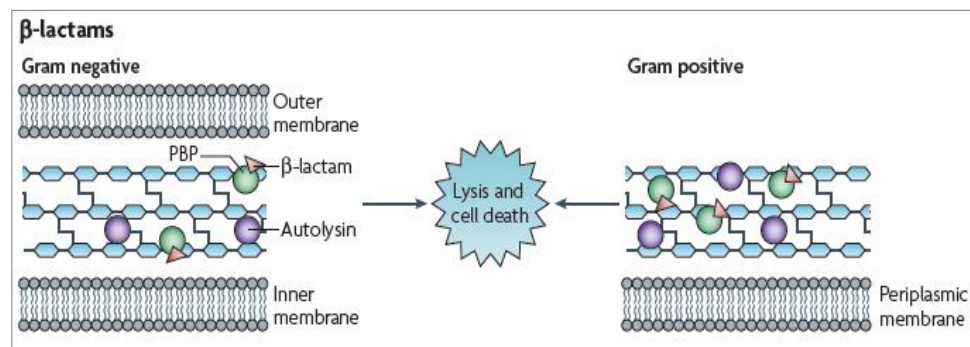


Figura 01 – Os agentes beta-lactâmicos inibem a transpeptidação pela ligação às proteínas de ligação da penicilina (PBPs) nas camadas de peptidoglicano em maturação. A diminuição na síntese do peptidoglicano e o aumento das autolisinas levam à lise e morte da célula.

Fonte: KOHANSKI, DWYER, COLLINS., 2010

- Interferência na síntese do ácido nucleico

A inibição da síntese de RNA pela classe da rifamicina, que é um antimicrobiano bactericida semi-sintético, de maneira similar à inibição da replicação do DNA por quinolonas, tem um efeito catastrófico no metabolismo do ácido nucleico procariótico, podendo induzir a morte celular bacteriana. A droga rifamicina inibe a transcrição DNA-dependente por ligação estável, com alta afinidade para a subunidade beta (codificada pelo gene *rpoB*) de uma enzima RNA-polimerase ligada ao DNA (KOHANSKI, DWYER, COLLINS., 2010).

- Interferência na síntese de proteínas

Drogas que inibem a síntese de proteínas estão entre as mais amplas classes de antimicrobianos e podem ser divididas em duas subclasses: os inibidores das subunidades 50S e 30S ribossomais. Os iniciadores 50S ribossomais incluem as classes de antimicrobianos: macrólídeos (por exemplo, eritromicina), lincosamidas (clindamicina), estreptograminas (dalfopristina/quinupristina), anfenicol (cloranfenicol) e oxazolidinona (linezolida). Em termos gerais, os inibidores de ribossomos 50S funcionam por bloqueio ou na iniciação da tradução da proteína, ou na translocação do peptidil-tRNA, que serve para inibir a reação de peptidiltransferase que alonga a cadeia peptídica. Os iniciadores ribossomais 30S incluem as famílias dos antimicrobianos: tetraciclina e aminociclitol. As tetraciclinas bloqueiam o acesso dos aminoacil-tRNAs ao ribossomo. A classe é composta de aminociclitol espectinomicina e da família de antimicrobianos de aminoglicosídeo (por exemplo, estreptomicina, canamicina e gentamicina), que se ligam ao componente 16S rRNA da subunidade 30S do ribossoma. Espectinomicina, interfere com a estabilidade do peptidil-tRNA de ligação ao ribossomo, inibindo o alongamento do fator de translocação catalisada, mas não causa má tradução da proteína. (KOHANSKI, DWYER, COLLINS., 2010).

- Interferência na síntese de vias metabólicas

Em 1930, as sulfonamidas, também conhecidas como sulfas, foram testadas pela primeira vez como fármacos antibacterianos. Um exemplo de sulfa ainda utilizada na terapêutica é o sulfametoxazol, em associação com o trimetoprim, para o tratamento de pacientes com infecções no trato urinário e também para pacientes portadores do vírus HIV que apresentam infecções por *Pneumocystis jiroveci*. Cada um desses fármacos bloqueia uma etapa no metabolismo do ácido fólico. O sulfametoxazol bloqueia a enzima di-hidropteroato sintetase, presente apenas nas bactérias, enquanto o trimetoprim inibe a di-hidrofolato redutase. Ambas as enzimas atuam na via de biossíntese do N5,N10-metileno-tetra-hidrofolato, importante cofator que fornece uma unidade de carbono na biossíntese de bases pirimidínicas constituintes dos ácidos nucleicos. A atuação destes fármacos é sinérgica no bloqueio de dois diferentes passos na via bioquímica de formação deste cofator essencial. As sulfonamidas são, portanto, agentes bacteriostáticos que atuam como antimetabólitos do ácido paraminobenzóico, substrato para a di-hidropteroato sintetase bacteriana, impedindo a formação do di-

hidropteroato e, conseqüentemente, do N5,N10-metileno-tetra-hidrofolato (GUIMARÃES, MOMESSO, PUPO., 2010).

- Interferência na permeabilidade da membrana citoplasmática:

A membrana citoplasmática ou membrana interna é constituída por cerca de 66% de proteínas e 33% são lipídeos, localiza-se abaixo da parede celular envolvendo o citoplasma. Possui permeabilidade seletiva controlando a passagem de soluções para dentro e fora da célula. Alterações físico-química da membrana citoplasmática levam a morte celular pois rompe a permeabilidade seletiva ocasionando saída de constituintes vitais a célula ou entrada de substâncias nocivas ao seu metabolismo. Alguns antimicrobianos tais como, polimixinas e tirotricina, se ligam aos constituintes normais da membrana provocando uma desordem funcional (JACOBY, 2008).

4.2 Disseminação Clonal

No hospital, a infecção cruzada entre pacientes ou entre funcionários e pacientes corresponde a uma ameaça constante. As infecções hospitalares são denominadas infecções nosocomiais (*nosocomium* é do termo latino para “hospital”), atingindo cerca de 5% de todos os pacientes admitidos. Em determinados serviços clínicos, tais como as unidades de terapia intensiva, até 10% dos pacientes adquirem alguma infecção nosocomial. No total, cerca de dois milhões de infecções nosocomiais ocorrem a cada ano nos Estados Unidos, acarretando, direta ou indiretamente, 80 mil mortes. Embora as infecções hospitalares estejam particularmente associadas á alta prevalência de pacientes doentes, estas comumente decorrem da presença de microorganismos patogênicos, os quais são selecionados e mantidos no ambiente hospitalar (MADIGAN, MARTINKO, PARKER, 2010).

Desde a introdução do primeiro antimicrobiano vem se registrando uma pressão seletiva dos microorganismos ocasionada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos e quimioterápicos, resultando na emergência de espécies resistentes. O uso inadequado de recursos diagnósticos e terapêuticos proporciona aumento significativo do risco de infecção. As infecções hospitalares influenciam no período de hospitalização, nos índices de morbimortalidade, repercutindo de maneira significativa nos custos, especialmente, considerando o prolongamento da internação, o consumo de

antimicrobianos, os gastos com isolamento e os exames laboratoriais. No geral, estes são fatores determinantes na ocorrência de infecções, especialmente por estirpes multirresistentes. Essas infecções por bactérias multirresistentes são comumente causadas por estafilococos resistentes à meticilina, enterobactérias e pseudomonas. A identidade do microrganismo causador da infecção pode fornecer alguma indicação em relação à sua fonte; entretanto, certos patógenos têm significado especial por causarem grandes surtos em todo o hospital. Cabe lembrar que a problemática da multirresistência se constitui em ameaça à sociedade, particularmente à indústria farmacêutica, que se encontra deficitária na obtenção de novos antimicrobianos com resposta terapêutica (ANDRADE., 2005; ANVISA., 2007).

De acordo com Costello et al., (2010) o aumento da prevalência da resistência microbiana é um dos problemas mais prementes enfrentados pelos serviços de saúde na atualidade. Segundo Amábile-Cuevas (2012) o surgimento e a propagação de bactérias resistentes aos antimicrobianos refletem uma evolução gradual, que geralmente produz rápidas quedas na sensibilidade aos antimicrobianos, juntamente com fenótipos que não são precisamente caracterizados como resistência, e mudanças bruscas, de sensibilidade à resistência, que são acionados por uma variedade de mecanismos de transferência horizontal de genes.

Microrganismos resistentes aos antimicrobianos podem ser transmitidos de paciente para paciente em unidades de saúde, muitas vezes através de mãos contaminadas do pessoal da equipe do hospital, equipamentos médicos ou cirúrgicos contaminados, ou do próprio ambiente. Este tipo de dispersão é, geralmente, clonal, envolvendo a transmissão de uma única estirpe de microrganismo resistente ao antimicrobiano. Surtos causados pela transmissão clonal de um microrganismo resistente aos antimicrobianos têm sido geralmente relatados envolvendo MRSA, enterococos resistentes à vancomicina (*vancomycin-resistant enterococci* – VRE), *C. difficile* e bacilos Gram-negativos multirresistentes. Surtos clonais em múltiplas instituições podem também ocorrer com transmissão de uma linhagem comum em várias instalações de cuidados de saúde, mesmo em diversas regiões geográficas. No entanto, a clonalidade é menos provável de ocorrer com doença esporádica em áreas com taxas relativamente baixas, ou com determinados microrganismos e mecanismos de resistência (MULVEY e SIMOR, 2009).

A troca genética entre os microrganismos por conjugação é responsável pela propagação de traços de resistência e virulência entre os procariotos (GUGLIELMINI, DE LA CRUZ E ROCHA, 2012). A transferência horizontal de genes fornece o mecanismo mais importante para acelerar a dispersão dos genes de resistência a antimicrobianos. No caso de *Streptococcus pneumoniae*, a resistência à penicilina ocorre através de transformação do DNA a partir de estreptococos resistentes a esta droga e, na maioria das bactérias, os plasmídeos são os vetores principais. A importância de plasmídeos portadores de resistência a múltiplas drogas (MDR) em *Shigella* spp. e *Escherichia coli* foi descrita pela primeira vez na obra de Watanabe no Japão há 40 anos atrás. Plasmídeos são capazes de fazer transferência (auto-conjugação) entre as linhagens de espécies e tem uma estrutura de mosaico que surgiu por recombinação e transposição, que é responsável pela captura de genes de resistência diferentes, dando origem ao fenótipo MDR (HAWKEY e JONES, 2009).

Segundo Freire e Souza (2009) o uso irracional de antimicrobianos contribui para a emergência de linhagens bacterianas resistentes. Os antimicrobianos são especialmente utilizados nos países em desenvolvimento, onde, em média, 35% do orçamento total da saúde é gasto com antimicrobianos. Ao mesmo tempo, as dificuldades em manter rotinas adequadas de controle de infecção hospitalar acarretam disseminação clonal (bactéria geneticamente similar) dos agentes resistentes. Quando estas bactérias surgem de forma policlonal (bactérias resistentes a um antimicrobiano e linhagens geneticamente diferentes) em diversos setores do hospital, é possível que haja excesso de uso de antimicrobianos, na instituição ou na comunidade, gerando intensa pressão seletiva. Por outro lado, havendo disseminação de um clone único de bactéria resistente, é mais provável que o problema esteja relacionado à falta de controle de infecção hospitalar e transmissão horizontal; além disso, estes dois fenômenos podem ocorrer concomitantemente, dificultando as decisões sobre estratégias de controle (QUEENAN e BUSH, 2007).

Embora haja dúvidas sobre a cronologia destes fenômenos, observações levam a crer que a utilização maciça ou inadequada de antimicrobianos é fator importante para o surgimento de bactérias resistentes; alguns dos fatos que sustentam esta evidência são:

1. Mudanças no uso de antimicrobianos levam a mudanças nos padrões de resistência;

2. A resistência antimicrobiana é mais comum em bactérias nosocomiais que comunitárias e é nos hospitais onde se concentra o maior uso de antimicrobianos;
3. Durante surtos de infecções nosocomiais, pacientes infectados com linhagens resistentes têm maior chance de ter usado antimicrobianos, comparados com grupo controle com infecção por linhagens sensíveis;
4. Áreas dentro do hospital com maior densidade de uso de antimicrobianos também apresentam maior incidência de resistência;
5. O aumento da duração da exposição a antimicrobianos aumenta a chance de colonização por bactérias resistentes. A restrição da utilização dos antimicrobianos é, portanto, em combinação com as demais, uma importante estratégia para promover o uso racional e seguro dessas drogas (FREIRE e SOUZA, 2009).

4.3 Bactérias relevantes na vigilância epidemiológica

A epidemiologia envolve o estudo da ocorrência, distribuição e controle de doenças nas populações, abrange a investigação tanto da doença em curso como de doenças emergentes num hospedeiro no qual o patógeno deve ser capaz de crescer e se multiplicar. Por esse motivo, um importante aspecto da epidemiologia de qualquer doença corresponde à investigação da história natural do patógeno. Ao existir um equilíbrio estabelecido entre o hospedeiro e o microrganismo, ambos sobrevivem. Porém, em situações nas quais o hospedeiro se encontra com baixa imunidade, o patógeno pode ocasionar doenças graves (MADINGAN, MARTIKO e PARKER, 2010).

A Comissão de Controle de Infecção em um Hospital (CCIH) é composta de indivíduos com liderança e posições dentro da instituição de cuidados de saúde, e o comitê serve como uma ligação entre o controle de infecção e prevenção, cuidados do paciente do hospital e serviços de apoio, e da administração do hospital. As funções da comissão de controle de infecção incluem revisão dos dados de vigilância epidemiológica, formular e deliberar sobre as políticas de controle de infecção, revisão de focos e formulação de uma resposta, aprovar as metas anuais e os objetivos do programa do controle de infecção, desenvolver política sobre comunicação pública, e assessorar a administração médica e sênior da instalação (SYDNOR e PERL, 2001).

4.3.1 Enterobactérias

O sorogrupo O157 de *Escherichia coli* representa um dos agentes patogênicos humanos mais notórios e pode ser ligado à ingestão de alimentos ou águas contaminadas (COUTURIER et al., 2011). *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* estão entre as principais enterobactérias causadoras de infecções hospitalares, ocasionando pneumonia, infecção do trato urinário e infecções sanguíneas comuns. A produção de beta-lactamases de espectro estendido (*Extended-spectrum beta-lactamase* - ESBLs) surgiu no mundo inteiro como um dos principais determinantes de resistência aos antimicrobianos penicilinas, cefalosporinas e aztreonam, entre as bactérias Gram-negativas. Os microrganismos produtores de ESBL são altamente prevalentes em hospitais e representam um problema mundial, especialmente nos países da América Latina e no Brasil, onde foram identificadas altas taxas endêmicas de produção de ESBL por membros da família *Enterobacteriaceae* (SUPERTII, AUGUSTIII, ZAVASCKI., 2009).

Proteus mirabilis é a segunda causa mais comum de infecções do trato urinário e também é uma importante causa de infecções nosocomiais. O tipo selvagem das estirpes desta espécie é geralmente sensível a beta-lactâmicos, porque não expressa uma cefalosporinase codificada cromossomicamente por *AmpC* (ARAGÒN et al., 2008). Ocorrências clínicas de produção de ESBL por estirpes de *P. mirabilis*, têm aumentado desde que foi documentada a primeira produção de ESBL nesta bactéria, em 1987. Na França, a prevalência *P. mirabilis* ESBL-positivos aumentou de 0,8%, em 1991, para 6,9%, em 1998. Estudos de vigilância realizados nos Estados Unidos e na Itália mostraram uma prevalência de 9,5% e 8,8%, respectivamente, de *P. mirabilis* produtores de ESBL (KIM et al 2004).

Cronobacter sakazakii, é uma causa rara de infecções na corrente sanguínea e no sistema nervoso central. O microrganismo também tem sido associado à enterocolite necrotizante; no entanto, não foi estabelecido como um agente causador. Processos relatados são, muitas vezes, graves: convulsões, abscesso cerebral, hidrocefalia, retardo de desenvolvimento e morte em até 40% - 80% dos casos. Prematuros são considerados em maior risco do que outras crianças ou adultos, e os surtos da doença ocorrem em unidades hospitalares para recém-nascidos (BOWEN e BRADEN, 2006). *Cronobacter cloacae* causa infecções nosocomiais envolvendo o trato urinário, vias respiratórias

inferiores, pele e tecidos moles, trato biliar, feridas, cateteres intravenosos, e do sistema nervoso central. Pode tornar-se resistente a cefalosporinas de largo espectro cromossomicamente codificadas por *AmpC* beta-lactamase. Um número crescente de linhagens de *E. cloacae* com ESBL foram observadas em todo o mundo (YANG et al., 2011).

A família de enzimas *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) é um grupo rapidamente emergente de carbapenemases, que é capaz de inativar todos os beta-lactâmicos, incluindo os carbapenems. Os genes KPC são encontrados em plasmídeos que transportam frequentemente determinantes de resistência a outras classes de antimicrobianos. Embora essas enzimas sejam mais comumente encontradas em *K. pneumoniae*, eles se espalharam para outras *Enterobacteriaceae* (QUEENAN e BUSH, 2007).

4.3.2 Bacilos Gram-negativos não fermentadores da Glicose (BGNNFG)

Pseudomonas aeruginosa e *Acinetobacter baumannii* estão entre os mais importantes agentes patogênicos oportunistas responsáveis por vários tipos de infecções, principalmente em pacientes internados em unidades de terapia intensiva. Estão entre os microrganismos que suscitam maior necessidade médica por novos antimicrobianos eficazes. Os relatórios anuais do Sistema Europeu de Vigilância da Resistência Antimicrobiana (*European Antimicrobial Resistance Surveillance System - EARSS*) mostraram uma alta proporção da resistência antimicrobiana entre *P. aeruginosa* isoladas na República Checa, nos anos de 2005 e 2006, sendo estas taxas maiores do que as da maioria dos outros países (NEMEC et al., 2010).

Burkholderia cepacia é outro BGNNFG, cujo *habitat* é o meio ambiente. No hospital está associada a surtos por contaminação de antissépticos, medicamentos, gel de eletrocardiograma, água para hemodiálise e lipídeos (FREITAS et al., 2007). O complexo *Burkholderia cepacia* (Bcc), abundante no solo e na rizosfera das plantas faz parte de um grupo de agentes patogênicos de grande risco na fibrose cística (FC), associado ao pior prognóstico e infecção cruzada entre os doentes. Estas bactérias são intrinsecamente resistentes a múltiplos antimicrobianos, desinfetantes e antissépticos e são transmitidas entre os doentes com FC através do contato social e pela partilha de

equipamentos de terapêutica inalatória, sendo a hospitalização um fator de maior risco para a aquisição de Bcc (CORREIA et al 2008).

