

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

**ESTUDO COMPARATIVO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE DE AMOSTRAS
DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA ISOLADAS DE
PACIENTES INTERNADOS EM DOIS PERÍODOS DIFERENTES, COM
INTERVALO DE 10 ANOS**

MARCELO COSTA ARAÚJO

UBERABA - MG
AGOSTO/2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARCELO COSTA ARAUJO

**ESTUDO COMPARATIVO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE DE AMOSTRAS
DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA ISOLADAS DE
PACIENTES INTERNADOS EM DOIS PERÍODOS DIFERENTES, COM
INTERVALO DE 10 ANOS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Patologia, área de concentração “Patologia Clínica”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Gonçalves de Oliveira
Co-Orientadora: Profa. Dra. Cristina da Cunha Hueb Barata de Oliveira

UBERABA - MG
AGOSTO/2010

***Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro***

A69e

Araújo, Marcelo Costa

Estudo comparativo do perfil de sensibilidade de amostras de
Staphylococcus aureus resistentes à meticilina isoladas de pacientes
internados, com intervalo de 10 anos / Marcelo Costa Araújo. - - 2010.
62 f. : tab. ; graf. ; fig.

Dissertação (Mestrado em Patologia Clínica) - Universidade Federal do
Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2010.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Adriana Gonçalves de Oliveira.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristina da Cunha Hueb Barata de Oliveira.

1. Staphylococcus aureus. 2. Resistência microbiana a medicamentos. 3.
Staphylococcus aureus resistente à meticilina. 4. Infecção hospitalar. I. Título.
II. Oliveira, Adriana Gonçalves de. III. Oliveira, Cristina da Cunha Hueb
Barata de.

CDU 615.015.8

Dedico este trabalho à minha esposa Fernanda e à minha filha Alissa pela compreensão e paciência pelos momentos ausentes proporcionados pelas pesquisas.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Adriana, minha orientadora, que sofreu muito pela minha falta de experiência em trabalhos científicos. Pelo empenho e paciência em corrigir erros básicos, mas que para mim eram inéditos. Agradeço, ainda, a oportunidade de realizar uma pesquisa científica sob sua orientação.

Ao Prof. André Luiz da Silva Domingues e ao Prof. Anderson Assunção Andrade pelo apoio nas correções e disponibilidade de ajuda durante a realização do trabalho.

À Profa. Dra. Karina Ferrazoli Devienni Vicentine pela sabedoria em criticar e indicar os rumos de um bom trabalho.

Aos colegas do Laboratório da Disciplina de Microbiologia do DCB, em especial, à Maxelle Martins, Natália Conceição e Carolina, pela contribuição, apoio e ajuda em vários momentos da realização do presente trabalho.

Aos funcionários do setor de Microbiologia do SPC/UFTM, principalmente, à Lurdinha, uma colega de trabalho incansável, que sempre primou pela qualidade de todos os exames a ela confiados.

À minha mãe, Regina Coeli, que ainda insiste em rezar por todos seus filhos.

RESUMO

O MRSA tem sido considerado a maior causa de surtos epidêmicos entre pacientes hospitalizados, com altas taxas de mortalidade e morbidade. O seu perfil de sensibilidade aos antimicrobianos vem sofrendo mudanças ao longo dos anos devido à introdução de variedades genéticas comunitárias dentro dos hospitais. A diminuição da sensibilidade à vancomicina, na última década, tem representado um significativo problema clínico, diminuindo ainda mais as opções terapêuticas. O objetivo do presente estudo foi comparar o perfil de sensibilidade de amostras de MRSA isoladas de pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC/UFTM) em dois períodos diferentes com intervalo de 10 anos (1998 e 2008). A resistência à meticilina foi determinada pela detecção do gene *mecA*, por PCR, além dos testes de disco difusão, triagem e diluição em caldo. Esses testes fenotípicos também foram utilizados para a determinação da resistência à vancomicina. O perfil de sensibilidade a outros antimicrobianos não- β -lactâmicos foi realizado somente pelo método de disco difusão. Os resultados mostram um aumento estatisticamente significativo ($p=0,0055$) na prevalência de MRSA, 23,3% (48/206) em 1998 para 37,1% (56/151) em 2008. Todas as amostras de MRSA foram positivas para o gene *mecA* e também mostraram resistência à meticilina pelos testes fenotípicos, não havendo discrepâncias entre os métodos utilizados. Todas as amostras de MRSA foram sensíveis à vancomicina e mostraram uma CIM entre 0,25 e 1,0 $\mu\text{g/mL}$, sendo que a maioria apresentou a CIM de 0,5 $\mu\text{g/mL}$ (87,5%, em 1998 e 73,2 %, em 2008). O número de amostras MRSA sensíveis aos antimicrobianos não- β -lactâmicos isolados em 2008 aumentou principalmente, em relação à sulfametoxazol/trimetoprim, rifampicina e cloranfenicol. Os MRSA de 1998 foram mais freqüentemente isolados de pontas de cateter (43,8%) e os de 2008 da pele e tecidos moles (44,6%). Com relação aos setores de internação de pacientes não houve diferença estatisticamente significativa entre os períodos estudados, sendo que, a maior parte foi isolada da Clínica Médica e Clínica Cirúrgica; no CTI Adulto a prevalência foi de 6,3% (1998) e 10,7% (2008). Assim como em hospitais de várias partes do mundo, a prevalência do MRSA também está aumentando no HC/UFTM, o que pode requerer implantação de medidas de prevenção e controle da sua disseminação. Apesar de todas as amostras apresentarem sensibilidade à vancomicina, de acordo com os critérios de interpretação do CLSI, existe em nosso Hospital uma porcentagem não desprezível de MRSA com CIM de 1,0 $\mu\text{g/mL}$, que está relacionada com falha terapêutica, conforme descrito na literatura.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, MRSA, prevalência, infecção hospitalar, resistência bacteriana.

ABSTRACT

MRSA has been considered the largest cause of epidemic outbreaks among hospitalized patients, with high mortality rates and morbidity. Its sensibility profile to the antimicrobials is suffering changes along the years due to the introduction of community genetic varieties inside from the hospitals. The decrease of the sensibility to the vancomycin, in the last decade, it has been representing a significant clinical problem, still decreasing more the therapeutic options. The objective of the present study was to compare the profile of sensibility of samples of patients' isolated MRSA interned at the Hospital of Clinics of the Federal University of the Triângulo Mineiro (HC/UFTM) in two periods different with 10 year-old interval (1998 and 2008). The methicillin resistance was determined by the detection of the gene *mecA*, by PCR, besides the tests of disk diffusion, screen and dilution in broth. Those phenotypics tests were also used for the determination of the resistance to the vancomycin. The sensibility profile to the other non β - lactam antimicrobials was only accomplished by the method of disk diffusion. The results show an significant statistically increase ($p=0,0055$) in the prevalence of MRSA, 23,3% (48/206) in 1998 for 37,1% (56/151) in 2008. All the samples of MRSA were positive for the gene *mecA* and they also showed resistance to the methicillin for the phenotypics tests, not having discrepancies among the used methods. Were all the samples of MRSA sensitive to the vancomycin and did they show a CIM between 0,25 and 1,0 $\mu\text{g/mL}$, and did most present CIM of 0,5 $\mu\text{g/mL}$ (87,5%, in 1998 and 73,2%, in 2008). The number of samples sensitive MRSA to the non β - lactam antimicrobials did isolated in 2008 increase mainly, in relation to the trimethoprim /sulfamethoxazole, rifampicin and chloramphenicol. MRSA 1998 were more frequently isolated of catheter tips (43,8%) and the one of 2008 of the skin and soft tissues (44,6%). Regarding the sections of patients' internment there was not significant statistically difference among the studied periods, and, most was isolated of the Medical Clinic and Surgical Clinic; in Adult CTI the prevalence was of 6,3% (1998) and 10,7% (2008). as well as in hospitals of several parts of the world, the prevalence of MRSA is also increasing in HC/UFTM, what can request implantation of prevention measures and control of your spread. In spite of all the samples they present sensibility to the vancomycin, in agreement with the criteria of interpretation of CLSI, it exists at our Hospital a percentage non despicable of MRSA with CIM of 1,0 $\mu\text{g/mL}$, that is related with therapeutic failure, as described in the literature.

Word-key: *Staphylococcus aureus*, MRSA, prevalence, nosocomial infection, bacterial resistance.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos	iv
Resumo	v
Abstract.....	vi
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de abreviaturas e siglas	x
1 INTRODUÇÃO	01
1.1 Resistência aos antimicrobianos	01
1.2 Resistência à metilina	02
1.2.1 Métodos de detecção da resistência à metilina.....	03
1.3 Resistência à vancomicina.....	05
1.3.1.Métodos de detecção da resistência à vancomicina	09
1.4 Epidemiologia das infecções	10
2 OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3 JUSTIFICATIVA	15
4 MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1 Obtenção das amostras	16
4.2 Identificação das amostras.....	16
4.2.1 Coloração pelo método de gram.....	17
4.2.2 Teste da catalase	17
4.2.3 Teste da coagulase	17
4.2.4 Fermentação do manitol	18
4.2.5 Teste da DNase.....	18
4.3 Detecção do gene <i>mecA</i>	18
4.3.1 Extração do DNA	19
4.3.2 Reação de amplificação.....	19
4.3.3 Análise do produto da PCR.....	20
4.4 Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos	20
4.5 Teste de triagem em ágar para oxacilina e vancomicina	21
4.6 Diluição em caldo para oxacilina e vancomicina	21
4.7 Obtenção de dados clínicos dos pacientes.....	22
4.8 Amostras de referências	23
4.9 Análise dos dados	23
5. RESULTADOS.....	24
6. DISCUSSÃO	31
7. CONCLUSÕES.....	42
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS.....	53

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Representação ilustrativa do mecanismo de resistência do *Staphylococcus aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina, VISA. (Adaptada de Lowy, 2003)..... 07
- Figura 2. Representação ilustrativa do mecanismo de resistência dos *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina, VRSA (Adaptada de Lowy, 2003)..... 09
- Figura 3. Prevalência de MRSA no HC/UFTM em 1998 e 2008..... 24
- Figura 4. Eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corada com brometo de etídio, mostrando amplificação do gene *mecA* de algumas amostras de MRSA isoladas em 1998 (H15 a H33) e em 2008 (40 a 55) de pacientes internados no HC/UFTM..... 25
- Figura 5. Concentração inibitória mínima para meticilina apresentada pelos MRSA isolados em 1998 e 2008 de pacientes internados no HC/UFTM..... 26
- Figura 6. Concentração inibitória mínima para vancomicina apresentada pelos MRSA isolados de pacientes internados no HC/UFTM, em 1998 e 2008..... 27
- Figura 7. Perfil de sensibilidade dos MRSA isolados de pacientes internados no HC/UFTM em 1998 e 2008..... 28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Habilidade dos vários métodos em detectar níveis de susceptibilidade à vancomicina em <i>S. aureus</i>	10
Tabela 2. Distribuição dos MRSA isolados em 1998 e 2008 de pacientes internados no HC/UFTM de acordo com o material biológico.....	29
Tabela 3. Frequência de MRSA por setor de internação no HC/UFTM em 1998 e 2008.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg/mL – microgramas por mililitro

µL – microlitro

ATCC - American Type Culture Collection

BHI – Infuso de cérebro e coração

CA-MRSA - *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina adquiridos na comunidade

CIM – Concentração inibitória mínima

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

HCl – Ácido clorídrico

h-VISA - *Staphylococcus aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina heterogênea.

MLEE - Multi-Locus Enzyme Electrophoresis

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSSA - Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus*

NNIS – National Nosocomial Infections Surveillance System Report

PBP – Proteínas de ligação à penicilina

PCR - Polymerase Chain Reaction

PVL – Panton Valentine Leucocidine

RLFP - **R**estriction Fragment Length Polymorphism

SSCmec – cassete cromossômico estafilocócico *mec*

TE – Tris EDTA

UFC - Unidades formadoras de colônias

VISA – *Staphylococcus aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina

VRE – Enterococos resistentes à vancomicina

VRSA - *Staphylococcus aureus* com resistência total à vancomicina

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcaceae* e é composto por mais de 37 espécies diferentes, 17 das quais já foram isoladas de amostras biológicas humanas. Apresentam-se sob a forma de cocos isolados ou agrupados, coram-se em violeta pelo método de coloração de Gram e medem cerca de 0,5 a 1,5 μm . O *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), considerado o principal patógeno desse gênero, é imóvel, não esporulado e anaeróbio facultativo. As colônias em meio sólido são usualmente lisas e convexas, podendo apresentar pigmentação amarela, ou amarelo-alaranjado, que se torna pronunciada após incubação à temperatura ambiente. Além disso, algumas amostras podem provocar β -hemólise em ágar sangue após incubação a 35°C em atmosfera ambiente (KLOSS & BANNERMAN, 1999).