Stenotrophomonas maltophilia, previamente denominada *Pseudomonas maltophilia* é atualmente a única espécie pertencente ao gênero *Stenotrophomonas*. Caracteriza-se por ser um BGNNFG, aeróbio, com distribuição ubíqua e baixa virulência. É considerado um agente incomum de infecções em indivíduos imunocompetentes; porém, nas últimas décadas vem se destacando como um patógeno nosocomial emergente, principalmente em pacientes com baixa imunidade, com alta morbidade e mortalidade, sendo, em muitos centros, o terceiro BGNNFG de maior importância em infecções hospitalares, perdendo apenas para *P.aeruginosa* e *A.baumannii* (RODRIGUES, DI GIOIA, ROSSI, 2011).

Acinetobacter baumannii é um BGNNFG, aeróbica, geralmente encontrada na água, no solo e possivelmente em mãos contaminadas dos agentes de saúde que estão em contato com os pacientes. Essa bactéria tornou-se um importante patógeno nos últimos anos devido a surtos de infecções em unidades de grandes queimados, em pacientes imunodeprimidos e em uso de ventilação mecânica que estão internados em UTI. Geralmente, esta bactéria desenvolve resistência aos aminoglicosídeos, beta-lactâmicos e fluoroquinolonas, e costuma ser sensível apenas aos carbapenêmicos (CIRINO, GUIMARÃES e FOLLADOR, 2008).

4.3.3 Bactérias Anaeróbias

Segundo Moura et al (2001) os anaeróbios superam em número as bactérias aeróbias por um fator de aproximadamente 10 vezes na orofaringe, 100 vezes no trato urogenital e 1000 vezes no trato gastrintestinal. Entre essas bactérias, as linhagens do grupo *Bacteroides fragilis*, pertencente à microbiota indígena, participam das infecções de caráter endógeno, são as mais comumente isoladas de quadros clínicos humanos e apresentam os maiores percentuais de resistência aos antimicrobianos. Muitos destes processos infecciosos são graves, como abscessos cerebrais e abdominais, peritonites e outros, e exigem uma pronta avaliação e terapêutica adequada.

Clostridium difficile é uma bactéria Gram-positivas, formadora de esporos, comumente presentes no solo, no trato intestinal dos animais, crianças e adultos

saudáveis. Infecções intra-hospitalares causadas por *C. difficile* estão relacionadas a superfícies ou mãos de profissionais da saúde contaminadas. Há linhagens consideradas toxigênicas, que estão presentes na microbiota indígena de indivíduos saudáveis e que não representa perigo para a saúde, exceto em pessoas com fatores de risco, tais como: uso de antimicrobianos, pacientes idosos, em longo prazo de internação, múltiplas comorbidades, etc, que poderia causar diarreia, até uma colite pseudomembranosa (PREDRAG et al., 2012).

4.3.4 Cocos Gram-negativos

A Doença Meningocócica (DM) é causada pela espécie *Neisseria meningitidis* (*meningococo*), de ocorrência mundial e os sorogrupos principais são: A, B, C, Y e W135. O sorogrupo A tem registrado maior potencial epidêmico enquanto os meningococos B e C ocorrem predominantemente de forma endêmica; contudo, também podem desencadear epidemias. De 1996 a 2001, a maior proporção dos casos de DM nos EUA foi devida ao sorogrupo Y (39%), seguido do sorogrupo C (31%), sorogrupo B (23%) e sorogrupo W135 (2%). No Canadá e na Europa, predominam os sorogrupos B e C; entretanto, relatos recentes evidenciam os sorogrupos A e W-135 no continente africano, responsáveis por importantes epidemias na região. No Brasil, o coeficiente médio de incidência da DM é de 3,28/100.000 habitantes (1994 a 2004) e a letalidade, no período correspondente foi de 19,4%, segundo dados do Sinan/SVS/MS (Sistema Nacional de Agravos Notificáveis, da Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde). No Estado de São Paulo a DM apresentou uma taxa média de incidência dos casos em torno de 4,59/100.000 habitantes nos últimos dez anos. A letalidade oscilou entre 17% e 20% (CARVALHANAS, BRANDILEONE, ZANELLA., 2005).

4.3.5 Cocos Gram-positivos

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2007), *S. pneumoniae* é o principal agente etiológico de infecções respiratórias (otites, sinusites e pneumonias) adquiridas na comunidade. As doenças pneumocócicas são responsáveis por um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, incluindo o Brasil. Estima-se que nos países em desenvolvimento pneumococos sejam responsáveis por mais de um milhão de óbitos em crianças, sendo a maioria por pneumonia. Nos EUA, *S. pneumoniae* é responsável por 3.000 casos de meningite por ano, 500.000 casos de

pneumonia, 50.000 casos de bacteremias e 7.000.000 casos de otite média. Foram testadas 6.470 linhagens de *S. pneumoniae* isoladas no Brasil no período de 1993 a 2004. O número de linhagens resistentes à penicilina variou de 10.2 a 27.9%.

Enterococcus é um gênero de bactérias Gram-positivas, normalmente encontradas no intestino e no trato genital feminino, sendo *E. faecalis* e *E. faecium* as duas que normalmente colonizam e infectam os seres humanos. A espécie *E. faecalis* representa 85 a 90% dos *Enterococcus* spp. sendo a que menos expressa resistência; *E. faecium* é menos prevalente, de 5 a 10%, mas apresenta maior propensão ao desenvolvimento de resistência (ANVISA, 2007).

A emergência deste patógeno nas últimas duas décadas, entre os muitos fatores, se deve em parte à sua resistência intrínseca aos antimicrobianos comumente utilizados, como: aminoglicosídeos, aztreonam, cefalosporinas, clindamicina, oxacilina. *E. faecium* é menos sensível aos antimicrobianos beta-lactâmicos do que *E. faecalis*, devido à baixa afinidade das PBPs. O VRE foi reconhecido em 1988 e é responsável por mais de 20% das infecções enterocócicas nos EUA. No Brasil, foi descrito pela primeira vez em 1996, em Curitiba. Estudos recentes já mostram mais de 15% de resistência à vancomicina em alguns hospitais brasileiros. A emergência dessa resistência pode estar relacionada ao aumento do uso de vancomicina, nos últimos 20 anos, decorrente da terapêutica das infecções por MRSA. Os três fenótipos de resistência encontrados são mediados pelos genes *vanA*, *vanB*, *vanC* e os menos frequentes, *vanD* e *vanE* (ANVISA, 2007).

Espécies de *Staphylococcus* fazem parte da microbiota indígena humana e de outros animais e algumas são clinicamente relevantes, como *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e *S. saprophyticus*.

4.4 *Staphylococcus aureus*

4.4.1 Características gerais

Staphylococcus aureus é o patógeno humano mais importante do gênero, composto de 46 espécies e 24 subespécies, as quais podem ser isoladas de amostras biológicas humanas e de outros animais (HAJEK, 1976; EUZÉBY, 2012).

Este microrganismo foi descrito pela primeira vez em 1880, em pus de abscessos cirúrgicos, pelo cirurgião escocês Alexandre Ogston e, atualmente, é um dos microrganismos mais comuns nas infecções piogênicas em todo o mundo. Crescem em meios comuns como caldo ou ágar simples, em pH próximo de 7 e temperatura ótima de 37°C. As colônias formadas em placa, após 18 a 24 horas de incubação, apresentam-se arredondadas, lisas e brilhantes. A colonização nasal por *S. aureus* é assintomática e de grande importância clínica, uma vez que, com as narinas colonizadas, o indivíduo pode contaminar as próprias mãos e ser veículo de transferência desta bactéria (SANTOS et al., 2007).

Bactérias deste gênero possuem formas esféricas (cocos), que medem aproximadamente 0,5-1,5 µm de diâmetro, podendo apresentar-se isoladas, aos pares, em cadeias curtas, ou classicamente em grupos em forma de cachos irregulares e são Gram-positivas (FIGURA 2). São anaeróbias facultativas, desenvolvendo-se melhor em atmosfera aeróbia, são imóveis e não possuem capacidade de esporular. Suas colônias, em meio sólido, são geralmente lisas e algumas convexas com a borda contínua, podendo apresentar pigmentação amarela, ou amarelo-alaranjado, que se torna mais pronunciada após incubação à temperatura ambiente, enquanto outras podem ser esbranquiçadas ou acinzentadas. Além disso, algumas linhagens de *S.aureus* podem produzir uma zona difusa de beta-hemólise ao redor da colônia, evidenciada após incubação prolongada (PALOS, 2006).

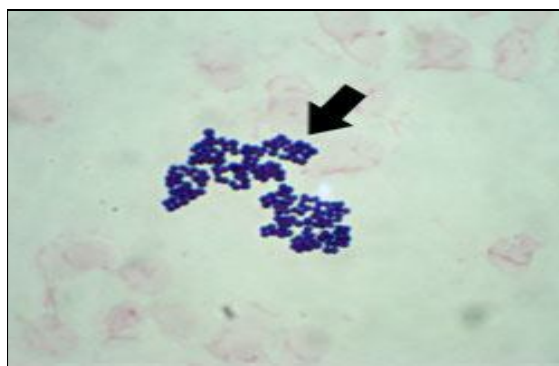


FIGURA 2 – *Staphylococcus aureus* visualizado em microscopia após coloração pelo método de Gram. Fonte: ANVISA., 2007.

As espécies do gênero *Staphylococcus* não formam gás a partir de carboidratos e são anaeróbios facultativos com exceção do *S. sacharolyticus* e *S. aureus* subespécie.

anaerobius, tornando-se aerotolerantes na subcultura. O genoma de *S. aureus* tem um teor de guanina-citosina de aproximadamente 32%, consiste de um cromossomo circular único, de aproximadamente 2.800 mega pares de bases, com profagos, plasmídeos, transposons, sequências de inserção e outros elementos genéticos acessórios variáveis. A maioria das amostras de *S. aureus* isoladas da natureza carrega plasmídeos, que frequentemente são transferidos entre si, entre bactérias do gênero, ou entre bactérias de diferentes gêneros (GOMES, 2012; MURRAY et al., 2007).

A célula de culturas jovens são intensamente Gram-positivas, mas com o envelhecimento da cultura muitas células se comportam como Gram-negativas. Sob influência de determinadas substâncias químicas (por exemplo, penicilina) eles são lisados ou se transformam em formas L, mas não são alterados pelos sais biliares ou pela optoquina. São resistentes a dessecação, ao calor (resistem a 50°C durante 30 minutos), ao nitrato e a 9% de Cloreto de Sódio, porém são facilmente inibidos por determinadas substâncias químicas, por exemplo, o hexaclorofeno a 3% (JAWETZ et al., 1980; ARRUDA et al., 2007).

O gênero *Staphylococcus* spp. pertence à família *Micrococcaceae*, porém, estudos utilizando recursos da biologia molecular, incluindo análises de regiões RNA ribossômicas, perfis de ácidos graxos e componentes de parede celular microbiana promoveram a inclusão deste gênero em uma nova família, a *Staphylococcaceae* (GARRITY, 2006). Algumas espécies produzem enzimas e toxinas tais como: coagulase, catalase, hialuronidase, enterotoxinas, toxinas, hemolisinas e leucocidinas. Estes fatores de virulência são indicativos de potencial capacidade de produzir doenças e alguns são marcadores de identificação da espécie. A parede celular das bactérias Gram-positivas tem como principal função a proteção contra lise osmótica. Pela sua natureza, confere forma, rigidez e funciona como uma barreira em relação ao meio externo. O principal componente da estrutura química da parede celular de bactérias Gram-positivas incluindo-se os estafilococos é o peptidoglicano (FIGURA 3), um polímero que consiste em longas cadeias de glicídios com ligações cruzadas flexíveis de peptídeos que forma uma estrutura forte, mas elástica (SOUZA, 2009; GARRITY, 2006).

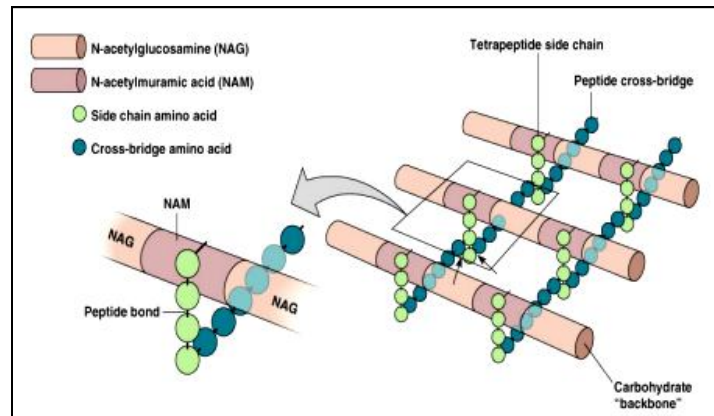


FIGURA 3 – Estrutura do peptidoglicano em bactérias Gram-positivas

Fonte: ROSA, 2009.

A característica isolada mais importante para identificar espécies de *Staphylococcus* é determinada pela prova da catalase que avalia a capacidade de produção desta enzima. Bactérias que produzem a coagulase são capazes de promover uma reação de coagulação, aglutinando o plasma humano ou de coelho. *S. aureus* são coagulase positivos e a incidência deste microrganismo é elevada em casos de infecção hospitalar (RATTI e SOUSA, 2009).

Staphylococcus aureus é o agente infeccioso bacteriano mais comumente encontrado em seres humanos, ocasionando uma ampla gama de doenças (KAWAGUCHIYA et al., 2011). É um dos principais patógenos causadores de infecções superficiais e profundas, além de síndromes relacionadas à ação de toxinas, como a Síndrome do Choque Tóxico causada pela Toxina 1 (TSST-1) (NOUR, MASTOURI e NEJMA, 2005; TRIJP et al., 2010).

A espécie *S. aureus* é um dos patógenos hospitalares mais importantes e mais disseminados, representam a causa mais comum de pneumonias e a terceira causa de infecções sanguíneas, além de ser um problema nos berçários. Muitas linhagens são virulentas e resistentes a antimicrobianos comuns, dificultando seu tratamento. Além de *S. aureus*, outras espécies de *Staphylococcus* compoem a maior causa coletiva de infecções sanguíneas adquiridas em hospitais, sendo altamente prevalentes como agentes responsáveis por infecções de ferimentos. A maioria dos membros do gênero *Staphylococcus* pode ser encontrada no trato respiratório superior ou na pele, compondo

a microbiota normal de vários indivíduos, incluindo pacientes e funcionários de hospitais (MADINGAN, MARTINKO e PARKER, 2010).

4.4.2 Aspectos ecológicos e da sistemática

A ampla versatilidade metabólica de *S. aureus* os torna amplamente distribuídos na natureza. Os nichos ecológicos naturais deste microrganismo são as cavidades nasais e a pele de animais de sangue quente (MACHADO et al., 2011). A distribuição de *S. aureus* é muito vasta, visto que essa bactéria é significativamente capaz de resistir à dessecação e ao frio, podendo permanecer viável por longos períodos em partículas de poeira. Pode ser encontrado no ambiente de circulação do ser humano, sendo o próprio homem seu principal reservatório, podendo estar presente nas fossas nasais, garganta, intestinos e pele. Desses sítios anatômicos, as narinas possuem o maior índice de colonização, cuja prevalência é de cerca de 40% na população adulta (SANTOS et al., 2007). Esta bactéria pode, ainda, colonizar e causar doenças em uma variedade de membros do reino animal, incluindo mamíferos, répteis, aves, insetos (*Drosophila melanogaster*) e vermes (*Caenorhabditis elegans*). É a espécie do gênero que mais expressa fatores de virulência, embora se notem diferenças entre as linhagens. Parcialmente, isso se deve, ao fato de ser um microrganismo com abundante diversidade genética e bem adaptado aos seus diversos hospedeiros (VAN-LEEUVEN et al., 2005).

4.4.3 Fatores de virulência e aspectos da patogênese

Como mencionado, *S. aureus* é responsável por uma ampla variedade de infecções comunitárias e hospitalares, podendo ocasionar endocardite, osteomielite, infecções na pele e TSST-1 que podem resultar da expressão coordenada de fatores de virulência. Esta expressão coordenada é feita por uma variedade de reguladores globais de virulência, incluindo dois sistemas componentes, o DNA de ligação de proteínas e o sistema “quorum-sensing”. Muitos dos trabalhos que estabeleceram o papel destes reguladores de virulência foram realizados em estirpes cultivadas em laboratório. Alguns dos atributos de virulência encontrados no gênero *Staphylococcus* são cápsula, peptidoglicano, proteína A, adesinas, enzimas extracelulares, leucocidinas e hemolisinas. Estes fatores mostram a importância da bactéria numa diversidade de ambientes (PRAGMAN e SCHILEVERT, 2004, RATTI e SOUSA., 2009).

A capacidade patogênica de uma determinada amostra de estafilococos é o resultado do efeito combinado dos fatores extracelulares, das toxinas e das propriedades invasoras da amostra. A contribuição dos diversos fatores extracelulares na patogenia é evidenciada pela natureza de suas ações isoladas. Estima-se que 25% da população humana sejam portadores sãos de *S. aureus*. Os fatores que predispoem os indivíduos saudáveis a desenvolver doenças associadas a essa bactéria incluem depressão no sistema imunológico, debilitação causada por infecções virais, doenças como diabetes, injúrias na pele e mucosas, doenças crônicas, uso de corticóides, e outros fatores que causem algum distúrbio no equilíbrio do sistema imune. (JAWETZ et al., 1980; GOMES, 2012).

As doenças provocadas por *S. aureus* podem ser decorrentes da invasão direta dos tecidos, de bacteremia primária ou ser devidas às toxinas que ele produz (TABELA 1). Essas infecções podem se localizar em um ou em múltiplos sítios, recebendo diversas designações, como foliculite; sico (*bicho-do-pé*); carbúnculo; antraz; furúnculos localizados na região cervical posterior; hordéolo (terçol); hidradenite (inflamação das glândulas sudoríparas) e impetigo. No primeiro momento da invasão de *S. aureus*, essa bactéria se adere à pele ou à mucosa e rompe as barreiras do epitélio. Após a invasão do epitélio, utiliza diversas estratégias para garantir a sua sobrevivência e proliferação no organismo hospedeiro, e essas estratégias são relacionadas com a opsonização do complemento, a neutralização da fagocitose e a inibição das respostas imunes humoral e celular. A capacidade de colonização e a patogenicidade apresentadas por esta espécie é, portanto, uma consequência de seus fatores de virulência, os quais têm papel relevante na adesão celular, na captação de nutrientes e na sua evasão da resposta imunológica do hospedeiro (SANTOS et al., 2007).

TABELA 1

Enzimas e toxinas produzidas por *S. aureus* que participam dos mecanismos de patogenicidade e de resistência a esse patógeno.