Os *S. aureus* fazem parte da microbiota residente ou transitória de seres humanos, principalmente da pele e mucosa das fossas nasais, orofaringe e intestino (BHATIA e ZAHOOOR, 2007). São considerados patógenos humanos e freqüentemente estão associados a infecções, podendo causar infecções de pele e tecidos moles, pneumonias, bacteremias, endocardites, meningites e abscessos (KONEMAN et al., 2001).

1.1 RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

A resistência do *S. aureus* aos antimicrobianos foi descrita inicialmente em 1942, pouco tempo após a introdução da penicilina na prática médica, devido à aquisição de genes que codificam a produção de enzimas (penicilinasas ou beta-lactamases) que inativam o anel beta-lactâmico (RICE, 2006). A limitação do seu uso iniciou-se a partir de 1944 devido ao aumento dessa resistência. Na década de 50, a resistência às penicilinas tornou-se um problema endêmico nos hospitais do mundo inteiro, e hoje, a maior parte das cepas de *S.*

aureus é resistente às penicilinas naturais, aminopenicilinas e penicilinas/inibidores de beta-lactâmicos (RICE, 2006).

1.2 RESISTÊNCIA À METICILINA

Na Europa 1959, e nos Estados Unidos, em 1961, foi lançada uma penicilina estável, resistente à hidrólise pelas penicilinasas, a meticilina. No entanto, apenas um ano mais tarde foi descrito o primeiro caso de resistência à meticilina no Reino Unido, dispersando-se pela Europa e outros países, surgindo, então, o *S. aureus* resistente à meticilina – MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) (RICE, 2006).

A meticilina e oxacilina exercem sua atividade antibacteriana ligando-se a proteínas que participam da síntese da parede celular, denominadas PBP (*Penicillin Binding Protein*). Com a aquisição do gene *mecA*, o MRSA produz a PBP2a (uma PBP alterada) que participa normalmente da formação da parede celular, porém, tem baixa afinidade pelos beta-lactâmicos. Com isso, esses antimicrobianos não se ligam à PBP2a e, portanto, não impedem a formação da parede, conferindo resistência à meticilina e a todos os beta-lactâmicos (UTSUI & YOKOTA, 1985).

O gene *mecA* é carregado em um elemento genético móvel denominado cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec* – *staphylococcal cassette chromosome*) (UTSUI & YOKOTA, 1985), e pode também conter estruturas como o transposon Tn554, pUB110, e pT181 os quais codificam resistência a antimicrobianos não beta-lactâmicos (ITO & HIRAMATSU, 1998).

Os MRSA de origem hospitalar geralmente carregam os SCC*mec* tipo I, II e III, também apresentando resistência a outras classes de drogas utilizadas no tratamento de infecções estafilocócicas, como a clindamicina, eritromicina, tetraciclina, gentamicina e

sulfametoxazol-trimetoprim. Com isso a terapia utilizada em infecções por MRSA se restringe aos glicopeptídeos, vancomicina e teicoplanina (CHAMBERS, 1997).

A expressão da resistência à meticilina pode ser heterogênea, em que apenas algumas bactérias de uma população de *S. aureus* são resistentes. Esse fenômeno pode prejudicar a interpretação dos testes de sensibilidade se as condições para sua realização não estiverem padronizadas (DERESINSKI, 2009).

Duas hipóteses têm sido levantadas para explicar a origem evolucionária das amostras de MRSA. A hipótese do clone simples, baseada na análise inicial dos polimorfismos dos fragmentos de restrição (RLFP - *Restriction Fragment Length Polymorphism*) do DNA de isolados MRSA coletados no mundo inteiro usando sondas para *mecA* e Tn554 (confere resistência aos macrolídeos), sugere que o gene *mecA* entrou em uma população de *S. aureus* em determinada ocasião e resultou na formação de um clone simples de MRSA que desde então, se disseminou pelo mundo (KREISWIRTH et al., 1993, ITO & HIRAMATSU, 1998).

A segunda hipótese, baseada na detecção do gene *mecA* em diversos tipos de eletroforese enzimática multilocus (MLEE - *Multi-Locus Enzyme Electrophoresis*), propõe que amostras de MRSA evoluíram com o tempo por meio da transferência horizontal do gene de amostras precursoras de MSSA (*Methicillin-Sensitive Staphylococcus aureus*) filogeneticamente distintas (MUSSER & KAPUR, 1992).

1.2.1 MÉTODOS DE DETECÇÃO DA RESISTÊNCIA À METICILINA

Os exames laboratoriais mais acurados para predizer a resistência à meticilina em *S. aureus* são os testes de detecção do gene *mecA* por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) ou da proteína expressada, a PBP2a (aglutinação em látex) (CLSI, 2009).

A detecção do gene *mecA*, por PCR, é considerada padrão ouro para avaliação da resistência à meticilina e todos os *S. aureus* positivos para o teste devem ser relatados como resistentes à meticilina (CHAMBERS, 1997). Porém, amostras *mecA* negativos devem ser relatadas como sensíveis somente se a CIM (concentração inibitória mínima) usando o sal de oxacilina for $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ devido à ocorrência de outros mecanismos de resistência, como superprodução de beta-lactamases e presença de PBPs modificadas, além daquela mediada pelo *mecA*. Portanto, isolados *mecA* negativos, mas com CIM $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ devem ser relatados como resistentes (CHAMBERS, 1997; CLSI, 2009c; MIMICA e MENDES, 2007).

Dentre os testes fenotípicos que podem ser utilizados para detectar a resistência à meticilina mediada pelo gene *mecA* em estafilococos, estão a disco difusão, ágar triagem com oxacilina e os testes para determinação da CIM (CLSI, 2009b).

O método de disco difusão é o mais amplamente utilizado e a resistência à meticilina vem sendo avaliada usando-se o disco de oxacilina 1 μg . Porém, nos últimos anos alguns autores demonstraram a boa acurácia do teste utilizando o disco de cefoxitina 30 μg para prever a sensibilidade à meticilina em estafilococos. Os testes teriam a mesma acurácia que os testes com disco de oxacilina 1 μg , com a vantagem de a leitura ser mais fácil devido ao maior halo e a possibilidade de realizado com luz refletida e não transmitida, como na técnica com disco de oxacilina 1 μg (MIMICA e MENDES, 2007; FERNANDES, FERNANDES e COLLIGNON, 2005; SWENSON e TENOVER, 2005).

Com isso, o CLSI (2006) introduziu, em 2005, os pontos de corte para cefoxitina 30 μg para estafilococos, sendo que, para o *S. aureus* o método que utiliza esse disco é preferido por ser melhor preditor, *in vitro*, da presença do gene *mecA* do que o método utilizando o disco de oxacilina 1 μg . Mais tarde, com a constatação de alguns autores de que era preciso mudar os pontos de corte para aumentar a sensibilidade do método, o CLSI mudou os pontos de corte para o teste com disco de cefoxitina 30 μg (MIMICA e MENDES, 2007).

Os pontos de corte atuais para prever sensibilidade dos *S. aureus* à meticilina utilizando os discos de cefoxitina 30µg são: halos ≤ 21 mm são considerados resistentes e ≥ 22 mm são sensíveis (CLSI, 2009c).

Outro teste que pode ser utilizado para detecção da resistência à meticilina com acurácia é o teste de triagem com oxacilina, em uma placa de Petri contendo ágar Müeller-Hinton suplementado com 4% de NaCl e 6 µg de oxacilina/mL. Após a semeadura de uma suspensão bacteriana com incubação a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, é verificada a presença de colônias na superfície do meio indicando resistência à meticilina (CLSI, 2006).

Dentre os testes para a determinação da CIM para estafilococos estão o teste de diluição em ágar e a diluição em caldo (macro e microdiluição). Ambos determinam quantitativamente a resistência à meticilina e em muitos estudos são considerados métodos padrão (MIMICA et al., 2007; SWENSON et al., 2001).

1.3 RESISTÊNCIA À VANCOMICINA

A vancomicina foi introduzida na prática clínica em 1958 para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas. Seu uso tem aumentado dramaticamente nos últimos 20 anos, em grande parte devido ao aumento da prevalência do MRSA e tem sido utilizada como droga de escolha para o tratamento de infecções causadas por esse patógeno. A emergência da diminuição da sensibilidade à vancomicina representa um significativo problema clínico, pois, diminui ainda mais as opções terapêuticas (BHATEJA et al., 2006).

A vancomicina é um glicopeptídeo que atua sobre a parede celular, reconhecendo e ligando-se à terminação D-alanil-D-alanina do pentapeptídeo inibindo sua incorporação no peptideoglicano crescente da parede celular (LOWY, 2003).

A resistência à vancomicina em *S. aureus* foi descrita, inicialmente, em 1996 com o surgimento de uma amostra de *S. aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina (VISA), isolada de um paciente hospitalizado no Japão (HIRAMATSU et al., 1997a). Nos Estados Unidos, os primeiros casos foram relatados entre 1997 e 1999 (SMITH et al., 1999; SIERADZKI et al., 1999).

O VISA apresenta a parede celular espessada e uma diminuição das ligações cruzadas das camadas do peptidoglicano levando à exposição de maior quantidade de resíduos de D-ala-D-ala (HANAKI et al., 1998). Assim, a vancomicina se liga nestes resíduos impedindo que outras moléculas da droga alcancem seus alvos. Todavia, o mecanismo genético que leva a esse espessamento da parede ainda não está claro (Figura 1).

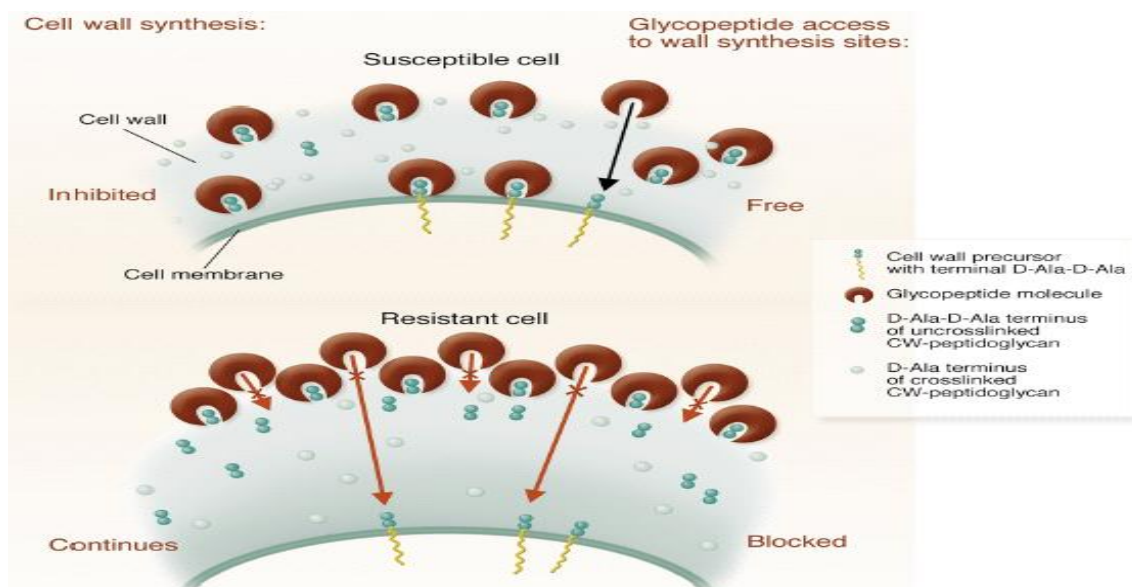


Figura 1. Representação ilustrativa do mecanismo de resistência do *Staphylococcus aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina, VISA. (Adaptada de Lowy, 2003).

No Brasil, o primeiro relato de VISA foi reportado em um estudo realizado com 140 amostras de MRSA, isoladas de pacientes expostos à vancomicina entre 1998 e 1999, das quais 5 apresentaram CIM para vancomicina de 8 µg/mL (OLIVEIRA et al., 1999).

1 A emergência do VISA está relacionada à extensa exposição à vancomicina por um
2 período de tratamento de 25 dias até 18 semanas (CDC, 2000). Frequentemente são pacientes
3 submetidos à diálise em tratamento de infecções causadas por MRSA (SIERADZKI et al.,
4 1999).