Nome	Classe	Função
Betalactamases	Enzima	Inativa os antibióticos betalactâmicos (exs.: penicilinas e cefalosporinas) pela abertura do anel betalactâmico (exs.: penicilinas e cefalosporinas)
Coagulase	Enzima	Converter o fibrinogênio em fibrina, independentemente da presença do íon Ca^{+2} dos fatores V, VI e VII da coagulação sanguínea, provocando a deposição de fibrina em torno do microorganismo e dificultando a fagocitose celular
Hialuronidase	Enzima	Despolimeriza o ácido hialurônico, agindo, assim, como fator de propagação do microorganismo
Catalase	Enzima	Converter o peróxido de hidrogênio, que apresentaria uma ação tóxica sobre a bactéria, em oxigênio e água
Alfatoxina (alfa-hemolisina)	Toxina	Pode apresentar quatro conformações diferentes, sendo capaz de lisar hemácias e causar danos às plaquetas em casos de intoxicações graves
Betatoxina (beta-hemolisina)	Toxina	Degrada a esfingomielina, provocando lesões na membrana dos eritrócitos e, conseqüentemente, conduzindo a hemólise
Deltatoxina (delta-hemolisina)	Toxina	Possui propriedades tensoativas, atuando como detergente e sendo responsável pelos efeitos sobre as membranas de eritrócitos, macrófagos, linfócitos, neutrófilos e plaquetas. É capaz, ainda, de inibir a absorção de água pelo íleo, devido à alteração do mecanismo de ação do monofosfato de adenosina cíclico (AMP-c), desencadeando uma diarreia aguda
Gama-toxina (gama-hemolisina)	Toxina	Apresenta atividade hemolítica, cujo mecanismo ainda não foi devidamente estabelecido
PVL	Toxina	Composta por dois componentes proteicos (S e F), que atuam sinergicamente. Essa proteína altera a permeabilidade da membrana e ataca os leucócitos polimorfonucleares e os macrófagos. Essa lateração permite a entrada de cátions, como Ca^{+2} , resultando na degranulação celular e induzindo a citólise
Esfoliatina	Toxina	Promove a clivagem do extrato granuloso da epiderme, causando síndromes cutâneas severas (síndrome da pele escaldada e impetigo bolhoso)
TSST-1	Toxina	Provoca febre, choque e envolvimento de sistemas orgânicos múltiplos, incluindo erupção cutânea descamativa
Enterotoxinas (A,B,C,D e E)	Toxina	Toxinas proteicas pirogênicas, termoestáveis, responsáveis pela intoxicação alimentar, podendo provocar vômitos e diarreias

AMPc: monofosfato de adenosina cíclico; PVL: leucocidina Panton-Valentine; TSST-1: toxina da síndrome do choque tóxico. Fonte: SANTOS et al., 2007

Os superantígenos estimulam grandes números de células T, que liberam mediadores intercelulares, denominados citocinas, que ativam uma resposta inflamatória generalizada no intestino ocasionando uma gastroenterite associada à intensa perda de fluídos intestinais. A enterotoxina A é um pequeno peptídeo único, com 30.000 Da de massa molecular, codificado por um gene cromossomal. A clonagem e sequenciamento desse gene, o gene *entA*, assim como vários outros genes de enterotoxinas de *S. aureus*, revelaram que estas são geneticamente relacionadas. Embora este gene seja encontrado no cromossomo bacteriano, as enterotoxinas B e C podem ser codificadas por plasmídeos, transposons ou bacteriófagos lisogênicos (MADINGAN, MARTINKO e PARKER, 2010).

O microrganismo *S. aureus* enterotoxigênico é um dos principais patógenos responsáveis por casos de intoxicação alimentar no mundo inteiro, com estimativa segundo os dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), como causa de 185.000 casos de intoxicação alimentar nos Estados Unidos, anualmente. Naquele país, se gasta em torno de 1,5 bilhão de dólares por ano por causa das intoxicações estafilocócicas (LUZ, 2008). A intoxicação alimentar por *S. aureus* pode ser muito grave, embora bastante autolimitante, geralmente desaparecendo em um período de 48h após seu início. Os casos graves podem requerer tratamento para o combate à desidratação. Não apresenta utilidade o tratamento com antimicrobianos, visto que a doença é causada por uma toxina pré-formada, não correspondendo a uma infecção ativa (MADINGAN, MARTINKO e PARKER, 2010).

A virulência de *S. aureus* é determinada, também, por proteínas associadas à parede celular e toxinas secretadas, que são reguladas e expressas de acordo com as fases e/ou condições de crescimento. A expressão genética é regulada por mecanismos específicos e sensíveis, a maioria atuando no nível da transcrição. Fatores regulatórios constituem numerosas redes complexas, dirigindo interações específicas com os promotores dos genes alvo. Estes fatores são, em grande parte, regulados por dois componentes de sistemas de regulação, tais como os sistemas *agr*, *saeRS*, *srrAB*, *arlSR* e *lytRS*. Estes sistemas são sensíveis a sinais ambientais e consistem de uma quinase sensora de histidina e um regulador de proteína de resposta. Proteínas do DNA, como SarA e suas homólogas recentemente identificadas (SarR, Rot, SarS, SarT, SarU), também regulam a expressão deste fator de

virulência. As vias múltiplas geradas por esses fatores permitem que a bactéria se adapte às condições ambientais rapidamente e desenvolva doença infecciosa (BRONNER, MONTEIL e PRÉVOST, 2003).

O acessório do gene regulador locus *agr* foi descrito pela primeira vez em 1986 como um regulador pleiotrópico das hemolisinas, da TSST-1, estafiloquinase e da proteína A. A caracterização levou à sua descrição como um sistema “quorum-sensing” de dois componentes, que é transcrito divergentemente a partir de dois promotores adjacentes. O promotor 2 dirige a transcrição de RNAII, que codifica as proteínas estruturais AgrBDCA. AgrB e AgrD constituem, em conjunto, um sistema de detecção de *quorum*, enquanto AgrC e AgrA têm função como a quinase de histidina transmembranar e do regulador de resposta, respectivamente, num sistema de dois componentes. O promotor 3 direciona a transcrição de RNAIII, que é a própria molécula efetora do sistema *agr*. Ao atingir a fase de crescimento pós-exponencial, o acúmulo de um octapéptido, derivado a partir de sinais AgrD através do sistema de AgrCA para aumentar a transcrição de RNAIII, ativa a transcrição de exoproteínas, enquanto reprime a expressão de superfície, associada a fatores de virulência (PRAGMAN e SCHILEVERT, 2004).

O locus *sae* foi primeiro descrito por Giraud et al., seguindo a caracterização de um Tn 551 mutante de inserção de *S. aureus* RC161. O *sae* é um locus regulador que consiste de quatro estruturas de leitura abertas, duas das quais codificam o regulador de resposta e o sensor de quinase, respectivamente. Dois outros quadros de leitura aberta que codificam proteínas hipotéticas são provavelmente importantes para a funcionalidade do operon *sae*. Os dois componentes do sistema *saeRS* ativam a expressão de fatores de virulência, tais como a protease serina SSPA, termonuclease Nuc, coagulase Coa, alfa-hemolisina Hla, beta-hemolisina Hlb, proteína de adesão extracelular, matriz de proteínas de ligação extracelular Emp, proteína A, e a proteína de ligação à fibronectina FnbA. A transcrição do operon *sae* é influenciada por sinais ambientais, tais como pH, sal e concentração de glicose ou concentrações subinibitórias de antimicrobianos. Além disso, a transcrição de *sae* é controlada por outros reguladores associados à virulência e existem dados indicando que locus *sae* é essencial para a expressão do gene de virulência em condições *in vivo* (apud ROGASCH et al., 2006).

Como já mencionado, *S. aureus* é uma bactéria anaeróbia facultativa, capaz de crescer na ausência de oxigênio, seja pela respiração anaeróbica, com nitrato como o

aceitador de elétrons terminal ou por fermentação de carboidratos. No local da infecção, o oxigênio torna-se rapidamente um fator limitante, especialmente em infecções profundas. No entanto, a expressão de alguns fatores de virulência, por exemplo, alfa-toxina, requer oxigênio. O *srrAB* (ou sistema *srhSR*) foi simultaneamente descrito por dois grupos diferentes como estando envolvidos na regulação influenciada pelas condições ambientais de oxigênio. O locus *srrAB* é composto por dois quadros de leitura aberta que se sobrepõem ao longo de 20 nucleotídeos. Os dois genes, *srrA* (762 pb) e *srrB* (1752 pb), são co-transcritos, mas *srrA* pode ser transcrito de forma independente da *srrB* (BRONNER, MONTEIL, PRÉVOST., 2003).

O sistema ArIRS de dois componentes foi identificado no ano de 2000 como o resultado de uma inserção de transposons. O mutante ARLs mostrou adesão aumentada para poliestireno, aumento da autólise, e diminuição da atividade proteolítica extracelular. Estudo de deslocamento de gel mostrou que os componentes do sistema ArIRS parecem ligar-se ao promotor *norA*, que regula a produção de um transportador de resistência a múltiplas drogas (PRAGMAN e SCHILEVERT, 2004).

De acordo com Bronner, Monteil e Prévost (2003) assim como Arl, o sistema LytR-LYTS de dois componentes também está envolvido na autólise. Em comparação com o tipo selvagem, os mutantes de *LYTS* apresentam autólise aumentada e uma alteração do nível de atividade mureína hidrolase. As sequências dos genes *LYTS* e *lytR* são similares aos de outros dois componentes do sensor quinase de histidina e proteínas reguladoras. Esta estrutura, que consiste em alternados domínios hidrofóbicos e hidrofílicos, é semelhante à das proteínas de transporte, o que sugere que a transdução de estímulos ambientais por LYTS envolva o transporte. LytR e LYTS regulam positivamente a expressão de dois genes, *lrgA* e *LRGB*, localizados imediatamente abaixo do *LYTS* e *lytR*. LrgA e LRGB inibem a atividade extracelular de mureína hidrolases. Estas enzimas catalisam a clivagem de componentes específicos estruturais da parede celular bacteriana, em particular durante o bloqueio do processo de alargamento por beta-lactâmicos.

4.5 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)

Segundo Matouskova e Janout (2008) a abreviatura MRSA surgiu na literatura médica em referência às linhagens de *S. aureus* resistentes à meticilina, sendo estes microrganismos considerados um dos mais importantes agentes de infecções hospitalares, tanto em adultos quanto em crianças. Na segunda metade dos anos sessenta foram observados em vários países da Europa Central, Inglaterra, Austrália e Índia, o surgimento de linhagens de MRSA multirresistentes a drogas, ou seja, resistentes a outras classes de antimicrobianos além dos beta-lactâmicos. Em 1971, na Dinamarca, as linhagens de MRSA com resistência combinada à penicilina, estreptomicina, tetraciclina e, ocasionalmente, à eritromicina representavam 15% de todas as estirpes isoladas de *S. aureus*.

A primeira linhagem de MRSA foi isolada em 1961. Esta linha se espalhou rapidamente para outros países ao longo da década de 1960, e tornou-se um problema nos Estados Unidos na década de 1970. Infecções nosocomiais por MRSA são um desafio para os microbiologistas clínicos pelo aparecimento e propagação de clones com sensibilidade diminuída a muitas classes de antimicrobianos. Todas as estratégias para combater a propagação de MRSA em hospitais, nos níveis nacional e internacional, exigem conhecimento de como estas linhagens estão espalhadas e como as epidemias ocorrem (ROBINSON e ENRIGHT, 2004).

Muitas epidemias associadas a clones de *S. aureus* isolados de infecções Hospitalares (HA-MRSA) surgiram desde 1970. No decorrer da última década, cinco clones de pandemias principais, chamados Ibérico, Brasileiro, Húngaro, New York/Japão e Pediátrico, foram identificados, enquanto outros novos clones ou preexistentes surgiram em algumas áreas específicas. A recente disseminação mundial de vários clones de CA-MRSA torna ainda mais complexa a compreensão da epidemiologia dos processos envolvendo este microrganismo. Na França, vários clones novos de MRSA foram descritos na última década, mas os dados epidemiológicos destas amostras têm sido pouco documentados. O conhecimento da epidemiologia de MRSA é necessário para impedir a sua propagação, para determinar o espectro clínico da doença MRSA, e para aperfeiçoar o tratamento (DAUWALDER et al., 2008).

A presença de amostras de MRSA é uma causa importante de infecções em todo o mundo, e um problema crescente em toda a América Latina. Estudos epidemiológicos definem um aumento significativo de infecções por MRSA, tanto no hospital quanto na

comunidade. Em situações clínicas, o diagnóstico é baseado numa combinação de informação epidemiológica, sintomas clínicos e caracterização da estirpe infectante (ZURITA et al., 2010).

A Rede de Monitoramento/Vigilância da Resistência aos Antibióticos, configurada com o apoio da Organização Panamericana de Saúde (OPAS), fornece informações epidemiológicas sobre a resistência bacteriana na América Latina. Em alguns países, incluindo Argentina, Chile, Equador, Uruguai e Venezuela, há um sistema de controle de qualidade organizado para apoiar iniciativas locais de vigilância. Porém, em outros, a capacidade de diagnóstico microbiológico é reduzida a alguns grandes hospitais universitários nas grandes cidades, e os dados limitados, especialmente em relação ao MRSA adquirido na comunidade (ZURITA et al., 2010).

Curiosamente, parece haver variação significativa na epidemiologia e prevalência de MRSA em diferentes partes do mundo, e mesmo em regiões diferentes de um país. Além disso, os dados do CDC indicam que, nos Estados Unidos, tem havido um aumento na frequência de estirpes de MRSA resistentes a várias outras classes de antimicrobianos, tanto nos hospitais de grande porte quanto os de pequeno porte (UNAKAL e KALIWAL., 2012).

4.5.1 MRSA no contexto atual

Os resultados de um estudo dirigido pela ANVISA envolvendo 75 hospitais brasileiros (julho/2006 até junho/2008) mostraram que o gênero *Staphylococcus* está entre os microrganismos mais frequentes (47%), entre as 5.406 amostras bacterianas isoladas de infecções primárias, da corrente sanguínea, com *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (SCN) responsáveis por 29% e *S. aureus* por 18% destas infecções (KAISER et al., 2010). Na comunidade, em sua maioria, as infecções por MRSA são infecções da pele que podem aparecer como pústulas ou furúnculos (FIGURA 4), que muitas vezes são vermelhas, inchadas, doloridas, ou têm drenagem de pus. As infecções nosocomiais por MRSA (FIGURA 4) foram registradas pela primeira vez no Royal Prince Alfred Hospital (RPAH), em 1965, em Sydney, na Austrália (GIVNEY et al., 1998).



FIGURA 4 - Abscesso cutâneo no joelho causado por CA-MRSA. Fonte: CDC, 2010.

Desde o aparecimento de MRSA, *S. aureus* tem continuamente adquirido ou expressado fatores adicionais de resistência a antimicrobianos, sendo, alguns deles, resistentes a mais de 20 diferentes agentes. O desenvolvimento de fatores de resistência a antimicrobianos e de virulência adicionais, bem como a transmissão destes entre as linhagens, possivelmente ocorreu através de transferência de genes mediada por ilhas genômicas, bacteriófagos, plasmídeos, transposons e sequências de inserção (GIL et al., 2005).

A cada ano, ocorrem, nos EUA, aproximadamente, 125.969 hospitalizações com diagnóstico de infecção por MRSA, incluindo 31.440 casos de septicemia, 29.823 de pneumonia e 64.706 de outras infecções (KUERHNERT et al., 2005). Infecções por MRSA são responsáveis por mais de 60% das amostras de *S. aureus* nas UTIs dos EUA. Estas infecções matam, aproximadamente, 19.000 pacientes americanos hospitalizados anualmente, o que é semelhante ao número de óbitos pela AIDS, tuberculose e hepatite viral (KLEVENS et al., 2007; BOUCHER e COREY, 2008). Em um estudo realizado em 2005, a incidência média de MRSA em toda a China foi de mais de 50%, e em Xangai, a prevalência foi de mais de 80% (LIU et al, 2009).

O CDC e a Associação de Profissionais em Controle de Infecção e Epidemiologia (APIC) divulgaram diretrizes sobre o controle de MRSA, incluindo práticas gerais de desinfecção (*apud* KAHANOV et al., 2011).

Em Israel, a proporção de MRSA entre todas as amostras de *S. aureus* isoladas em 2008 foi de 35%, semelhante à proporção no sul da Europa e Reino Unido e menor do que em outros países do Oriente Médio. No entanto, há poucos dados sobre a

epidemiologia molecular destas linhagens em Israel. Estudo realizado em uma população pediátrica no sul deste país mostrou 5,7% de bebês colonizados por MRSA. No entanto, os dados sobre a epidemiologia molecular destas bactérias adquiridas na comunidade entre os adultos, em Israel, estão limitados a pequenas séries ou relatos de casos (ADLER et al., 2011).

Segundo Johnson (2011), com a finalidade de conhecer a ocorrência de infecções por MRSA em toda a Europa, criou-se, em 1999, o Sistema Europeu de Vigilância da Resistência a Antimicrobianos (*European Antimicrobial Resistance Surveillance System - EARSS*), agora conhecido como Rede Européia de Vigilância da Resistência a Antimicrobianos (EARS-Net). Este é um sistema de vigilância pan-europeu, no qual laboratórios hospitalares notificam casos de bacteremia causada por uma série de espécies de bactérias, incluindo *S. aureus*. Os primeiros dados do EARS-Net mostraram que infecção da corrente sanguínea com MRSA era um problema significativo e generalizado, com MRSA contabilizando >25% de bacteremias por *S. aureus* em muitos países do centro e sul da Europa (FIGURA 5).

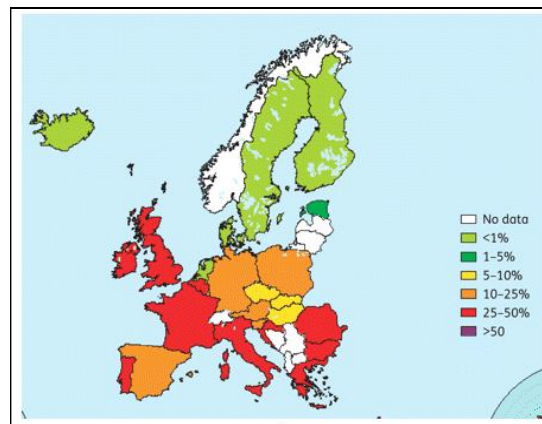


FIGURA 5 - Proporção de bacteremia ocasionada por amostras de *S. aureus* resistentes à metilina em países participantes do EARSS, 2002. Fonte: JOHNSON, 2011.