5 As infecções por VISA não são muito comuns, entretanto, o fenômeno da
6 heterorresistência (h-VISA) tem sido descrito frequentemente na literatura, embora o melhor
7 método para detectar essas amostras e seu significado clínico é definido pelo quadro clínico
8 do paciente (LIU e CHAMBERS, 2003). Dados sobre a presença de infecção e o uso prévio
9 de vancomicina também são importantes para suspeitar da presença de VISA.

10 Hiramatsu e colaboradores (1997b) foram os primeiros a reportar as subpopulações
11 heterorresistentes de VISA (h-VISA), pouco tempo após a descrição inicial de amostras com
12 resistência intermediária à vancomicina. A amostra Mu3 (primeiro h-VISA reportado) foi
13 isolada, em 1996 no Japão, de um homem de 64 anos com pneumonia por MRSA que não
14 respondia à terapia com vancomicina.

15 O h-VISA parece ser o estágio que precede o desenvolvimento de resistência
16 intermediária em *S. aureus*. Estas amostras contêm sub-populações de células-filhas VISA e a
17 CIM dessas amostras progenitoras está dentro da faixa sensível. A vancomicina cria uma
18 pressão seletiva que favorece o crescimento dos poucos clones resistentes a clones h-VISA, e,
19 com a exposição continuada, eventualmente haverá o aparecimento de uma população
20 uniforme de clones VISA. Entretanto, metodologias para identificação de h-VISA não estão
21 padronizadas, complicando qualquer determinação de seu papel e significância clínica na
22 falha terapêutica (LIU & CHAMBERS, 2003) .

23 A resistência total à vancomicina em *S. aureus* (VRSA) foi primeiramente reportada
24 em 2002, quando foi isolado de uma paciente diabética, com insuficiência renal crônica, que
25 estava sob diálise. Ela havia sido tratada para úlceras crônicas de pé com vários cursos de

terapia, inclusive com vancomicina. Após uma cirurgia de amputação do dedo do pé devido à gangrena, desenvolveu bacteremia por *S. aureus* e foi novamente tratada com um esquema que envolvia também o uso de vancomicina. Após dois meses, a paciente desenvolveu uma infecção na inserção do cateter de diálise, o qual foi retirado e submetido à cultura. Foi isolada uma amostra de MRSA (CIM >16 µg/mL para oxacilina) apresentando CIM para vancomicina > 128 µg/mL (CDC, 2002).

A resistência à vancomicina apresentada pelo VRSA, com CIM ≥ 128 µg/mL, é causada por alteração no peptídeo terminal para D-ala-D-lac no lugar de D-ala-D-ala, impedindo que a vancomicina se ligue ao sítio alvo, como representado na Figura 2 (LOWY, 2003).

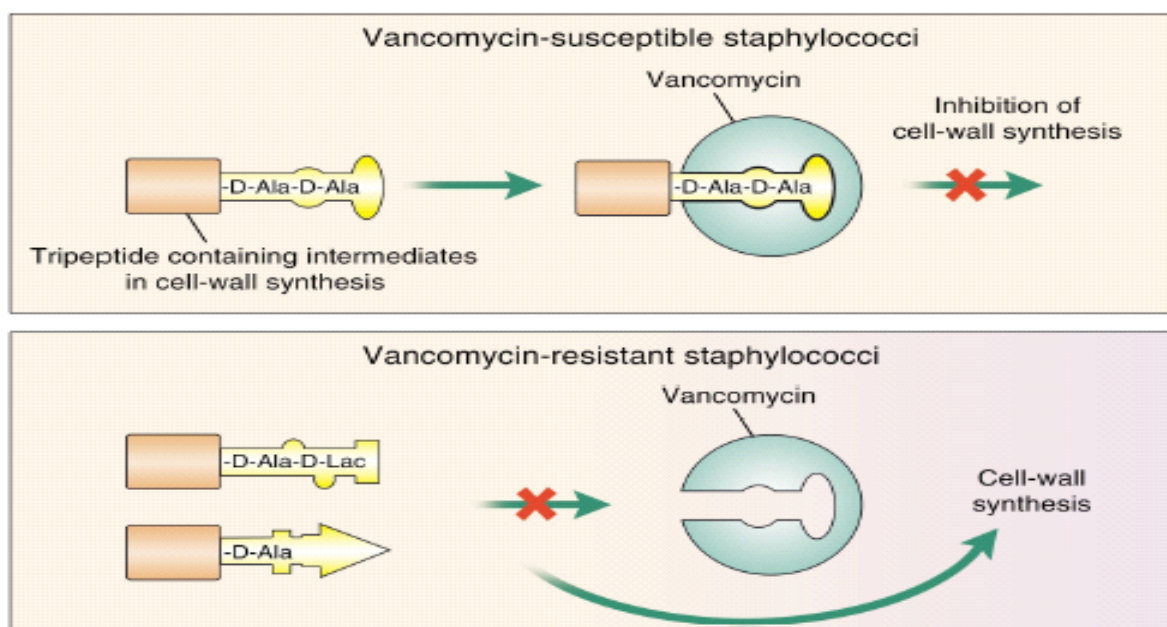


Figura 2. Representação ilustrativa do mecanismo de resistência do *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina, VRSA (Adaptada de Lowy, 2003).

Estas alterações são resultado da transferência, por conjugação, de transposons contendo o gene *vanA* de amostras de *Enterococcus faecalis* resistentes à vancomicina (VRE - *Vancomycin-Resistant Enterococcus*) para os estafilococos (NOBLE et al., 1992).

1.3.1 MÉTODOS DE DETECÇÃO DA RESISTÊNCIA À VANCOMICINA

Em 2006, o CLSI modificou os critérios interpretativos para detecção da resistência à vancomicina para o *S. aureus* diminuindo a CIM para ≤ 2 µg/ml para as amostras consideradas sensíveis, 4 a 8 µg/ml para intermediário e ≥ 32 µg/ml para resistentes.

S. aureus com CIM para vancomicina ≥ 32 µg/ml podem ser detectados por disco difusão, por triagem em ágar ou por diluição em caldo. Para detectar as amostras para as quais a CIM está entre 4 e 16 µg/ml, deve-se realizar a diluição em caldo com incubação por 24 horas completas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Amostras com CIM ≤ 32 µg/ml não são detectáveis pela disco difusão, mesmo após 24 horas de incubação. O teste de triagem em ágar pode ser usado para detectar isolados de *S. aureus* com CIM ≥ 8 µg/ml para vancomicina, entretanto, esse meio não é consistente para detectar *S. aureus* com CIM de 4 µg/ml (CLSI, 2009). A Tabela 1 mostra os métodos de detecção da sensibilidade à vancomicina.

Tabela 1. Habilidade dos vários métodos em detectar níveis de sensibilidade à vancomicina em *S. aureus*.

CIM vancomicina	Diluição em caldo	Disco difusão	Triagem em ágar
≤ 2 µg/ml (S)	SIM	NÃO	SIM
4 µg/ml (I)	SIM	NÃO	VARIÁVEL
8 µg/ml (I)	SIM	NÃO	SIM
16 µg/ml (R)	SIM	NÃO	SIM
≥ 32 µg/ml (R)	SIM	SIM	SIM

Adaptado do CLSI (2009).

1.4 EPIDEMIOLOGIA DAS INFECÇÕES

O *S. aureus* representa um grande desafio dentro de um ambiente hospitalar em vários países devido ao aparecimento e expansão de amostras com sensibilidade diminuída a várias classes de antimicrobianos, como a meticilina e os outros beta-lactâmicos (GOMES, WESTH & DE LENCASTRE, 2006).

Um trabalho realizado, entre 2001 e 2003, sobre atendimentos hospitalares com suspeitas de infecção de pele e tecidos moles causadas por *S. aureus*, mostrou que, no período do estudo, 12 milhões de pacientes ambulatoriais consultaram um médico devido a suspeita de infecção estafilocócica (MCCAIG, 2006).

Moran e colaboradores (2006) publicaram um estudo em que aproximadamente 76 % dos casos de infecções purulentas de pele e tecidos moles atendidos em 11 setores de emergência, nos Estados Unidos, foram causadas por *S. aureus*.

Em 1997, foi iniciado um programa de vigilância epidemiológica (Programa SENTRY) em que foram coletados isolados bacterianos de infecções clinicamente documentadas em mais de 80 centros médicos de todo o mundo, sendo 10 localizados na América Latina. A prevalência encontrada do *S. aureus* em hospitais brasileiros foi de 22,8% (SADER, 2001a).

Após o surgimento do MRSA, no início da década de 60, surtos esporádicos de infecções hospitalares começaram a surgir em várias partes do mundo (CASEWELL, 1986; JEPSEN, 1986). Esses surtos foram observados, principalmente na década de 70, e estavam associados ao aumento do uso da meticilina nas unidades de terapia intensiva.

Todavia, a partir dos anos 80, o MRSA passa realmente a representar um problema significativo, primeiro em hospitais de cuidados terciários e depois em unidades ambulatoriais (RICE, 2006; MULLIGAN, MURRAY-LEISURE e RIBNER, 1994). As cepas hospitalares apresentam tendência a serem mais resistentes à maioria das drogas antimicrobianas

disponíveis, o que torna difícil o tratamento e agrava os processos infecciosos (MASSEY et al., 2006).

Dados do *National Nosocomial Infections Surveillance System Report* (NNIS, 2004) mostram que em todo território americano a prevalência de MRSA é de 59,5 %.

No Brasil, o MRSA também tem se tornado endêmico nas últimas décadas, apresentando uma prevalência que varia de 32 a 72 %, de acordo com a complexidade e o tamanho do hospital (BERETA et al., 2004; GALES et al., 2004).

A mortalidade entre pacientes com bacteremia por MRSA é significativamente maior do que por *S. aureus* sensíveis à meticilina (MSSA). Em um estudo coorte retrospectivo realizado entre 1995 e 2003, 44% dos pacientes estudados tiveram bacteremia por MRSA e, desses, 23% morreram por causas atribuídas à infecção, independentemente da severidade da doença de base (SHURLAN et al., 2007). O tempo de internação e duração do tratamento de pacientes com bacteremia por MRSA são maiores quando comparados com MSSA (COSGROVE, 2005).

O custo do tratamento de infecções causadas por MRSA tem sido mostrado, por vários autores, ser maior que aquele causado por MSSA e pode chegar a uma diferença entre 6% a 10% (RUBIN et al., 1999). Esse aumento é devido ao uso de vancomicina, que é mais oneroso em relação ao tratamento com oxacilina, usada no tratamento de MSSA e também a procedimentos de isolamento dos pacientes.

As infecções causadas pelo MRSA eram restritas a hospitais até o início da década de 90, quando começaram a surgir relatos de infecções causadas por MRSA adquiridos na comunidade, o CA-MRSA (RICE, 2006).

Diferentemente dos MRSA hospitalares, os CA-MRSA (*Community-Acquired Methycillin-Resistant Staphylococcus aureus*) carregam preferencialmente o SCCmec do tipo IV. Este tipo de cassete cromossômico é menor que os outros e não possui genes acoplados de

1 resistência a outros antimicrobianos. Assim, de forma geral, o CA-MRSA é susceptível à
2 maioria dos antimicrobianos não beta-lactâmicos (DAUM et al., 2002).

3 Uma alta porcentagem das amostras de CA-MRSA possui a toxina *Panton Valentine*
4 *Leucocidin* - PVL, cujos genes são carregados por um bacteriófago. Esta toxina é codificada
5 por dois genes: *lukS-PV* e *lukF-PV* e é capaz de destruir leucócitos humanos e causar dano
6 tecidual grave, estando relacionada com pneumonia necrotizante severa (PALAVECINO,
7 2004).

8 A severidade das infecções causadas pelo CA-MRSA foi primeiramente relatada no
9 final dos anos 90, quando 4 crianças infectadas morreram apresentando pneumonia
10 necrotizante e sepse (CDC, 1999).

11 As infecções pelo CA-MRSA são comumente observadas em crianças e jovens,
12 embora adultos também possam ser afetados. Surto de infecções em institutos prisionais e
13 entre atletas também já foram relatados (LINDENMAYER et al., 1998; CDC, 2003).

14 Infecções de pele e tecidos moles são as manifestações mais comuns causadas pelo
15 CA-MRSA, e a furunculose, a mais frequentemente reportada (ZETOLA et al., 2005). Lina e
16 colaboradores (1999) investigaram amostras de MRSA isolados de pacientes com infecções
17 associadas a *S. aureus* e identificaram a PVL em 93% dos casos de furunculose e 85% dos
18 casos de pneumonia hemorrágica necrotizante adquirida na comunidade.