No final de 1980, os primeiros casos de isolamento de CA-MRSA foram detectados no oeste da Austrália, ocasionando infecção na população indígena local, sendo denominados de *Western Australian MRSA (WA-MRSA)*. Logo após, duas outras linhagens de CA-MRSA emergiram na Austrália e na Nova Zelândia: o clone “Queensland” e o clone “Oceania Southwest Pacific” (SWP), também denominado de OSPC (“Oceania South Pacific clone”). O clone USA400 foi relatado no centro-oeste dos Estados Unidos, em unidades neonatais e infecções puerperais. O USA300 tem sido

relatado em muitas regiões dos Estados Unidos, principalmente em jogadores de futebol americano e presidiários. O estudo de Huang et al. (2006) mostrou que, dos CA-MRSA isolados de infecções de pele e tecidos moles na Califórnia, 87% eram clones USA300. (apud GELATTI et al., 2009).

Nos hospitais brasileiros, o MRSA é responsável por, aproximadamente, 37% das infecções estafilocócicas. Um clone de MRSA único, chamado clone endêmico brasileiro, é responsável pela grande maioria dos infecções. No entanto, estudos têm relatado a ocorrência de infecções por MRSA adquiridas na comunidade (CA-MRSA) no sul do Brasil, que abrigam em particular o SCC*mec* tipo IV, igualmente aos outros CA-MRSA (PEREZ e D'AZEVEDO., 2008).

A prevalência de MRSA no Brasil em infecções associadas a serviços de saúde atinge valores elevados, que normalmente variam de 30 a 60%. Porém, um estudo realizado recentemente mostrou que a prevalência de MRSA em uma maternidade-escola da cidade de Natal-RN foi de 18,1% (JUNIOR, 2009).

Um estudo realizado no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), no período de Setembro de 2006 a Setembro de 2008, investigou a ocorrência de amostras de CA-MRSA e HA-MRSA, considerando seus aspectos epidemiológicos clássicos e moleculares. As culturas de *S. aureus* foram obtidas no laboratório de microbiologia clínica do HC-UFU e, aquelas classificadas como não-multirresistentes foram submetidas aos testes genotípicos (*Polimerase Chain Reaction - PCR, Pulsed Field Gel Electrophoresis - PFGE e Multilocus Sequence Typing - MLST*). No total, foram selecionadas 206 amostras de MRSA, com apenas 45 (21,8%) não-multirresistentes. Após a realização dos testes genotípicos, oito amostras foram identificadas como SCC*mec* IV pertencentes a um único clone, pela técnica de PFGE, com seis pulstipos, sendo sete identificadas como do clone ST (*Sequence Typing*) 5 pelo MLST (NAVES, 2011).

Em Belo Horizonte, Minas Gerais foi realizada uma pesquisa com amostras isoladas de hemoculturas no período de outubro de 2008 a março de 2009, em cinco diferentes Hospitais da cidade, mostrando dados sobre a prevalência de SCC*mec* III em 65,1% das 72 amostras de *Staphylococcus aureus* com fenótipo de resistência à oxacilina/meticilina (GOMES, 2012). Trindade et al., (2005), analisando 151 amostras

oriundas de bacteremias, obtidas em um período de sete meses, em um hospital em São Paulo, encontraram 20 (13%) amostras sensíveis a quatro ou mais antimicrobianos, sendo o SCCmec tipo IV detectado em 95% delas. Vivoni et al., (2006) verificaram a prevalência dos tipos de SCCmec em 34 amostras de MRSA obtidas em um hospital universitário, entre 1999 e 2000, no Rio de Janeiro, e demonstraram que 88% delas continham o SCCmec tipo III, característico do clone brasileiro, e apenas duas amostras (6%) continham o SCCmec tipo IV (apud GOMES, 2012).

O entendimento da evolução do MRSA tem melhorado a partir do desenvolvimento de ferramentas moleculares que permitem a caracterização da filogenia e da resistência à meticilina. As linhagens filogenéticas podem ser detectadas com tipagem sequencial de multilocus que identifica uma estirpe, com base em sua sequência em sete genes “housekeeping” – genes necessários para a manutenção da função celular (ROBINSON e ENRIGHT, 2004).

Novos clones de MRSA surgem regularmente, às vezes substituindo clones anteriormente predominantes. Deslocamento clonal tem sido observado em vários países, em pequenas regiões dentro de um país, ou em hospitais. No entanto, existem poucos dados sobre a epidemiologia e os fatores de risco potenciais para a substituição de linhagens endêmicas com novos clones de MRSA em um determinado hospital e, no nível de cada paciente. A maioria dos estudos anteriores foram realizados utilizando dados ecológicos únicos ou gerados pelos dados moleculares de interesse clínico limitado (ANGELIS et al., 2011).

4.5.2 Resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus*

Fleming, ao descobrir a penicilina em 1929, foi o primeiro a observar a resistência natural de microrganismos aos antimicrobianos. A causa desta resistência natural foi descoberta por Abraham e Chain em 1940, um ano antes da primeira publicação sobre o uso clínico da penicilina, na qual foi comprovada, em extratos de *E. coli*, uma enzima denominada penicilinase capaz de destruir a ação da penicilina. A difusão do uso clínico da penicilina trouxe ao conhecimento o fato de que, entre microrganismos sensíveis ao antimicrobiano, havia exemplares resistentes, sendo detectadas por Kirby, em 1944, algumas amostras de *S. aureus* isoladas de material

clínico resistentes à penicilina, devido à produção de penicilinase (*apud* TAVARES, 2000).

Os microorganismos tiveram, aproximadamente, 3,5 milhões de anos para se adaptar aos vários ambientes no planeta Terra. O poder que dirige esta adaptabilidade microbiana é a plasticidade genética e a replicação rápida. Inúmeras bactérias demoram 20 a 30 minutos para replicar, enquanto que os seres humanos levam 20 a 30 anos. Face ao exposto, não há dúvida de que os microorganismos são os mais numerosos, diversos, e são os organismos mais adaptáveis que já viveram no planeta terra (SPELLBERG et al., 2008).

Hawkey e Jones, (2009) relatam que a resistência a antimicrobianos aumenta a morbidade, mortalidade e também os custos do tratamento de doenças infecciosas. A ameaça da resistência (particularmente resistência múltipla em estirpes bacterianas que disseminaram amplamente) nunca foi tão grande. Os principais fatores de condução desta ameaça foram o aumento do uso de antimicrobianos, na medicina humana e animal, a maior movimentação de pessoas entre localidades e o aumento da industrialização.

A expressão da resistência microbiana a antimicrobianos se dá mediante mutações e mecanismos diversos, como: diminuição da permeabilidade da célula bacteriana, alterações de moléculas nas quais se aderem os antibacterianos, expulsão do antimicrobiano do interior da célula, aquisição de plasmídeos R por diferentes mecanismos químicos, podendo, também, produzir enzimas que modificam a parte ativa da molécula do antibacteriano, tornando-o praticamente inativo. Além disso, os microorganismos sintetizam novas enzimas que não sofrem a ação do antibacteriano e que possuem a mesma atividade metabólica das enzimas que são inativadas pelo mesmo. Junto a estes fatores, baixas concentrações de antimicrobianos alteram a estrutura e a antigenicidade bacteriana, a síntese e excreção de enzimas envolvidas na virulência e a cinética de crescimento bacteriano (RATTI e SOUSA, 2009).

A disseminação global da resistência microbiana é um dos motivos do predomínio de doenças infecciosas que não foram derrotadas. É comumente aceito que o uso inadequado de certas drogas é a causa da resistência aos antimicrobianos em microorganismos, e essa resistência poderia diminuir com o uso racional de

antimicrobianos pelos profissionais da saúde. A resistência epidêmica a antimicrobianos tem sido descrita em numerosos agentes patogênicos, em vários contextos, incluindo uma pandemia global de MRSA, a propagação global da resistência às drogas entre os patógenos respiratórios comuns, abrangendo *S. pneumoniae* e *Mycobacterium tuberculosis*, e aumento da epidemia de tuberculose por bacilos Gram-negativos multi-resistentes. Infecções causadas por esses e outros microrganismos resistentes a antimicrobianos impactam práticas clínicas em todos os campos da medicina (SPELLBERG et al., 2008).

Antes da introdução dos antimicrobianos na prática clínica, a letalidade da bacteriemia por *S. aureus* ultrapassava 80%, e mais de 70% dos pacientes desenvolviam infecções metastáticas. No início da década de 1940, com a introdução da penicilina, o prognóstico desses pacientes melhorou bastante. No entanto, já em 1942 foram relatadas linhagens de *S. aureus* resistentes à penicilina. A resistência a esse antimicrobiano foi reconhecida e aumentou inicialmente em estirpes hospitalares e, depois, na comunidade. Contudo, no final dos anos 1960, as taxas de resistência tanto hospitalares como comunitárias chegavam a 90% e 70%, respectivamente, em algumas regiões da Europa (MIMICA e MENDES, 2007).

Existem dois processos que ocasionam a resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos que possuem anel beta-lactâmico (UENO e JORGE, 2001; SHANG et al., 2010). Um desses processos é a produção de beta-lactamase que é uma enzima indutível, codificada pelo gene *blaZ* transportado através de um plasmídeo. Esta enzima é capaz de hidrolisar penicilina G e suas estruturas análogas; a expressão de *blaZ* é regulada por dois genes, *blaR1*- *blaI*. Outro mecanismo é a resistência à meticilina por modificação dos alvos de ligação dos antimicrobianos que ocorre devido à produção de uma nova proteína de ligação às penicilinas (PLPs), chamada PLP2a ou PLP2', com pouca afinidade para com a meticilina e outros agentes beta-lactâmicos (NOUR, MASTOURI e NEJMA 2005; OTTER e FRENCH, 2010).

O gene *blaI* de *Staphylococcus* codifica, possivelmente, uma proteína repressora que se liga a um sítio operador da *blaZ*, impedindo a RNA polimerase de se ligar à região promotora e transcrever o gene. A sequência de aminoácidos do *blaR1* prediz uma proteína de membrana - geradora, com um domínio extracelular de penicilina de

ligação e um domínio citoplasmático envolvido na transdução de sinal. Quando *blaRI* está ligada pelo antimicrobiano beta-lactâmico, um sinal que conduz a transcrição de *blaZ* ocorre da membrana para dentro da célula através do seu domínio citoplasmático (HACKBARTH E CHAMBERS, 1993; LOWY, 2003).

Dados afirmam que mais de 90% das amostras isoladas produzem beta-lactamases que inativam a ação do antimicrobiano pela hidrólise do anel beta-lactâmico. O *blaZ* além de codificar beta-lactamase é parte de um elemento genético móvel ou de um plasmídeo, o qual frequentemente contém genes resistentes a outros antimicrobianos, como gentamicina e eritromicina (LOWY, 2003).

A codificação da PLP2a se dá pelo gene *mecA*, localizado na ilha genômica 21- a 67- Kb, denominada *SCCmec*. *SCCmec* é encontrado no cromossomo de *S. aureus* resistente à metilina em um local único, designado *attBsc*, perto da origem de replicação. O gene *attBsc* é encontrado em um quadro de leitura aberto de função desconhecida, identificada como *orfX*, que está bem conservada entre as linhagens de *S. aureus*. A regulação da transcrição de *mecA* ocorre por dois conjuntos diferentes, porém relacionados aos genes reguladores; o que está localizado a montante do gene *mecA* e que é transcrito de forma divergente a partir deste, é o gene *mecI/mecRI*. O outro conjunto, *blaI/blaRI*, é o elemento regulador homólogo de *Staphylococcus* produtor de penicilinase. Tanto *mecI* quanto *blaI*, podem reprimir a transcrição do *mecA* e a transcrição do *blaZ* (WISPLINGHOFF et al., 2005; GOLDSTEIN et al., 2007; PLATA, ROSATO e WĘGRZYN, 2009; CHU et al., 2012).

A produção de beta-lactamases é indutível na maior parte das amostras de *S. aureus*, e os genes de regulação e de biossíntese são agrupados, geralmente localizados no transposon Tn552. A organização do operon *mec*, responsável pela síntese de PBP2 é equivalente á do operon *bla*. O repressor *MecI* liga-se ao operador e impede a transcrição de *mecA*, o gene PBP2. Em muitas linhagens de MRSA, o *mecA* é induzido na presença do sistema regulador de *blaRI/blaI*. Além de reprimir a transcrição do gene *mecA*, *BlaI* alivia a repressão na presença de beta-lactâmicos. Sabe-se que *mecI* reprime a síntese de beta-lactamase (CLARKE e DYKE, 2001; PLATA, ROSATO e WĘGRZYN, 2009).

Os primeiros quatro tipos de SCC*mec* (I, II, III e VI) são associados a infecções nosocomiais. Os tipos IV e V são vastamente disseminados entre linhagens comunitárias. Recentemente, foi encontrado SCC*mec* tipo VII em estirpes comunitárias isoladas na Suécia e, supostamente, SCC*mec* tipo VIII foi isolado no Canadá (DAVID e DAUM, 2010; SOUZA, 2009).

A proteína alterada PBP2a mantém a eficácia da atividade de transpeptidase, ocasionando uma menor afinidade para a penicilina e outros beta-lactâmicos. PBP2a mostra de forma constante uma taxa reduzida para acilação por beta-lactâmicos e dissociação elevada. Os dois fatores agindo em conjunto, previnem acilações de PBP2a, e, sendo assim, resultam na resistência a beta-lactâmicos (DERESINSKI, 2005). Estudos têm indicado que a resistência mediada por PBP2a pode, também, ser relevante em outros contextos de resistência a drogas, e em cooperação com uma das PBPs nativas. A primeira evidência para esta cooperação foi a descoberta de que a inibição da transcrição de *pbpB*, que é o gene estrutural da PBP2, foi letal em uma estirpe de *S. aureus* metilina-sensível (MSSA), mas não em estirpe de MRSA, que expressa PBP2a de uma forma constitutiva. PBP2 é uma enzima bifuncional de parede celular sintética, contendo tanto domínio transglicosilase (TGase) como transpeptidase (TPase). Experiências genéticas mostram que a função essencial desta proteína, substituída por PBP2a, é o do domínio TPase. O funcionamento cooperativo de PBP2 e PBP2a foi ainda documentado pela observação de que o crescimento de MRSA na presença de altas concentrações de antimicrobiano requer não só PBP2a, mas o funcionamento do domínio TGase do PBP2 nativo (GARDETE, LENCASTRE e TOMASZ, 2006).

Linhagens de *S. aureus* que são menos sensíveis à metilina por causa da alta produção de beta-lactamases são chamadas de BORSA (*borderline oxacillin-resistant S. aureus*). Esta resistência chamada “*borderline*” tende a ser diferente da resistência intrínseca de MRSA; porém, no laboratório é difícil distinguir entre ambas. Por não conter PBP2a, algumas linhagens de BORSA não apresentam outro mecanismo de resistência (UENO e JORGE, 2002; MATHEWS, 2010).

Existem publicações relatando a identificação de 11 alótipos diferentes de SCC*mec*, todos revelados entre as linhagens de MRSA. O SCC*mec* apresenta componentes genéticos do complexo gene *MEC*, que é o gene responsável pela recombinação do cassete cromossômico. Variações dentro desses complexos gênicos

servem como base primária para classificação dos vários tipos de SCCmec. A importância da toxina PVL (*Leucocidina Panton-Valentine*) na virulência e epidemiologia de CA-MRSA é um fato de grande controvérsia. A PVL é uma toxina secretada por *S.aureus*, composta por duas subunidades chamadas LukS-PV e LukF-PV. Esta toxina está relacionada com a formação de poros na membrana de leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. A PVL pode ser produzida por estirpes sensíveis a beta-lactâmicos e por algumas estirpes de CA-MRSA. De maneira mais abrangente, o CA-MRSA é sensível à maioria dos antimicrobianos não beta-lactâmicos. Essa característica genotípica é expressa, na grande maioria, em um antibiograma que mostra resistência apenas ao disco de oxacilina ou cefoxitina (FIGURA 6), marcadores da resistência aos beta-lactâmicos. (GELATTI et al., 2009; COSTA et al., 2011).

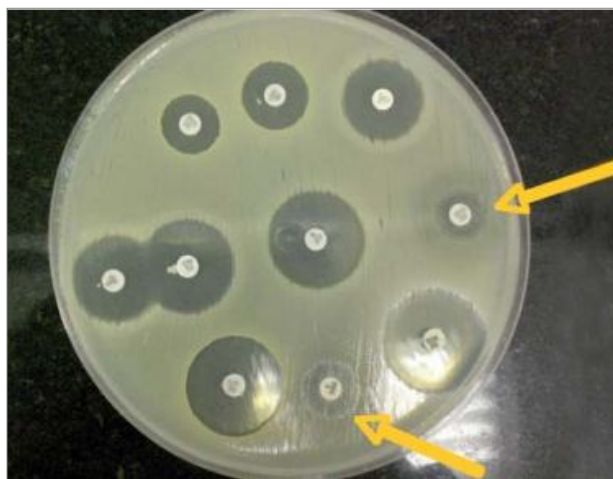


FIGURA 6 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de uma amostra de CA-MRSA. As setas indicam os discos de cefoxitina e oxacilina, marcadores da resistência às cefalosporinas e a todos os outros beta-lactâmicos. Fonte: Gelatti et al., 2009.

Genes de resistência à eritromicina são amplamente disseminados entre muitas espécies de bactérias. Em *S. aureus*, a resistência à eritromicina é geralmente devida à modificação ribossomal 23S rRNA por metilases, mediada, principalmente, por *ermA*, *ermB* ou *ermC*, ou de efluxo ativo do agente antimicrobiano, mediada por uma bomba dependente de ATP codificada por *msrA*. O gene *ermA* é mais frequentemente ancorado no transposon Tn 554, que também codifica resistência à espectinomicina, enquanto *ermB* é frequentemente associado com transposon Tn 551 e o plasmídeo de penicilinase, pI258. O gene *ermC*, que parece ser raro em estirpes

isoladas antes de 1970, está normalmente localizado em pequenos plasmídeos, variando em tamanho (2,4-5 kb). Todos os determinantes *erm* conferem resistência cruzada aos macrolídios, lincosamidas e estreptogramina B (NICOLA et al., 1998; DURAN et al., 2012).

Segundo Schito (2006) os aminoglicosídeos foram introduzidos em 1944, e na década de 1950 surgiram estirpes de *S. aureus* resistentes a esse antimicrobiano. Estas drogas penetram nas células bacterianas por energia de ligação dependente da parede celular e dependente de energia de transporte através da membrana citoplasmática. A resistência em *S. aureus* a esta classe de antimicrobianos resulta de um dos três eventos: uma mutação cromossômica, levando a uma ligação alterada do aminoglicosídeo aos ribossomos; transporte deficiente da droga ao interior da célula bacteriana; ou a modificação enzimática dos aminoglicosídeos. Neste último caso, as bactérias resistentes apresentam uma modificação nos genes *acc*, *aph* e *ant*, os quais codificam para acetiltransferases, fosfotransferases e adeniltransferases, respectivamente. As formas de aminoglicosídeos acetilados, fosforilados ou adenilados, não se ligam aos ribossomos, não inibindo a síntese proteica.

O primeiro alvo das quinolonas é a DNA girase bacteriana, sem a qual a replicação do DNA é inibida. Assim, bactérias resistentes apresentam mutações cromossomais, reduzindo a afinidade da quinolona aos seus alvos denominados DNA girase e Topoisomerase IV (ROSA, 2009).

Os glicopeptídeos, tais como vancomicina e o mais recente a teicoplanina, são drogas utilizadas na escolha no tratamento de infecções por MRSA. A primeira amostra de *S. aureus* vancomicina-resistente (VRSA) foi encontrada em 2002, embora linhagens com resistência intermediária à vancomicina (VISA) tenham sido relatadas primeiramente no Japão, em 1996 e, posteriormente, em muitos outros países, incluindo os Estados Unidos. Recentemente, 29 novos agentes antimicrobianos, como a linezolida, daptomicina e tigeciclina, estão sendo testados, podendo auxiliar no combate às amostras de *S. aureus* multiresistentes (SCHITO, 2006).

Segundo Gemmell et al. (2006) as taxas de resistência à rifampicina e ácido fusídico em MRSA podem ser elevadas em áreas do mundo onde estes agentes são amplamente usados. Em algumas regiões na Austrália, a propagação de alguns clones

parece ter contribuído para as taxas de resistência à rifampicina de 30-60%. Rifampicina e ácido fusídico, ou trimetoprim, não devem ser utilizados isoladamente, mas podem ser úteis em combinações, dependendo da sensibilidade das amostras aos antimicrobianos. As evidências para a utilidade de todas estas combinações não são totalmente precisas e há apenas evidências para uso de cotrimoxazol, mas não para uso de trimetoprim sem sulfonamidas.

A resistência aos antimicrobianos é generalizada na natureza, e o objetivo de eliminar todos os genes de resistência é paticamente impossível. Muito provavelmente, há uma resistência intrínseca enorme em bactérias, composta de genes de origem filogenética variada, que atuam como genes de resistência apenas na presença do antimicrobiano. O que podemos fazer é tentar controlar a emergência, seleção e disseminação de genes de resistência aos antimicrobianos em bactérias que interagem com seres humanos, animais ou plantas. Os métodos clássicos de controlar o aparecimento e a propagação desses genes se baseiam na descoberta de novos agentes antimicrobianos, na redução do estresse bacteriano crônico mutagênico, promovido pelo antimicrobiano, na recombinação, na transferência horizontal de eventos genéticos, associada a baixas doses, na supressão da resistência fenotípica, no uso de combinações de drogas, incluindo os pares de drogas antagonistas, no início intensivo à terapia, na manutenção de uma baixa densidade bacteriana e, mais recentemente, na vigilância de organismos hipermutáveis, e definindo funções de controle essenciais para a infecção (BAQUERO, COQUE e DE LA CRUZ, 2011).

4.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E TRATAMENTO DE PROCESSOS ENVOLVENDO *S. aureus*

4.6.1 Relevância do diagnóstico microbiológico dos testes de rápida identificação e normas para seu procedimento

A principal atividade do microbiologista é a identificação dos agentes causadores de doenças infecciosas. Essa área é denominada microbiologia clínica ou diagnóstica. A microbiologia clínica envolve uma variedade de testes e procedimentos que visam ao isolamento e identificação de patógenos. Os laboratórios clínicos isolam e identificam a maioria das bactérias patogênicas encontradas em um período de 48 horas após a coleta. Porém, avanços recentes e relevantes no diagnóstico microbiológico

rápido tornaram possível a identificação de alguns patógenos em questão de minutos. Testes empregando recursos da biologia molecular e da imunologia permitem a identificação de muitos microorganismos sem necessitar cultivá-los (MADINGAN, MARTINKO e PARKER, 2010).

Logo após a introdução da meticilina para uso clínico, a ocorrência de MRSA começou a aumentar de forma constante nos hospitais. Estirpes de MRSA constituem agora entre 20% a 55% das amostras clínicas isoladas na Europa e nos EUA. Além disso, as linhagens de MRSA que expressam resistência heterogênea à meticilina/oxacilina (uma população predominantemente com nível de resistência baixa e que coexiste com uma pequena proporção de células altamente resistentes) muitas vezes são confundidas com MSSA pela cultura convencional e representam um reservatório escondido em hospitais (MALHOTRA-KUMAR et al., 2008).

Os estafilococos são frequentemente isolados como agentes etiológicos de processos infecciosos diversos. O isolamento da bactéria a partir do local da infecção ou da cultura de sangue é necessário para ligar *S. aureus* a uma doença específica. Em alguns casos, a detecção do microorganismo pode ser dificultada pela terapia antimicrobiana em curso (MARTINEU et al., 1998; DURAN et al., 2012). De acordo com Duran et al. (2012), o diagnóstico rápido e preciso de genes de resistência a antimicrobianos é extremamente importante para o tratamento e na prevenção da propagação de infecções.

A rápida identificação de *S. aureus* é importante para que a terapia antimicrobiana apropriada possa ser iniciada. Esta espécie bacteriana deve ser diferenciada de espécies de estafilococos coagulase-negativo, que geralmente aparecem como contaminantes em algumas análises. Vários métodos para a identificação rápida de *S. aureus* têm sido propostos. Estes métodos incluem o teste de coagulase, painéis de testes de aglutinações comerciais, testes enzimáticos para a detecção de nuclease termoestável e teste de hibridação do rRNA. Embora a identificação com o teste da enzima termonuclease mostre uma excelente correlação com as identificações convencionais, podem ocorrer resultados falso-positivos entre algumas estirpes de estafilococos coagulase-negativo e estreptococos. Alguns testes apresentam uma excelente especificidade, mas com variações na sensibilidade (39 a 80%), como o observado em kits de diagnóstico para a

identificação de MRSA, usando aglutinação direta em espécimes clínicos (MARTINEU et al., 1998; XIE et al., 2012).

O teste de hibridação de rRNA mostrou excelente especificidade na detecção de *S. aureus*, mas uma evidente baixa sensibilidade na pesquisa deste agente diretamente de hemoculturas. Embora a espécie *S. aureus* seja de fácil cultivo e identificação, ainda há a necessidade do desenvolvimento de testes rápidos utilizando-se ensaios baseados no DNA, específicos para *S. aureus*, a partir de espécimes clínicos como, sangue (XIE et al., 2012).

Segundo o Ministério da Saúde (2000), existem alguns fatores que podem comprometer o diagnóstico microbiológico, tais como: uma hipótese diagnóstica mal elaborada; informações mal colhidas sobre o paciente, incompletas, ou não interpretadas corretamente; requisição inadequada da análise laboratorial; coleta, conservação e transporte inadequados; falhas técnicas no processamento da análise; demora na liberação dos resultados e má interpretação dos mesmos. Em caso de processos infecciosos, existem algumas informações relevantes para o diagnóstico, como os dados gerais do paciente, dentre eles: qual a hipótese diagnóstica; os dados clínicos (descrever os achados clínicos mais significativos); dados epidemiológicos relevantes; dados laboratoriais que evidenciem o sítio do processo infeccioso; provável origem do processo infeccioso (comunitário ou hospitalar); identificar se há existência de infecção em outra região topográfica; se fez uso de antimicrobianos nos últimos dez dias (por que e quais?); se o paciente possui comprometimento imunológico ou algum fator predisponente à infecção oportunista; se o paciente foi transferido ou teve alta nos últimos 30 dias de outro hospital; data do pedido médico; nome legível do médico; carimbo e/ou ramal de contato; data e hora da coleta e nome de quem colheu o material; comentários, quando necessários, sobre o procedimento de coleta e, no caso de suspeita de infecção urinária, informar se o paciente é sintomático ou não.

4.6.2 Métodos diagnósticos fenotípicos

As espécies de *Staphylococcus* podem ser identificadas com base em uma variedade de características fenotípicas (MURRAY et al., 2007), possibilitando, com isto, a identificação das fontes de MRSA, a avaliação de portadores humanos e a distinção entre linhagens epidêmicas das endêmicas. Os métodos mais utilizados são

baseados em características fenotípicas dos microrganismos, tais como as técnicas de biotipagem, os antibiogramas, a sorotipagem, a tipagem de bacteriocinas e uso de bacteriófagos (UENO e JORGE., 2002).

Segundo Jorgensen (2003), o teste de susceptibilidade denominado disco-difusão é tecnicamente simples e reprodutível e permite a classificação da maioria das linhagens bacterianas como sensíveis, intermediárias ou resistentes a uma variedade de agentes antimicrobianos. Os resultados são facilmente compreensíveis para os clínicos, e o teste é flexível quanto à seleção de agentes antimicrobianos. De acordo com o CLSI (2011), para *S. aureus*, o teste com disco de cefoxitina é comparável ao disco de oxacilina para na detecção de resistência à oxacilina mediada por *mecA* e, por ser mais fácil a leitura, é o método preferido. O resultado da oxacilina é relatado de acordo com o resultado da cefoxitina. Se o resultado obtido for intermediário para oxacilina, deve-se realizar o teste para detecção do gene *mecA* ou PBP2a e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), ou o teste de triagem em ágar com oxacilina.

A determinação do CIM na prática clínica tem fundamental importância, pois indica a concentração necessária de antimicrobianos no local da infecção para inibir o crescimento do microrganismo causador. O grau de resistência varia de uma estirpe para outra, abrangendo alguns microgramas por até vários miligramas por mililitro. Ao utilizar uma técnica de maior resolução (análise da população), também pode ser demonstrada uma característica ainda mais peculiar dessas bactérias: em meios de cultura em caldo, as amostras de MRSA não apresentam CIMs uniformes, devido à existência de várias subpopulações de bactérias que diferem em seus graus de resistência aos antimicrobianos. Assim, existe um surpreendente grau de não uniformidade na expressão fenotípica da resistência aos antimicrobianos, tanto a partir de uma estirpe para outra quanto dentro da progênie de uma única amostra de MRSA. Embora os fatores genéticos e ambientais sejam conhecidos por influenciar a expressão fenotípica da resistência à meticilina, a base mecanicista desta diversidade ainda não é compreendida (DAMASCENO, 2010; TOMASZ, NACHMAN, LEAF, 1991).

A fagotipagem tem sido usada na vigilância epidemiológica de estirpes de *S. aureus* há muitos anos. Apesar de ser um método reconhecido internacionalmente, o grande número de estirpes não tipificáveis limita a sua utilização, particularmente no que diz respeito às amostras MRSA. Assim, para a distinção dessas amostras, um conjunto selecionado de 10 fagos tem sido recomendado (WISNIEWSKA et al., 2012).

De acordo com Cantante (2008) e Gu et al. (2011), a terapia fágica envolve a utilização de fagos ou dos seus produtos como bioagentes para o tratamento ou profilaxia de doenças infecciosas bacterianas. Os bacteriófagos que apresentam genomas de DNA de cadeia dupla, geralmente, produzem enzimas (endolisinas ou lisinas) que degradam o peptidoglicano da parede celular bacteriana, na fase final da infecção, para lisar a célula hospedeira e libertar a progenia viral. Comentam esses autores que estudos recentes forneceram provas consideráveis de que as lisinas de alguns fagos mostram uma atividade bacteriolítica imediata e elevada, mesmo quando aplicadas exogenamente. Estas evidências apoiam, fortemente, a utilidade clínica das lisinas fágicas no controle das infecções bacterianas. O tratamento de infecções por *S. aureus* tornou-se complicado devido à sua capacidade de adquirir resistência aos antimicrobianos de uso comum. No entanto, poucos estudos têm sido realizados para possíveis aplicações terapêuticas de lisinas fágicas, ativamente purificadas, contra *S. aureus*.

4.6.2.1 Métodos de cultivo para seleção de MRSA

Métodos de cultivo utilizando meios seletivos são predominantemente utilizados e, geralmente, empregam oxacilina ou metilicina para diferenciar MRSA de MSSA. O ágar manitol suplementado com oxacilina é amplamente utilizado, mas tem mostrado sensibilidade e especificidade limitadas, em alguns estudos. O ágar base de rastreio (ORSAB) é uma versão modificada do ágar manitol, é mais seletivo, devido à presença de cloreto de lítio e polimixina, e contém azul de anilina como indicador de pH. Estudos independentes, utilizando ORSAB revelaram limitações semelhantes ao manitol quanto à sensibilidade e especificidade (PERRY et al., 2004).

De acordo com Perry et al. (2004), a resistência à ciprofloxacina tem sido proposta como um marcador substituto para a detecção de MRSA, e este antimicrobiano tem sido utilizado com sucesso para completar o meio *Baird-Parker* e o caldo manitol. Estes métodos estão limitados, no entanto, uma vez que não podem detectar estirpes de MRSA ciprofloxacina-sensíveis. Estirpes de MRSA são visualizadas através da acidificação do vermelho de fenol, devido à fermentação de manitol e/ou trealose. Meios que empregam substratos cromogênicos da enzima têm sido desenvolvidos para o isolamento de *S. aureus* e oferecem um elevado grau de

sensibilidade e especificidade, em comparação com os métodos convencionais. Alguns estudos relataram a adaptação do CHROMagar *S. aureus* para o isolamento específico de MRSA devido à inclusão de metilina ou oxacilina. Outro meio cromogênico, como o *S. aureus* ID, foi recentemente desenvolvido e tem mostrado uma elevada sensibilidade e especificidade para no isolamento de *S. aureus*. Esta bactéria forma colônias verdes sobre este meio, devido à produção de glucosidase alfa, e o meio é altamente seletivo contra os não-estafilococos, incluindo os enterococos.

A percepção geral de métodos baseados em cultura como sendo lentos e laboriosos pode sofrer alteração rapidamente com a introdução dos ágar cromogênicos, alguns dos quais produzindo resultados dentro de 24h, e sem os custos necessários para os ensaios moleculares. A reação cromogênica permite uma identificação definitiva de microrganismos diretamente da placa de isolamento primário, eliminando subculturas posteriores e testes bioquímicos de confirmação. A detecção depende do substrato cromogênico incolor incorporado, que é capaz de imitar um substrato metabólico e pode ser clivado pela enzima alvo bacteriana. Uma vez clivado, o cromogênio se torna insolúvel e apresentando cor, acumula-se no interior da célula bacteriana, permitindo a diferenciação fácil do microrganismo produtor da enzima com base na cor das colônias. (MALHOTRA-KUMAR et al., 2008).

Atualmente, os meios cromogênicos disponíveis para a detecção de MRSA incluem chromID (bioMérieux, Marcy l'Etoile, França), MRSA Select (Bio-Rad Laboratories, Bélgica), CHROMagar MRSA (CHROMagar Microbiologia, França; BD Diagnostics, Bélgica), Chromogenic MRSA/Blue Denim agar (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido), a resistência à oxacilina base de ágar de triagem (ORSAB; Oxoid), Agar Ident MRSA (Heipha GmbH, Eppelheim, Alemanha), e Cromogênico oxacilina para *S. aureus* (Axon Labs AG, Stuttgart, Alemanha). As penicilinas penicilinase-resistentes à metilina e oxacilina têm sido usadas em meios seletivos para MRSA; no entanto, cefoxitina, uma cefamicina, mostra maior seletividade e é atualmente preferida para seleção de MRSA. Estirpes de MRSA que exibem resistência indutível à metilina crescem muito mais facilmente na presença de cefoxitina do que da oxacilina, possivelmente devido a uma indução aumentada de PBP 2a pela cefoxitina (MALHOTRA-KUMAR et al., 2008).

4.6.2.2 Avaliação do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos

Segundo Orji et al. (2012), os microrganismos patogênicos resistentes aos antimicrobianos comumente utilizados são de preocupação mundial. Amostras de MRSA, tanto de origem hospitalar quanto na comunidade, têm sido relatadas mundialmente em infecções em seres humanos. A fim de avaliar a prevalência de linhagens resistentes à meticilina em *Ebonyi State University Teaching Hospital*, Abakaliki e determinar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em linhagens de *S. aureus*, os autores deste estudo avaliaram 65 amostras clínicas, pela técnica de disco-difusão e usando a oxacilina e outros antimicrobianos comumente usados na prática clínica. Das 65 amostras avaliadas, 15 (23%) foram sensíveis à meticilina, enquanto 50 (77%) eram resistentes a esta droga. As amostras resistentes à meticilina apresentaram resistência de 100% à ciprofloxacina, ceftriaxona, nitrofurantoína e eritromicina. A resistência registrada para os outros antimicrobianos foi de 88% para ofloxacina, 76% para ampicilina e 72% para gentamicina, enquanto que a menor resistência, (40%) foi registrada para a vancomicina. Observou-se, nesse estudo, que a vancomicina é, ainda, o antimicrobiano de eleição para o tratamento de infecções por MRSA.

De acordo com Shahsavan et al. (2011), a taxa de incidência média de MRSA na República Islâmica do Irã foi maior que 40%. Estudo realizado em Hospital de ensino, na cidade de Teerã, entre maio e dezembro de 2009, avaliando 140 amostras de MRSA, confirmadas pela presença do gene *MecA*, mostrou que todas elas foram sensíveis ao clorafenicol, teicoplanina, tigeciclina e vancomicina, e 139 amostras apresentaram resistência à ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, tetraciclina e sulfametoxazol-trimetoprim. A análise por PFGE de todas 140 amostras de MRSA mostrou cinco pulsotipos distintos designados como pulsotipos A a E. A maioria das amostras (n = 132) foi agrupada no pulsotipo A. A sequência de tipo mais prevalente foi a ST 239 (pulsotipo A), encontrada em 82% (37/45) das amostras testadas. O segundo tipo mais prevalente era ST 1238 (pulsotipos B, C e D), em 15% (7/45) das amostras. O tipo restante, ST 8 (pulsotipo E) foi encontrado em uma única amostra. Este estudo indicou que o clone de MRSA ST 239 era o principal no Hospital Universitário e que foi difundido entre as diferentes alas, bem como em todos os grupos de idade dos pacientes.

A identificação e a determinação da susceptibilidade de estafilococos aos antimicrobianos, por métodos convencionais, requerem, no mínimo, dois dias, enquanto que a detecção de genes de resistência a antimicrobianos pela técnica de PCR pode ser

feita dentro de algumas horas. Métodos rápidos e confiáveis para a avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos são importantes para instituir a terapêutica adequada. A multiplex PCR pode ser utilizada para a confirmação dos resultados obtidos por métodos convencionais fenotípicos, quando necessário (DURAN et al., 2012).