19 Em outro estudo, Francis e colaboradores (2005) descreveram 4 casos de pacientes
20 adultos saudáveis que desenvolveram severa pneumonia necrotizante causada por MRSA que
21 carregavam genes da PVL. Um dos pacientes morreu após dois dias, enquanto os outros 3 que
22 sobreviveram, permaneceram hospitalizados por um longo período com importante
23 morbidade devido à infecção.

24 No Brasil, os poucos relatos sobre o CA-MRSA vem do sul do país, talvez pela
25 proximidade com o Uruguai, onde houve relatos de vários casos (LOPES, 2005).

1 A prevalência de MRSA vem aumentando em várias partes do mundo, aumentando a
2 morbidade e mortalidade e também os custos associados ao tratamento.

3 Conhecer a epidemiologia e o perfil de sensibilidade do MRSA de determinada
4 comunidade contribui para que medidas de prevenção e controle da disseminação desse
5 patógeno estejam sendo utilizadas e sempre atualizadas.

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar o perfil de sensibilidade de amostras de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina isoladas de paciente internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC/UFTM) em dois períodos diferentes, com intervalo de 10 anos (1998 e 2008).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Detectar a resistência à meticilina em amostras de *S. aureus* por testes fenotípicos e PCR;
2. Determinar e comparar o perfil de sensibilidade das amostras de MRSA aos demais antimicrobianos de uso corrente;
3. Determinar e comparar a prevalência de MRSA de acordo com o sítio de infecção e os setores de internação dos pacientes no HC/UFTM, em cada período;
4. Pesquisar a resistência à vancomicina das amostras de MRSA por disco difusão, triagem em ágar e diluição em caldo.

3. JUSTIFICATIVA

O *S. aureus* é um versátil patógeno de seres humanos que apresenta uma ampla variedade de fatores de virulência e tem desenvolvido resistência a várias classes de antimicrobianos nas últimas décadas.

Os métodos para detecção fenotípica da resistência à metilina ainda não são consenso entre os pesquisadores e as atualizações do CLSI tornam-se importantes ferramentas para uma acurada detecção dessa resistência.

O MRSA tem evoluído para a resistência à vancomicina, considerada a mais importante opção terapêutica utilizada no tratamento de infecções causadas por este agente. Entretanto, a detecção dessa resistência é realizada pela técnica de disco difusão pela grande maioria dos laboratórios de microbiologia clínica, e não é mais recomendada, pois, não diferencia o *S. aureus* sensível à vancomicina daquele com sensibilidade intermediária (CLSI, 2009).

Pelo exposto, consideramos que a determinação da prevalência de MRSA, no ambiente hospitalar, é um procedimento importante para a implantação e manutenção de um programa de controle e prevenção da disseminação desse patógeno multirresistente. Além disso, devido à variação regional, a terapia empírica deve ser guiada pelo perfil de sensibilidade local, utilizando os diversos métodos recomendados pelo CLSI.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório da Disciplina de Microbiologia do Departamento de Ciências Biológicas (DCB) da UFTM após ter sido obtido parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM (Anexo 1).

4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

O presente estudo foi realizado com amostras de *S. aureus* isoladas no setor de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica (SPC), de pacientes internados no HC/UFTM, durante os anos de 1998 e 2008. Apenas uma amostra de *S. aureus* por paciente foi incluída no presente estudo.

O HC/UFTM é um hospital terciário de ensino e possui 294 leitos distribuídos em várias especialidades médicas e três unidades de terapia intensiva. Durante o ano de 1998 foram internados 13.430 pacientes e em 2008, 11.578 pacientes foram admitidos.

As amostras de 1998 foram obtidas durante a execução de outro projeto de pesquisa e encontravam-se congeladas em caldo BHI com 30% de glicerol, em freezer à -20°C (OLIVEIRA et al., 1999).

As amostras isoladas em 2008 foram congeladas e estocadas em microtubos contendo caldo BHI com 30% de glicerol, à medida que eram obtidas.

4.2 IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A confirmação da identificação das amostras de *S. aureus* foi realizada no Laboratório da Disciplina de Microbiologia/DCB pelos seguintes testes fenotípicos: coloração

de Gram, teste da catalase, prova da coagulase livre, fermentação do manitol e teste da DNase (KONEMAN et al., 2001).

Após o descongelamento, as amostras foram repicadas para o ágar BHI e incubadas por 24 horas a 35°C. Com as colônias isoladas foram feitos os testes de identificação, PCR para detecção do gene *mecA*, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e os testes de detecção fenotípica da resistência à metilina e vancomicina.

4.2.1 COLORAÇÃO PELO MÉTODO DE GRAM

A partir de uma colônia isolada foram feitos esfregaços em lâminas, os quais, depois de fixados, foram cobertos com cristal violeta por 1 minuto. Após lavagem em água corrente foi adicionado lugol durante 1 minuto, e novamente, lavadas. Após serem descoradas com uma solução de álcool/acetona (v/v) foi adicionada a solução de fucsina, que depois de um minuto, foi retirada por lavagem em água corrente. Após secagem, as lâminas foram observadas ao microscópio em aumento de 1000x.

4.2.2 TESTE DA CATALASE

As amostras apresentadas como cocos Gram-positivos foram submetidas ao teste da catalase. Em um tubo de ensaio estéril contendo peróxido de hidrogênio a 10% foi introduzida uma porção da colônia isolada. As bolhas de ar desprendidas mostraram uma reação positiva, caracterizando o gênero *Staphylococcus*.

4.2.3 TESTE DA COAGULASE

Esta prova tem a finalidade de demonstrar se o *Staphylococcus* produz a enzima coagulase e foi realizada introduzindo duas a três colônias em um tubo de ensaio estéril contendo 0,5 mL de caldo BHI adicionado de 0,5 mL de plasma. Após incubação a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, foi verificada, de hora em hora até 4 horas, a presença de coágulo, indicando, presuntivamente, que os microrganismos pertenciam à espécie *S. aureus*.