4.6.3 Testes genotípicos para tipagem e caracterização clonal

Para investigar a evolução dos patógenos, é importante estudar seus clones epidêmicos e suas características (SILVA, 2009). As recomendações para prevenir a disseminação do CA-MRSA na comunidade, de acordo com o CDC, são: realizar curativo das lesões com secreção, lavar as mãos frequentemente, evitar compartilhar itens pessoais e lavar roupas com água quente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

De acordo com Gelatti et al (2009), na atualidade, a tipagem molecular tem possibilitado a obtenção de novos dados, que dão origem à epidemiologia molecular. No caso de *S. aureus*, recentemente, depois de analisar uma grande variedade de linhagens que circulam em diferentes regiões do mundo e em diferentes períodos, encontrou-se que as estirpes de MRSA têm uma estrutura clonal conservada e que contam com um número reduzido de clones com capacidade de disseminação global.

Técnicas moleculares, como *fingerprints* de DNA genômico e plasmidial, RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) amplificação por PCR e RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), estão sendo utilizadas na diferenciação das estirpes de MRSA (UENO e JORGE, 2001; MENDES, 2010). O PFGE é o método molecular de referência mais comumente utilizado em laboratórios clínicos para tipagem de MRSA e outros agentes patogênicos bacterianos. Apesar do grande aumento na utilização do PFGE, uma vasta variedade de protocolos tem sido publicada e poucas tentativas bem sucedidas para padronizá-los (MURCHAN et al., 2003).

Uma das maneiras eficientes de controlar a propagação de MRSA é através da determinação das características genotípicas de clones de MRSA, bem como a relação genética das estirpes em diferentes regiões geográficas. O PFGE, além de ser considerado um método "padrão ouro" para análise clonal de MRSA tem sido usado também para a tipagem do SCC_{mec} (LIU et al., 2009; COSTA, 2011).

Costa (2011) realizou várias análises genotípicas para o estudo de amostras de MRSA. A confirmação molecular da resistência à meticilina nas amostras foi realizada por Multiplex-PCR. Duas reações uniplex-PCR, foram feitas para tipagem e subtipagem do cassete *SCCmec*. Os genes que codificam a PVL (*lukS-PV* e *lukF-PV*) foram co-amplificados em uma reação única de PCR. As amostras também foram submetidas à PFGE, para caracterização do perfil do clone circulante. Estas reações permitiram a identificação de variantes do *SCCmec* IV, os subtipos IVa e IVb.

A substituição dos métodos fenotípicos pelos genotípicos confirma a proximidade entre linhagens envolvidas em um surto. Pode-se analisar o DNA cromossomal ou plasmidial através de padrão de digestão de endonuclease de restrição. As enzimas de restrição reconhecem sequências específicas de nucleotídeos no DNA e produzem quebras na dupla fita produzindo pequenos fragmentos. Para a visualização, utiliza-se eletroforese em gel baseada na massa molecular para separar os fragmentos de vários tamanhos (UENO e JORGE, 2002).

A análise do genoma de microrganismos cortado com enzima de restrição (*restriction fragment length polymorphism* - RFLP) é uma ferramenta potencial como método de identificação. A análise de MRSA através de RFLP pela digestão com endonuclease *Sma*I e resolução dos fragmentos em PFGE estima a similaridade entre as linhagens e mostra que as mesmas podem ser divididas em dois grupos: RFLP tipo I e II. Estudos epidemiológicos mostraram que RFLP tipo I era a mais comumente encontrado em unidade de terapia intensiva, enquanto que RFLP tipo II estava mais distribuído pelos setores hospitalares (UENO e JORGE, 2002).

A reação de amplificação aleatória de DNA polimórfico (*Random Amplified Polymorphic DNA* - RAPD) é outra técnica recomendada para a tipagem de patógenos nosocomiais. A diferença em relação a PCR são os segmentos de DNA amplificados de maneira aleatória. Através desta técnica, podem-se determinar as distâncias filogenéticas, a variabilidade genética, demonstrar a inter-relação das amostras bacterianas e esclarecer as vias de transmissão (GOMES, 2012; YINGWANG et al., 2012).

O termo proteômica, foi inicialmente introduzido em 1995 e o seu estudo tem a função de analisar globalmente o conjunto de proteínas expressas numa célula ou tecido, isto é, o proteoma. Devido às alterações do proteoma sob diferentes condições e estímulos, seu estudo representa uma forma de procurar possíveis funções das proteínas e uma forma de investigar processos metabólicos em sistemas vivos para melhor entender o funcionamento de uma célula ou tecido no nível molecular. A proteômica pode gerar informações relevantes como: quais proteínas são expressas; quais os níveis de expressão destas proteínas; qual o momento de expressão das mesmas; modificações pós-traducionais; em diferentes situações ou tratamento, quais são as respostas expressas pelas células, as diferenças moleculares entre linhagens de células e interação gênica (SILVA, CORRÊA e REIS, 2007).

Existem diferentes equipamentos de pesquisa utilizados na análise do proteoma como: *one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis* (1DPAGE), *two-dimensional electrophoresis* (2DE), *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight-Mass Spectrometry* (MALDI-TOF-MS) e *Liquid Chromatography- Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) que permitiram a identificação e quantificação global de interações entre proteína-proteína e proteína-ligante, de nominadas “Interactome”. A sequência do genoma só fornece o modelo de vida, enquanto o proteoma traz essa sequência do genoma para a vida real. Já foram feitas análises utilizando 2DE em combinação com MS para mapear proteínas das estirpes de *S. aureus* resistentes e sensíveis à metilina. A utilização de abordagens proteômicas para estudar *S. aureus* é limitada a estudos metabólicos e identificação de alvos de drogas. Há, ainda, um longo caminho a percorrer para analisar as aplicações proteômicas nesta área, antes de começar a entender a patogênese da infecção e a adaptação de *S. aureus* (HUSSAIN e HUYGENS, 2012).

4.7 TRATAMENTO

4.7.1 Antibioticoterapia e fatores de risco

A conduta terapêutica antimicrobiana vai diferir, de acordo com o local da infecção primária. O controle do foco é pré-requisito para que as defesas do hospedeiro, bem como a antibioticoterapia, tenham sucesso na eliminação do agressor. O uso da antibioticoterapia efetiva é uma tática crucial na terapêutica de infecções graves. Níveis

séricos adequados são necessários para ter efetividade e, sendo assim, evitar concentrações tóxicas do medicamento. Acompanhar a concentração de drogas pode não corresponder à realidade de inúmeras rotinas hospitalares. Com isso, utilizar valores de uréia e creatinina, como possíveis marcadores para ajustar a dosagem de antimicrobianos, é uma estratégia comumente utilizada (SALOMÃO et al., 2011).

Sabe-se que bactérias resistentes a antimicrobianos causam a maioria das mortes relacionadas com infecções nosocomiais. Em 2005, o EARSS, mostrou percentuais de resistência à meticilina que variaram de nenhuma observação na Islândia a 60% dos *Staphylococcus aureus* isolados na Romênia. No mesmo ano, os dados da Rede de Vigilância dos EUA, que é uma rede de vigilância eletrônica que coleta dados de microbiologia de 300 laboratórios de microbiologia clínica através dos EUA, informou que as taxas de MRSA foram de 59%, 55% e 48% para as estirpes provenientes de unidade de terapia intensiva (UTI) de pacientes internados, ambulatoriais, e da UTI, respectivamente. O uso prévio de antimicrobianos é frequentemente descrito como um fator de risco para o isolamento de MRSA. Em um estudo de revisão recente, foi relatada a importância de uma associação dose-efeito, apoiando uma relação causal entre MRSA e utilização de antimicrobianos (TACCONELLI et al., 2008).

Estudos relataram que pacientes com infecções por MRSA tiveram uma internação significativamente mais longa antes do surgimento da infecção e tinham mais probabilidade de terem recebido terapia antimicrobiana para outros fins. O uso de quinolonas foi um fator de risco independente para o desenvolvimento de bacteremia por MRSA. No entanto, vários estudos não conseguiam mostrar uma associação significativa entre o isolamento de MRSA e uso prévio de antimicrobianos (TACCONELLI et al., 2008).

O tratamento com antimicrobianos, se indicado, deve ser orientado pelo perfil de susceptibilidade do organismo. Obtenção de amostras para cultura e teste de susceptibilidade é útil para orientar a terapia, especialmente para aquelas infecções mais graves e aquelas que não respondem adequadamente ao tratamento inicial. Os antimicrobianos orais que são geralmente ativos para as infecções estafilocócicas por CA-MRSA incluem tetraciclina, trimetopim/sulfametoxazol, fluorquinolonas e clindamicina. Para as formas clínicas potencialmente graves, relacionam-se: linezolid, tigeciclina, daptomicina, teicoplanina e vancomicina (CDC, 2010).

Embora as orientações européias e norte-americanas proporcionem um excelente ponto de referência para o tratamento de infecções por MRSA, este deve ser orientado por fatores locais, incluindo as fontes prováveis de infecção e fatores de risco associados com a população ou ambiente do paciente. Estas informações mais os dados epidemiológicos sobre a incidência local de linhagens patogênicas e resistentes são necessários para orientar a escolha (empírica) de antibioticoterapia inicial; o diagnóstico preciso e o perfil de susceptibilidade microbiana facilitam a seleção da antibioticoterapia definitiva. A disponibilidade de recursos, como de antimicrobianos e da análise microbiológica, é também uma consideração importante (LUNA et al., 2010).

Segundo Luna et al (2010), como foi escrito em outros locais neste trabalho, Mupirocina foi originalmente aprovada como um agente tópico utilizado para tratar impetigo causado por *S. aureus* e *S. pyogenes*, mas também é comumente utilizada para tratar infecções de pele e de tecidos moles (IPTM), infecções de feridas pós-operatórias. Este fármaco atua pela inibição de proteínas bacterianas e síntese de ácidos ribonucleicos. Apesar de eficaz contra IPTM leves adquiridas na comunidade, o uso prolongado e intenso de mupirocina (inclusive para fins de descolonização), resultou no surgimento de certas linhagens de MRSA resistentes também a esta droga. Terapias orais vulgarmente utilizados no tratamento de MRSA incluem a tetraciclina e a rifampicina (em terapia de combinação), bem como a clindamicina, linezolida e sulfametoxazol-trimetoprim (TMP-SMX), embora a sua utilização seja limitada, em alguns países. Clindamicina e linezolida estão disponíveis na forma oral, o que permite a utilização destas em pacientes da comunidade.

MRSA são patógenos em potencial para as pneumonias diversas adquiridas dentro de um hospital e em outros serviços de saúde, e a escolha da terapia empírica inicial deve considerá-los como possíveis agentes etiológicos. As pneumonias podem ser classificadas como sendo aquelas adquiridas (HAP; pneumonia ocorrendo ≥ 48 horas após a admissão), associadas à ventilação mecânica (PAV; decorrentes $> 48-72$ horas após a intubação traqueal), e aquelas associadas a serviços de saúde (HCAP, definidas como pneumonias provenientes de pacientes que preencham qualquer das seguintes condições: internado no prazo de 90 dias de infecção; que residem em uma casa de repouso ou de longo prazo de encaminhamento à unidade de cuidados; em

tratamento com antibioticoterapia, quimioterapia, tratamento de feridas; ou atendimento em um hospital ou clínica de hemodiálise) (LUNA et al., 2010).

4.7.2 Utilização de Vacinas

Apesar da resistência crescente de MRSA aos agentes antimicrobianos, a redução da sensibilidade bacteriana à vancomicina e a dificuldade no tratamento de infecções graves por MRSA, mesmo com antimicrobianos adequados, não foi possível, ainda, encontrar uma imunização ativa e passiva e estratégias eficazes contra MRSA e outras infecções estafilocócicas. Vários epítomos de *S. aureus* foram escolhidos como alvos potenciais para a imunização ativa e passiva. A caracterização recente de polissacarídeos capsulares de *S. aureus* tem sido de grande interesse no desenvolvimento de vacinas e estes têm sido utilizados em vacinas piloto, para induzir anticorpos anticapsulares. Os sorotipos 5 e 8 foram escolhidos em função de dados epidemiológicos que mostraram estes fenótipos na maioria dos pacientes infectados, hospitalizados. Porém, o sorotipo 336, não incluído na vacina original, parece ser uma causa crescente de infecções graves por *S. aureus*. Sendo assim, será necessária a inclusão deste sorotipo e de outros numa segunda geração de vacinas (JOHN e SCHREIBER, 2006).

A primeira empresa empregar a vacina na prevenção de infecções por *S. aureus* foi a Nabi, quando, em 2005, foi relatado que o tipo de vacina com os polissacarídeos capsulares tipos 5 e 8 (StaphVAX) não conseguiu reduzir significativamente a bactéria em pacientes com infecções na corrente sanguínea na fase terminal de diálise renal. Em junho de 2011, as empresas Merck e Intercell, seguindo uma recomendação de um conselho independente de monitoramento de dados de segurança, anunciou a rescisão de Fase II/III do desenvolvimento de V710, uma vacina de subunidades contendo um único antígeno IsdB, da superfície celular de *S. aureus* localizada nas proteínas ferro-reguladoras. A decisão foi tomada após uma nova revisão estatística dos dados, sugerindo que V710 não mostrava uma resposta clínica significativa, considerando a mortalidade total e disfunção de múltiplos órgãos, que ocorreu com maior frequência em pessoas vacinadas, em comparação com aqueles que só receberam placebo (LINDSAY, 2007; PATTI, 2011).

Segundo Murray et al. (2007), não existem vacinas licenciadas disponíveis para a prevenção de doenças causadas por estafilococos. Dados sobre a eficácia de vacinação

passiva utilizando imunoglobulina hiperimune antiestafilocócica para a prevenção da doença estafilocócica, se encontram ainda, em desenvolvimento. Medidas de controle de infecção hospitalar são fundamentais para a prevenção de infecções hospitalares. Diretrizes para a prevenção da transmissão nosocomial de MRSA estão disponíveis. As recomendações continuam a incluir o uso de precauções mínimos para pacientes colonizados ou infectados com MRSA mas sugerem, também, que os hospitais implementem um programa de culturas de vigilância ativa para identificar possíveis reservatórios em pacientes com alto risco de MRSA, no momento da admissão hospitalar.

Mais de 90% das amostras de MRSA produzem PBP2 (ou PBP2a), que tem baixa afinidade para antimicrobianos beta-lactâmicos, que é codificada pelo gene *mecA*. A morbidade em infecção por MRSA pode ser dependente do estado de imunidade do hospedeiro, a imunidade humoral, especialmente, que se acredita desempenhar um papel importante contra a infecção por estafilococos. A administração de beta-lactâmicos ou outros antimicrobianos tem resultado no aparecimento de *S. aureus* com resistência a múltiplas drogas. Atualmente, as vacinas de DNA contra várias infecções, tais como a gripe, a tuberculose, a hepatite B, a malária, vírus herpes simplex tipo 214 e HIV15 têm sido estudadas. Em comparação com vacinas contendo antígenos bacterianos ou virais, o mérito de vacinação de DNA é que pode determinar se a proteína codificada pelo transgene induz uma resposta imune sem a necessidade de purificação de proteínas. A hipótese de que a vacinação de DNA com a sequência *mecA* pode provocar imunidade protetora contra a MRSA se deve ao fato de que a sequência de *mecA* é um marcador genético único para MRSA e PBP2 e está localizada na superfície exterior da membrana citoplasmática, onde pode ser facilmente reconhecida pelo sistema imune do hospedeiro (OHWADA et al., 1999; GAUDREAU, LACASSE e TALBOT, 2007).

As manifestações clínicas estafilocócicas multiformes ainda deixam lacunas na compreensão das interações entre o hospedeiro e este versátil patógeno microbiano, dificultando, assim, a fabricação de uma vacina de sucesso. Existem poucas evidências que apoiam a premissa de que a imunidade à infecção por *S. aureus* existe, pelo menos, para o hospedeiro não imunizado. Com o recente aumento de infecções estafilocócicas na comunidade, *S. aureus* é agora comumente isolado de indivíduos sem fatores de risco

predisponentes. Esta bactéria produz uma grande variedade de moléculas com funções redundantes, de tal forma que, se uma é eliminada (ou alvo de uma vacina), outros produtos de estafilococos podem compensar a perda da função. Outros desafios para o desenvolvimento de vacinas incluem as diversas estratégias que *S. aureus* desenvolveu para escapar da imunidade inata humana, bem como a sua capacidade de persistir em biofilmes. Ao contrário dos seres humanos, os modelos animais, como os roedores de laboratório, não têm anticorpos humorais para antígenos de *S. aureus* e isto pode afetar o resultado da infecção e a eficácia da vacina. Os pacientes infectados por *S. aureus* apresentam uma gama muito ampla de doenças, o que significa que a vacina em desenvolvimento deve se concentrar na prevenção de um amplo espectro de apresentações da doença (SCHAFFER e LEE, 2008; PROCTOR, 2012).

4.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Alternativas para a redução de infecção por MRSA incluem o aumento de práticas como precauções de barreira ou isolamento de contato. Dados disponíveis indicam que a infecção por MRSA é um risco grave de saúde para a população dos EUA. Também é provável que a infecção por MRSA seja um problema para a maioria das organizações de saúde em todo o mundo e que a avaliação do risco pode ser feita com o mínimo de tempo e recursos financeiros. A vigilância ativa para este patógeno pode reduzir doença, tanto no nível local quanto no nacional. Argumentos contra tais programas para o controle de MRSA normalmente dependem de métodos estatísticos e os efeitos adversos do isolamento são focados em um único problema, estando estas preocupações em muito pouca evidência. A prevenção e controle adequados de colonização de MRSA e doença permanecem possíveis, permitem a sobrevivência das pessoas, e envolvem questão de custo-benefício (PETERSON, DIEKEMA, 2010).

Vários países desenvolveram diretrizes com o objetivo de evitar a propagação de MRSA. Muitas dessas diretrizes, especialmente em países com uma baixa endemicidade por MRSA, preconizam que o paciente infectado seja identificado rapidamente e que devem ser tomadas medidas de cuidado no isolamento da fonte de infecção (SKYMAN, SJOSTROM e HELLSTROM, 2009).

De acordo com Skyman, Sjostrom e Hellstrom (2009) a definição de isolamento da fonte é que um paciente infectado tem de ser separado dos outros. Pacientes isolados podem correr um grande risco de serem negligenciados quanto a informações sobre seu estado clínico e os devidos tratamentos. O cuidado no isolamento significa menos contato com a equipe médica, mas não significa necessariamente que a qualidade do atendimento deva ser reduzida. A este respeito, há uma falta de estudos sobre experiências emocionais do paciente de ter contraído MRSA. Há uma carência de estudos que discutam as percepções dos pacientes por terem contraído bactérias resistentes e, posteriormente, serem considerados como fontes isoladas. Estes autores fizeram um estudo em um hospital na Suécia, incluindo seis pacientes que contraíram MRSA, que relataram sobre o uso inadequado de métodos de trabalho da equipe de saúde para evitar a transmissão de MRSA. Os pacientes notaram como a equipe passou de paciente para paciente sem a realização da desinfecção das mãos. Estes pacientes sentiram que tiveram menos oportunidade de receber os cuidados, o tratamento e terapia, em comparação com pacientes sem MRSA. Os pacientes afirmaram que se sentiram envergonhados e excluídos diante do fato de que foram isolados por causa da infecção e foram privados de informações sobre o que é ser um portador de MRSA e qual é a relevância dessa infecção no ambiente hospitalar e na comunidade.

Em relação a práticas de programas de descolonização de MRSA, especialmente para os indivíduos voltarem para o ambiente doméstico, permanecem incertas, e não existem regimes comprovadamente eficazes para a descolonização deste microrganismo e pelos demais microrganismos multiresistentes. Têm-se muito pouco a oferecer aos pacientes sobre como colocar e eliminar por definitivo as precauções de contato impostas (SANTOS, MAYO e SIEGEL, 2008).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças emergentes e reemergentes têm sido objeto de investigação e preocupação em todo o mundo. A descoberta dos antimicrobianos, o surgimento das vacinas, o reconhecimento da importância da alimentação e da educação sanitária como promotores de saúde e longevidade humana, assim como os avanços obtidos na microbiologia no tocante às técnicas de isolamento e identificação bacteriana – contribuíram para promover um deslocamento de agentes implicados em infecções no

homem, passando dos microorganismos clássicos de origem exógena para os microorganismos oportunistas, componentes da microbiota normal humana (MOURA et al., 2001).

As infecções hospitalares causadas por MRSA são consideradas um problema de Saúde Pública, pois, uma vez presente em ambiente hospitalar é considerado difícil a sua erradicação. Medidas para controlar a propagação de MRSA se concentraram em tentar quebrar a cadeia de transmissão (por exemplo, o isolamento de pacientes infectados ou colonizados, lavar as mãos, a triagem de pacientes para a descolonização), ou atentar para reduzir a pressão seletiva para a emergência e persistência de MRSA associados com o uso excessivo de antimicrobianos, melhorando a prescrição do antimicrobiano (JOHNSON, 2011).

Apesar de melhorada com a lavagem das mãos, precauções de isolamento e controle do uso de antimicrobianos ainda devem ser seguidos de modo adequado na tentativa de evitar ou eliminar esse microorganismo. O não cumprimento das precauções de isolamento não é a única razão para os resultados decepcionantes obtidos para erradicar esta bactéria, e as causas alternativas precisam ser identificadas. De acordo com estudos prévios, a depuração de MRSA varia de 7 a 12 meses. Readmissão de portadores assintomáticos de MRSA pode, portanto, contribuir substancialmente para o reservatório hospitalar, o que explica a ausência de uma redução na prevalência de HA-MRSA em muitos países (GROHS, 2012).

Infecções nosocomiais por *S. aureus* metilicina resistente (MRSA), representam um desafio aos microbiologistas na atualidade, devido à disseminação de clones bacterianos, com diminuição da sensibilidade frente a várias classes de antimicrobianos (ROBINSON E ENRIGHT, 2004).

Infecções por MRSA originário da comunidade constituem um problema emergente em diversas partes do mundo. Muitos surtos de CA-MRSA têm sido reportados nos Estados Unidos. A população afetada por esses surtos possui fatores de risco para aquisição de MRSA, indicando que o microorganismo está adaptado e transformado em um microorganismo associado à comunidade (KARCHMER, 2006).

O aumento da resistência a antimicrobianos e a propagação de MRSA na comunidade despertou novo interesse na prevenção de infecções estafilocócicas através da imunização. Vacinas promissoras, usando uma variedade de alvos nas bactérias, polissacarídeos capsulares, particularmente ligados quimicamente a moléculas portadoras de proteínas, logo poderão ser úteis como auxiliares na prevenção de infecções por MRSA (HUSSAIN e HUYGENS, 2012).

As informações obtidas nesta revisão de literatura voltada para as infecções ocasionadas por MRSA destacam a relevância do contato direto ou indireto dos profissionais de saúde com pacientes hospitalizados, quando se discute o risco de transmissão desses microrganismos. Assim, fica evidente o risco de estes profissionais estarem potencialmente envolvidos com o aumento da ocorrência de infecções cruzadas, aumentando a disseminação clonal. Uma vez introduzidas em um hospital, torna-se difícil à erradicação das linhagens de MRSA. Diante dessa premissa, ressalta-se a importância de todos os profissionais da saúde e dos demais setores envolvidos, direta ou indiretamente, no controle de bactérias multi-resistentes e, conseqüentemente, das doenças infecciosas. A conscientização e a base científica são o ponto de partida para o planejamento, a implementação e a avaliação das medidas direcionadas a este objetivo. Contudo, sem a opção política dos que detêm o poder, o retorno pelo esforço despendido será sempre aquém do esperado. Cabe à Academia e aos usuários conscientes indicar o caminho e investir nas ações, na medida da competência e da responsabilidade de cada um.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER, A. et al. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Israel: Dissemination of Global Clones and Unique Features. **Journal Of Cli. Micro**, Jerusalem, v. 50, n. 1, p. 134-137, Oct. 2011.

AMABILE-CUEVAS, C. F. Antibiotic Resistance: From Darwin to Lederberg to Keynes. **Microb. Drug Resist.** México, oct. 2012.

ANGELIS, Giulia de et al. Molecular and Epidemiological Evaluation of Strain Replacement in Patients Previously Harboring Gentamicin-Resistant MRSA. **Journal Of Cli. Micro**, Switzerland, v. 49, n. 11, p. 3880-3884, sep. 2011.

ANVISA. Resistência Microbiana – Mecanismos e impacto clínicos, 2007. Disponível em:<http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramp_strepto.htm>. Acesso em 25 jul. 2012.

ANVISA. Resistência Microbiana – Mecanismos e impacto clínicos, 2007. Disponível em:<http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramp_entero.htm>. Acesso em 25 jul. 2012.

ANVISA. Resistência Microbiana – Mecanismos e impacto clínicos, 2007. Disponível em:<http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/image/quadro3.jpg>. Acesso em 25 jul. 2012.

ANVISA. Bacteria *Staphylococcus aureus*, 2007. Disponível em:<http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/image/bacteria_s_aureus.jpg>. Acesso em 26 jul. 2012.

ANVISA. *Staphylococcus aureus*, 2007. Disponível em:<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Servicos+de+Saude/Assunto+de+Interesse/Aulas+Cursos+Cartazes+Publicacoes+e+Seminarios/Controle+de+Infeccao+em+Servicos+de+Saude/Cursos/Curso+de+Capitacao+dos+Laboratorios+de+Microbiologia+dos+Hospitais+Sentinelas+e+Lacen+Identificacao+bioquimica+e+avaliacao+do+perfil+de+resistencia+microbiana>> . Acesso em 26 jul. 2012.

ANDRADE, de Denise; LEOPOLDO, Cristina Vanessa; HAAS, Vanderlei José. Ocorrência de Bactérias Multiresistentes em um Centro de Terapia Intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências. **RBTI**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 1, p. 27-33, dez. 2005.

ARAGÓN, L. M et al. Increase in b-lactam-resistant *Proteus mirabilis* strains due to CTX-M- and CMY-type as well as new VEB- and inhibitor-resistant TEM-type b-lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Barcelona, v. 61, p. 1029–1032, feb. 2008.

ARRUDA, Marcele L. T. et al. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos Minas tipos frescal e padrão comercializados nas feiras-livres de Goiânia-GO. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, Goiânia, v.66, n.3, p. 292-298, nov. 2007.

BAQUERO Fernando; COQUE, M.Teresa, de La CRUZ Fernando. Ecology and evolution as targets: the need for novel Eco-Evo drugs and strategies to fight antibiotic resistance. **Antimicrob. Agents Chemotherapy**. Santander, v. 55, n. 8, p. 3649-3660, may. 2011.

BOWEN, Anna B; BRADEN, Christopher R. Invasive *Enterobacter sakazakii* **Disease in Infants**, Emerging Infectious Diseases, Atlanta, v. 12, n. 8, p. 1185-1189, aug. 2006.

BOUCHER, Helen W.; COREY, Ralph G. Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **CID**, Boston, v. 46, n. 5, p. 344-349, 2008.

BRONNER, Stéphane; MONTEIL, Henri; PREVOST, Gilles. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications **FEMS Microbiol. FEMS Microbiology Reviews**, Strasbourg, v. 28, p. 183 -200, oct. 2003.

CANTANTE, Cátia Sofia de Carvalho. Isolamento e caracterização de uma lisina de um bacteriófago que infecta *Staphylococcus aureus*. Lisboa, 2008. Dissertação (Mestrado em Medicina). Universidade Federal de Lisboa, 2008.

CARVALHANAS, Telma Regina Marques Pinto; BRANDILEONE, Maria Cristina de Cunto; ZANELLA, Rosemeire Cobo. Bacterianas meningite. **Boletim Epidemiológico Paulista**, 2005. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/bol_bepal705.pdf>. Acesso em: 21 set. 2012.

CDC - Center for Disease Control And Prevention (Org.) MRSA Infections. 2010. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mrsa/definition/index.html>>. Acesso em: 19 ago. 2012.

CDC - Center for Disease Control And Prevention (Org.) MRSA <<http://www.cdc.gov/mrsa/treatment/index.html> 2010>. Acesso em: 19 ago. 2012.

CDC - Center for Disease Control And Prevention (Org.) Infecção por MRSA. Imagem Biblioteca de Saúde Pública (PHIL), 2010. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mrsa/mrsa_initiative/skin_infection/mrsa_photo_7824.html>. Acesso em: 20 ago. 2012.

CDC - Center for Disease Control And Prevention (Org.) Sintomas de MRSA. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mrsa/symptoms/>>. Acesso em: 20 ago. 2012.

CHAMBERS, Henry F., DELEO, Frank, R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nat. Rev. Microbiol.**, San Francisco, v. 7, n. 9, p. 629-641, sep. 2009.

CHU, Chishih et al. Genetically divergent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and sec-dependent mastitis of dairy goats in Taiwan. **BMC Veterinary Research**, Taiwan, v. 8, n. 39, p. 8-39, march. 2012.

CIRINO, Pablo Vitoriano; GUIMARAES, Newton Sales e FOLLADOR, Ivonise. Infecção cutânea rara por *Acinetobacter baumannii* em imunocompetente: relato de um caso. **An. Bras. Dermatol.** Salvador, v. 83, n. 4, p. 335-338, aug. 2008.

CLARKE, Simon R.; DYKE, Keith G. H. Studies of the operator region of the *Staphylococcus aureus* β -lactamase operon. **J. Antimicrob. Chemother.**, Oxford, v. 47, p. 377-389, nov. 2001.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Twenty first information supplement. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, Wayne, v. 31, n.1, jan. 2011.

CORREIA, Susana et al. Infecção respiratória por bactérias do complexo *cepacia*: Evolução clínica em doentes com fibrose quística. **Rev. Port. Pneumol.**, Lisboa, vol.14, n.1, p. 5-26, fev. 2008.

COSTA, Thainà Miranda da et al. Características clínicas e Esquema de Tratamento Medicamentoso de Infecções por *Staphylococcus aureus*: uma possível proposta de identificação para o laboratorista e tratamento para o clínico. **Revista Práxis**, Nova Friburgo, v.3, n.5, p. 15-24, jan. 2011.

COSTELLO, M. J. et al. A Census of Marine Biodiversity Knowledge, Resources, and Future Challenges. **Plos One**, United Kingdom, v. 5, n. 8, aug. 2010.

COUTURIER, Marc Roger et al. Shiga-Toxicogenic *Escherichia coli* Detection in Stool Samples Screened for Viral Gastroenteritis in Alberta, Canada. **Journal Of Cli. Micro.**, Canada, v. 49, n. 2, p. 574-578, feb, 2011.

CRISÓSTOMO, M. Inês et al. The evolution of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: similarity of genetic backgrounds in historically early methicillin-susceptible and -resistant isolates and contemporary epidemic clones. **Proc. Natl. Acad. Sci USA**. New York, v.98, n. 17, p.9865-9870, aug. 2001.

DAMASCENO, Quésia Sousa. Características epidemiológicas dos microrganismos resistentes presentes em reservatórios de uma Unidade de Terapia Intensiva. Belo Horizonte, 2010. 104 p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Programa de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem – Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

DAUWALDER, Olivier et al. 2008. Epidemiology of invasive MRSA clones in France in 2006-2007. **Journal Of Cli. Micro.**, Lyon, v. 46, n. 10, p. 3454-3458, jul. 2008.

DAVID, Michael Z; DAUM, Robert S. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. **Clin. Microbiol. Rev.**, Chicago, v. 23, n. 3, p. 616-687, jul. 2010.

- DERESINSKI, Stan. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolution, epidemiologic and therapeutic Odyssey. **Clin. Infect. Dis.**, Redwood, v. 40, p. 562-73, feb. 2005.
- DURAN, Nizami et al. Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in staphylococci. **Indian J. Med. Res.**, 135, March, pp 389-396. 2012.
- EUZÉBY, J. P. LSPN List of prokaryotic names with standing in nomenclature. 2012. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/>>. Acesso em: 22 de out. de 2012.
- FREITAS, M. R. et al. Surto de *Burkholderia cepacia* em pacientes cirúrgicos. **Rev. Para. Med.**, vol.21, n.4, p. 77-77. 2007.
- FREIRE, Renato Antônio Campos; SOUZA, Fabiane Hiratsuka Veiga de. Uso de antimicrobianos na terapia hospitalar no serviço de pediatria do Hospital Dom Orione no período de agosto a outubro de 2008. **Revista Científica do Itpac**, v.2, n. 3. Jul. 2009.
- GARDETE, SUSANA; LENCASTRE, DE HERMINIA; TOMASZ, ALEXANDER. A link in transcription between the native pbpB and the acquired *mecA* gene in a strain of *Staphylococcus aureus*. **Microbiology**, Oeiras, v. 152, p. 2549–2558, apr. 2006.
- GARRITY, G. M. Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology 2nd edition. Springer-Verlag, New York, v. 3: The low G+C Gram Positives. 2006.
- GAUDREAU, M.C; LACASSE, P.; TALBOT, B.G. Protective immune responses to a multi-gene DNA vaccine against *Staphylococcus aureus*. **Vaccine**, Canada, v. 25, n.5, p. 814-824, jan. 2007.
- GELATTI, Luciene Cristina et al. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **An. Bras. Dermatol**, Porto Alegre, v. 84, n. 5, p. 501-506, fev. 2009.
- GEMMELL, Curtis G. et al. Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the UK. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Shrewsbury, v. 57, p. 589–608, fev. 2006.
- GILL, Steven R. et al. Insights on Evolution of Virulence and Resistance from the Complete Genome Analysis of an Early Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strain and a Biofilm-Producing Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis* Strain. **Journal of Bacteriology**, v.187, n. 7, p. 2426–2438, apr. 2005.
- GIVNEY, R. et al. Evolution of an endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* population in an Australian hospital from 1967 to 1996. **Journal Of Cli. Micro.**, Sydney, v. 36, n. 2, p. 552-526, nov. 1998.

GOLDSTEIN, Fred et al. Identification and phenotypic characterization of a beta-lactam-dependent, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. **Antimicrob. Agents Chemother**, Richmond, v. 51, n. 7, p. 2514-2522, jul. 2007.

GOMES, Renata Maria da Fonseca. Aspectos fenotípicos e moleculares da resistência a antimicrobianos e diversidade genética de amostras de *Staphylococcus aureus* recuperadas de hemoculturas em hospitais de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2012. 119 p. **Dissertação Mestrado em Ciências Biológicas: Microbiologia** – Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

GROHS, P. Readmission of known MRSA carriers and MRSA colonization pressure in hospital. **Epidemiol. Infect.**, Paris, p.1-6. Jul, 2012.

GU, Jingmin et al. LysGH15, a Novel Bacteriophage Lysin, Protects a Murine Bacteremia Model Efficiently against Lethal Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. **Journal Of Cli. Micro.**, Changchun , v. 49, n. 1, p. 111–117, jan. 2011.

GUIMARÃES, D. O; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quim. Nova**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 3, 667-679, fev. 2010.

GUGLIELMINI, Julien; CRUZ, Fernando de la; ROCHA, Eduardo P.C. Evolution of Conjugation and Type IV Secretion Systems. **Mol. Biol. Evol.**, p.1-17, oct. 2012.

HACKBARTH, Corinne J.; CHAMBERS, Henry F. blaI and blaR1 Regulate β -Lactamase and PBP 2a Production in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother**. San Francisco, v. 37, n. 5, p. 1144-1149, may.1993.

HAJEK, V., *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. **International Journal of Systematic Bacteriology**, *Czechoslovakia*, v. 26, n. 4, p. 401-408, oct. 1976.

HAWKEY, Peter. M.; JONES, Annie M. The changing epidemiology of resistance. **J. Antimicrob. Chemother**, Edgbaston, v. 64, n. 1, p. i3-i10. 2009.

HUANG, H. et al. Comparisons of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and hospital-associated MRSA infections in Sacramento, California. **Journal Of Cli. Microb**. Sacramento, v.44, n. 7, p.2423-2427, may. 2006.

HUSSAIN, Altaf Malik; HUYGENS, Flavia. Proteomic and Bioinformatics Tools to Understand Virulence Mechanisms in *Staphylococcus aureu*. **Current Proteomics**, Brisbane, v. 9, n. 1, p. 2-8, 2012.

JACOBY, Thalita Silva. Associação entre consumo de antimicrobianos e multiresistência bacteriana em Centro de Terapia Intensiva de Hospital Universitário Brasileiro, 2004-2006. Porto Alegre, 2008. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) -

Programa de Pós-graduação em Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008.

JAWETZ, Ernest et al. *Microbiologia Médica*. 13. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1980.

JOHNSON, Alan P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the European landscape. **J. Antimicrob. Chemother.**, London, v. 66, n. 4, p. 43-48, 2011.

JOHN, C. Chandy; SCHREIBER, R. John. Therapies and Vaccines for Emerging Bacterial Infections: Learning from Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Pediatr. Clin. N. Am.**, Minneapolis, v.53, p. 699–713, 2006.

JORGENSEN, J. H., TURNIDGE, J.D. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In: P. R. Murray (Ed.). **Manual of Clinical Microbiology**, Washington, v.1, p.1108 – 1127, 2003.

JUNIOR, Francisco Canide de Sousa. Caracterização genotípica e fenotípica de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina isolados na cidade do Natal/RN. Natal, 2009. 55 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2009.

KAISER, Thais Dias Lemos et al. Avaliação de métodos comumente usados em laboratórios para a determinação da suscetibilidade à oxacilina entre amostras de *Staphylococcus* sp, isoladas de um hospital de Vitória, Estado do Espírito Santo. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, vol.43, n.3, p. 298-303, jun. 2010.

KAHANOV, Leamor et al. Certified Athletic Trainers' Knowledge of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Common Disinfectants. **Journal of Athletic Training**, Terre Haute, v. 46, n.4, p. 415–423, aug. 2011.

KARCHMER, A. W., From Theory to Practice: Resistance in *Staphylococcus aureus* and New Treatments, **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 12, n. 8, p. 15 – 21, dec. 2006.

KAWAGUCHIYA, Mitsuyo et al. Molecular Characteristics of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Hokkaido, Northern Main Island of Japan: Identification of Sequence Types 6 and 59 Pantone-Valentine Leucocidin-Positive Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Microbial Drug Resistance**, Sapporo, v. 17, n. 2, p. 241-250, 2011.

KIM, Ja-Young et al. Nosocomial outbreak by *Proteus mirabilis* producing extended-spectrum β -lactamase VEB-1 in a Korean university hospital. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Seoul, v. 54, p. 1144–1147, nov. 2004.

KLEVENS R. Monina et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. **JAMA**, Atlanta, v.298, n 15, p. 1763–1771, oct. 2007.

- KOBAYASHI, Scott D.; MUSSER, James M.; DELEO, Frank R. Genomic Analysis of the Emergence of Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Mbio**, Montana, v. 3, n. 4, p. 1-3, jun. 2012.
- KOHANSKI, M.A; DWYER, D.J, COLLINS, JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. **Nat. Rev. Microbiol.**, 8, p. 423–435. 2010.
- LEEUWEN, W. B. van et al. Host- and tissue-specific pathogenic traits of *Staphylococcus aureus*. **J. Bacteriol.**, v.187, p.4584-4891, 2005.
- LIU et al. Molecular Evidence for Spread of Two Major Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clones with a Unique Geographic Distribution in Chinese Hospitals. **Antimicrob. Agentes Chemother**, Beijing, v. 53, n.2, p. 512 – 518, feb. 2009.
- LINDSAY, A. Jodi. Prospect for a MRSA vaccine. **Future microbol.** London, v.2, n.1, p.1-3. 2007.
- LOPES, Helio Vasconcelos. CA-MRSA: um novo problema para o infectologista. **Rev. Panam. Infectol**, v. 7, n. 3, p. 34-36, sep. 2005.
- LOWY, Franklin D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **J Clin. Invest.**, New York, v. 111, n. 9, p.265-1273, may. 2003.
- LUNA et al. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 14, n. 2, p. 119-127, 2010.
- LUZ, Isabelle da Silva. Caracterização molecular das toxinas em *Staphylococcus aureus* isolados de leite e queijo de coalho em municípios da região Agreste de Pernambuco. 2008. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.
- MACHADO, Terezinha Feitosa et al. Interferência autóctones da microbiota do queijo coalho Sobre *Staphylococcus coagulase Positiva* . **Rev. Ciênc. Agron.**, Fortaleza, v.42, n.2, p. 337-341, fev. 2011.
- MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John. M.; PARKER, Jack. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. São Paulo: Artmed, 2004.
- MADIGAN, Michael. T.; MARTINKO, John. M.; PARKER, Jack. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. São Paulo: Artmed, 2010.
- MAGIORAKOS, A.P. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clin. Microbiol. Infect.**, Stockholm, v.18, p.268–281, may. 2011.
- MALHOTRA-KUMAR Surbhi. et al. Current trends in rapid diagnostics for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and glycopeptide-resistant Enterococcus species. **Journal Of Cli. Microb.**, Wilrijk, v. 46, n. 5, p. 1577 – 1587, mar. 2008.

MARTINEU F. et al. Species-Specific and Ubiquitous-DNA-Based Assays for Rapid Identification of *Staphylococcus aureus*. **Journal Of Cli. Micro.**, Québec, v. 36, n. 6, p. 618-623, mar, 1998.

MATHEWS, A. Anila et al. Evaluation and comparison of tests to detect methicillin resistant *S. aureus*. **Indian J Pathol Microbiol.**, Coimbatore, v. 53, n. 1, p. 79-82, jan. 2010.

MATOUSKOVA, Ivanka; JANOUT, Vladimir. Current knowledge of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* and community-associated methicillin-resistant *staphylococcus aureus*. **Biomed Pap Med**, Olomouc, v.152, n. 2, p.191–202, aug. 2008.

MCMANUS, M. Claire. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. **Am. J. Health Syst. Pharm**, Boston, v. 54, p. 1420-1433, jun.1997.

MENDES, João João. Resistência Antibiótica no *Staphylococcus Aureus*; da Investigação Básica à Prática Clínica. **Artigos Originais**, Portugal, p. 11-15. 2010.

MIMICA, M. J, MENDES C. M. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. **J. Pat. Med Lab.**, v. 43. n.6. p.399-406. dez. 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para o controle de infecção hospitalar: **Módulo I/Programa Nacional de Controle de Infecção Hospitalar – Brasília: ANVISA, 2000.**

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Rotina de MRSA e CA-MRSA. **Hospital Federal de Bonsucesso, Comissão de Controle de Infecção Hospitalar.** Rio de Janeiro. 2010.

MOURA, Heveline Becker de et al. Multirresistência em anaeróbios estritos intestinais. **Rev. De Medicina da UFC.** v. 41, nº 1-2, 2001.

MULVEY, M.R. and SIMOR, A.E. Antimicrobial resistance in hospitals: How concerned should we be?. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 180, p.408-415. 2009.

MURCHAN, Sthepen et al. Harmonisation of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. **Journal Of Cli. Micro.**, London, v. 41, n. 4, p. 1574-1585, apr. 2003.

MURRAY, Patrick R. Manual of clinical microbiology. 9. ed Washington, 2007.

NAVES, KARINE SPIRENDELLI CARVALHO. Ocorrência de SSCmec tipo IV de *Staphylococcus aureus* em infecções comunitárias e hospitalares em um hospital universitário de Minas Gerais, 2011. 95p. Tese (Doutorado em Imunologia e Parasitologia) – Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia aplicada, Universidade Federal de Uberlândia. 2011.

NEMEC, A., L. Krizova, M. Maixnerova; M. Musilek. Multidrug-resistant epidemic clones among bloodstream isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in the Czech Republic. **Res. Microbiol.** v. 161, p. 234-242. 2010.

NICOLA, Federico. G. et al, Characterization of Erythromycin-Resistant Isolate of *Staphylococcus aureus* Recovered in the United States from 1958 to 1969. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, Atlanta, v.42, n. 11, p. 3024 – 3027, dez. 1998.

NICOLAU, David P. Current challenges in the management of the infected patient. **Current Opinion in Infectious Diseases**, Hartford, n. 24, v. 1, p. 1–10. 2011.

NOUR, Mohamed; MASTOURI, Maha; NEJMA, Mouna Ben. Le staphylocoque doré résistant à la méticilline: émergence et bases moléculaires de la résistance. **Pathologie Biologie**, Tunisie, v. 53, p. 334-340, sep. 2005.

OHWADA, Akihiko et al. DNA vaccination by *mecA* sequence evokes an antibacterial immune response against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Tokyo, v. 44, p.767–774, 1999.

ORJI I, et al. The prevalence and antimicrobial susceptibility profile of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* isolates from clinical specimens in a tertiary hospital, south east Nigeria. **Continental J. Pharmaceutical Sciences**, Abakaliki, n.6, v. 1, p. 23 - 29, 2012.

OTTER, J. A; FRENCH, G. L. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. **Lancet Infect Dis**, London, v. 10, n. 4, p. 221-239, apr, 2010.

PATTI, Joseph M. Will we ever see the approval of a *Staphylococcus aureus* vaccine? **Expert. Rev. Anti Infect. Ther.** Alpharetta, v. 9, n. 10, p.845–846, 2011.

PEREZ, Leandro Reus Rodrigues; D'AZEVEDO, Pedro Alves. Clonal types and antimicrobial resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitals in south Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, Porto Alegre, vol.50, n.3, p. 135-137, jun. 2008.

PERRY, John D. et al. Development and evaluation of a chromogenic agar medium for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal Of Cli. Micro.**, United Kingdom, v. 42, n. 10, p. 4519–4523, jun. 2004.

PETERSON, Lance R.; DIEKEMA, Daniel J. To Screen or Not To Screen for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Cli. Micro.**, Iowa, v. 48, n. 3, p. 683–689, jan. 2010.

PLATA, Konrad; ROSATO, Adriana E.; WEGRZYN, Grzegorz. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. **Acta Biochimica Polonica**, Richmond, v. 56, n. 4, p.597–612, dez. 2009.

PALOS, Marinésia Aparecida Prado. *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA) em profissionais de saúde e as interfaces com as infecções nosocomiais, 2006. 188p. Tese (Doutorado em Enfermagem enquanto prática social e profissional) – Programa Interunidades de Enfermagem da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 2006.

PRAGMAN, Alexa A; SCHLIEVERT, Patrick M. Virulence regulation in *Staphylococcus aureus* the need for in vivo analysis of virulence factor regulation. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Minneapolis, v. 186, p. 2430-2438, jun. 2004.

PREDRAG, Stojanovic et al. Clinical importance and representation of toxigenic and non-toxicogenic clostridium difficile cultivated from stool samples of hospitalized patients. **Brazilian Journal of Microbiology**, Serbia, p. 215-223, aug. 2012.

PROCTOR, Richard A. Challenges for a Universal *Staphylococcus aureus* Vaccine. **Clinical Infectious Diseases**, Ann Arbor, n. 54, n.8, p. 1179–1186, fev. 2012.

QUEENAN, Anne Marie e BUSH, Karen de. Carbapenemases: the versatile B lactamases. **Clin. Microbiol Ver.**, New Jersey, v. 20, n. 03, p. 440-458, jul. 2007.

RATTI, R.P; SOUSA, C.P. *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. **Ver. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, São Carlos, v. 30, n. 2, p.137-143, ago. 2009.

ROBINSON, D.A; ENRIGHT, M.C. Multilocus sequence typing and the evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Clin. Microbiol. Infect.**, Bath, v. 10, p. 92-97, mar. 2004.

RODRIGUES, Luiza Souza; GIOIA, Thais Sabato Romano Di e ROSSI, Flávia. *Stenotrophomonas maltophilia*: Resistência emergente AO SMX-TMP-em Isolados Brasileiros. Uma realidade? **J. Bras. Patol. Med. Laboratório**, São Paulo, v. 47, n. 5, p. 511-517, out. 2011.

ROGASCH et al. Influence of the Two-Component System *SeaRS* on Global Gene Expression in Two different *Staphylococcus aureus* strains. **Journal of Bacteriology**. Tubingen, 188, n. 22, p.7742-7758, nov. 2006.

ROSA, Alexandre Walter. Caracterização fenotípica e tipagem molecular de mrsa isolados na unidade de terapia intensiva do hospital de clínicas da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009. 85 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) - Programa de Pós-graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Universidade Federal do Paraná, 2009.

SADER, Hélio S. et al. Antimicrobial activity of daptomycin against multidrug-resistant Gram-positive strains collected worldwide. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis**, v.50, n.3, p. 201-204, nov. 2004.

- SALOMAO, Reinaldo et al. Diretrizes para tratamento da sepse grave/choque séptico: abordagem do agente infeccioso - controle do foco infeccioso e tratamento antimicrobiano. **Rev. Bras. Ter. Intensiva**, São Paulo, v.23, n.2, p. 145-157, dez. 2011.
- SANTOS, André Luis dos et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 43 n. 6 p. 413-423, dez. 2007.
- SANTOS, Roberto P.; MAYO, T. W.; SIEGEL, J. D. Active Surveillance Cultures and Contact Precautions for Control of Multidrug-Resistant Organisms: Ethical Considerations. **Clinical Infectious Diseases**, Dallas, v. 47, p. 110–6, may. 2008.
- SANTOS R. P, MAYO T. W, SIEGEL J. D. Active Surveillance Cultures and Contact Precautions for Control of Multidrug-Resistant Organisms: Ethical Considerations. **Clinical Infectious Diseases**, v. 47, n. 1, p.110-116, jul. 2008.
- SCHAFFER, Adam C.; LEE, Jean C. Vaccination and passive immunisation against *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Boston, n. 32, p.71–78. 2008.
- SHANG, Wenchi et al. Effects of Ceftobiprole and Oxacillin on *mecA* Expression in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Raritan, v. 54, n. 2, p. 956–959, nov. 2010.
- SCHITO, G. C., The Importance of the Development of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*, **CMI**, v.12, n.1, p. 3 – 8, 2006.
- SHAHSAVAN S, et al. Molecular analysis and antimicrobial susceptibility of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in one of the hospitals of Tehran University of Medical Sciences: high prevalence of sequence type 239 (ST239) clone. **Acta Microbiol Immunol Hung**, v. 58, n.1, p. 31-39, mar. 2011.
- SILVA, Adriana Moreira da Silva; CORREA, Gustavo Coelho; REIS, Emerson Moreira. Proteômica – Uma abordagem funcional do estudo do genoma. **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v. 2, n.2, p. 1-10, dez. 2007.
- SILVA, Leticia Vale Scribel da. Epidemiologia Clínica e molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina carreadores de cassete cromossômico estafilocócico MEC tipo VI de pacientes atendido em hospital univertário de Porto Alegre, 2009. 68p. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Programa de Pós-Graduação em Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.
- SKYMAN E, SJÖSTRÖM H. T; HELLSTRÖM L. Patients' experiences of being infected with MRSA at a hospital and subsequently source isolated. **Scand. J. Caring Sci** 24, p.101-107, 2010.
- SOULSBY, Ernest Jackson Lawson. Preface. **J. Antimicrob. Chemother**, v. 67, n. 1, p. i1, 2012.

SOUZA, Alinne Guimarães de. Caracterização fenotípica e molecular de amostras de *Staphylococcus* coagulase negativo isoladas de infecções da corrente sanguínea de pacientes de dois hospitais gerais da cidade de São Paulo. São Paulo, 2009. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Infectologia, Universidade Federal de São Paulo, 2009.

SPELLBERG, B. R. et al. The epidemic of antibiotic-resistant infections: A call to action for the medical community from the infectious diseases society of America. **Clin. Infect. Dis.**, v. 46, p.155-164, 2008.

SUPERTI, Silvana Vargas; AUGUSTI, Gustavo ; ZAVASCKI, Alexandre Prehn. Risk factors for and mortality of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* nosocomial bloodstream infections. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, Porto Alegre, vol.51, n.4, pp. 211-216, aug. 2009.

SYDNOR ERM e PERL TM. Hospital Epidemiology and Infection Control in AcuteCare Setting. **Clin. Microbiol. Rev**, p. 141–173, jan. 2011.

TACCONELLI E, ANGELIS G. de, CATALDO MA, POZZI E, CAUDA R. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. **J. Chemother Antimicrob**, Rome, v. 61, p. 26-38, oct. 2008.

TAVARES, Walter. bactérias gram-Positivas Problemas : Resistência fazer estafilococo, não fazer e enterococo antimicrobianos pneumococo EAo. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop** , vol.33, n.3, pp 281-301. 2000.

TENOVER, Fred C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **Am. J. Infect Control**, Atlanta, v. 119, n. 6A, p. S3-S10, mar. 2006.

TOMASZ, A., NACHMAN, S., AND LEAF, H. Stable classes of phenotypic expression in methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. **Antimicrob. Agents Chemother**, New York, v. 35, n. 1, p.124–129, oct. 1991.

TRIJP M. J. van, et al. Genotypes, superantigen gene profiles, and presence of exfoliative toxin genes in clinical methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v.66, p. 222-224, 2010.

TRINDADE, P. A. et al. Molecular Techniques for MRSA Typing: Current Issues and Perspectives. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 32-43, 2003.

UENO, Mariko; JORGE, Antonio Olavo Cardoso. Caracterização de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina, envolvidos em infecções nosocomiais, por meio de técnicas fenotípicas e análise de perfil plasmidial. **Rev. Biocienc**, Taubaté, v. 7, n. 2, p. 15-22, jul. 2001.

UENO, Mariko; JORGE, Antonio Olavo Cardoso. Comparação de Técnicas Moleculares de Análise de DNA Cromossomal de *Staphylococcus aureus* Resistentes à Meticilina. **Rev. Biociênc.**, Taubaté, v.8, n.2, p.43-50, dez. 2002.

UNAKAL, Chandrashekar G. e KALIWAL, Basappa B. Phenotypic Characterization and Risk Factors of Nosocomial *Staphylococcus aureus* from Health Care Centers. **Advances in Microbiology**, Dharwad, v. 2, n. 2, p. 122-128, jun. 2012.

VIVONI, Adriana Marcos e Moreira, MEURER, Beatriz. Aplicação de técnicas moleculares para o estudo de *Staphylococcus aureus* evolução clonal - Uma revisão. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.100, n.7, p. 693-698, 2005.

WISNIEWSKA, K. et al. The use of spa and phage typing for characterization of clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the University Clinical Center in Gdańsk, Poland. **Folia Microbiol.**, Gdańsk, v. 57, n.3, p. 243-9, apr. 2012.

WISPLINGHOFF Hilmar et al. Molecular evolution of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the metropolitan area of Cologne, Germany, from 1984 to 1998. **Journal Of Cli. Micro.**, Cologne, v. 43, n. 11, p. 5445-5451, nov. 2005.

YANG, Fu-Chen et al. Characterization of Ertapenem-Resistant *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese University Hospital. **Journal Of Cli. Micro.**, v. 50, n. 2, p. 223–226. nov. 2011.

YINGWANG, Y., QIHUAN, J., QINGPING, W., JUMEI, Z., JIAFENG, L.; LIN, L. The Characterization and Comparison of *Staphylococcus aureus* by Antibiotic Susceptibility Testing, Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus–Polymerase Chain Reaction, and Random Amplified Polymorphic DNA–Polymerase Chain Reaction. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.9, p. 168-171, 2012.

ZURITA et al. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à metilina na América Latina. **Braz. J. Infect. Dis.**, Quito, v.14, n. 2, p. 97-107, 2010.

XIE, Yanping et al. Rapid identification and classification of *Staphylococcus aureus* by attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of Food Safety**, v. 32, n.2, p. 176-183, apr. 2012.