4.2.4 FERMENTAÇÃO DO MANITOL

O ágar manitol é um meio seletivo e diferencial que contém alto teor de cloreto de sódio (7,5%) inibindo o desenvolvimento de outras bactérias Gram-positivas e, também, as Gram-negativas. Uma colônia isolada foi semeada na superfície do meio e a placa incubada por 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. O crescimento de colônias amarelas indica, de forma presuntiva, a identificação de *S. aureus*, lembrando que algumas cepas fermentam o carboidrato somente após 48 horas.

4.2.5 TESTE DA DNase

O teste da DNase foi realizado repicando uma colônia bacteriana em placa de Petri contendo ágar DNase. Após incubação de 24 horas, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, a revelação do teste foi realizada adicionando-se HCl (0,1N) sobre o meio de cultura, onde o aparecimento de um halo transparente ao redor do crescimento bacteriano indica um teste positivo.

4.3 DETECÇÃO DO GENE *mecA*

Para determinar a resistência à meticilina, as amostras de *S. aureus* foram submetidas à técnica de PCR, para detecção do gene *mecA*, conforme descrito por Tomaz e De Lencastre (2002).

4.3.1 EXTRAÇÃO DO DNA

A extração do DNA bacteriano foi feita pela técnica da fervura. Uma suspensão bacteriana foi feita em microtubo contendo 500µL de tampão TE (Tris- EDTA). Após uma centrifugação por 2 minutos a 12.000xg o sobrenadante foi removido, o sedimento ressuspenso em 200 µL de TE e fervido por 10 minutos. Após fervura, a suspensão foi centrifugada por 1 minuto a 12.000xg e o sobrenadante (contendo o DNA) transferido para outro microtubo para ser estocado à -20°C ou usado imediatamente na amplificação.

4.3.2. REAÇÃO DE AMPLIFICAÇÃO

A PCR foi executada com 25µL de reação contendo uma mistura equivalente de dNTPs (200µM, concentração final de cada), 400µM de cada *primer* MECAP4 (5'-TCCAGATTACAACCTTCACCAGG-3') e MECAP7 (5'-CCACTTCATATCTTGTAACG-3'), 1,25U de *Taq* DNA polimerase, 5µL de DNA molde, 5µL do tampão da enzima e 25µM de cloreto de magnésio.

A amplificação foi feita em um termociclador Gene Amp PCR System 9700 (PE APPLIED BIOSYSTEMS), programado de acordo com as seguintes etapas: desnaturação a 94°C por 4 minutos, 30 ciclos a 94°C por 30 segundos, anelamento a 53°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 1 minuto, e uma extensão final a 72°C por 4 minutos.

4.3.3. ANÁLISE DO PRODUTO DA PCR

O produto da PCR foi aplicado em gel de agarose a 1,5% em tampão TAE (1X) e a eletroforese realizada a 90 V. Após a corrida eletroforética, o gel foi corado com brometo de etídio e observado em luz UV. O tamanho esperado do produto amplificado é de 162 pb.

4.4 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

O perfil de sensibilidade aos demais antimicrobianos de uso corrente no tratamento de infecções estafilocócicas foi realizado pela técnica de disco difusão (Kirby-Bauer), de acordo com o documento M2-A10 (CLSI, 2009c).

Os discos impregnados com os antimicrobianos utilizados e as suas respectivas concentrações foram: cefoxitina (30µg), ciprofloxacina (5µg), clindamicina (2µg), cloranfenicol (30µg), eritromicina (15µg), gentamicina (10µg), linezolida (30µg), norfloxacin (10µg), rifampicina (5µg), sulfametoxazol-trimetoprim (23,75/1,25µg), tetraciclina (30µg) e vancomicina (30µg).

Foi utilizado o ágar Müller-Hinton (Oxoid, U.K.) esterilizado em autoclave e distribuído em placas de Petri de 150 x 20 mm de diâmetro, a uma espessura do meio de 4 mm. O inóculo bacteriano foi preparado em solução fisiológica estéril a partir de colônias com 18-24 horas de crescimento e ajustado para que sua turbidez fosse equivalente à solução padrão da escala 0,5 de McFarland, contendo aproximadamente $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL. Essa suspensão foi semeada com um *swab* estéril, esfregando-o em toda superfície do meio. Em seguida, os discos com antimicrobianos foram distribuídos com auxílio de uma pinça e o ágar incubado em estufa a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. A leitura foi realizada após 24 horas completas de incubação para vancomicina e 16 a 20 horas para os demais antimicrobianos. Os halos de inibição foram

medidos e comparados com a tabela 2C (Anexo 2) do CLSI (2009c) para classificação dos microrganismos em sensíveis, intermediários ou resistentes.

A qualidade do meio Müller-Hinton e dos discos contendo antimicrobianos foi avaliada testando a cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC (*American Type Culture Collection*) 29213, conforme preconizado pelo CLSI.

4.5 TESTE DE TRIAGEM EM ÁGAR PARA OXACILINA E VANCOMICINA

O meio de cultura utilizado para triagem da resistência a oxacilina foi o ágar Müller-Hinton suplementado com NaCl (4%) e para a vancomicina, o ágar BHI. Imediatamente antes do meio de cultura, esterilizado em autoclave, ser distribuído em placas de Petri, foi adicionado 6 µg/mL de cada antibiótico aos respectivos meios, conforme descrito pelo CLSI (2009b).

Na placa de ágar com oxacilina foi semeado com alça calibrada 1µL da suspensão bacteriana, preparada em solução fisiológica estéril a partir de uma cultura de 18-24 horas de crescimento, com turbidez equivalente a 0,5 na escala de McFarland. No teste para vancomicina foi semeado 10 µL da suspensão. A leitura foi realizada após 24 horas completas de incubação a 35± 2°C. A resistência à oxacilina e à vancomicina é indicada pelo crescimento de pelo menos uma ou mais colônias de bactéria em cada placa (CLSI, 2009b).

4.6 DILUIÇÃO EM CALDO PARA OXACILINA E VANCOMICINA

Este teste foi utilizado para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) para oxacilina e vancomicina por meio da técnica de microdiluição em caldo, em placas de

microtitulação estéreis, utilizando o caldo Mueller-Hinton ajustado com cátions (Oxoid, U.K.), conforme descrito pelo CLSI (2009b).

Soluções-estoque de oxacilina e vancomicina foram preparadas em água destilada e esterilizadas por filtração (filtro Millipore® com poro de 0,22 µm) na concentração de 512 µg/mL e 128 µg/mL, respectivamente.

Em placa de microtitulação foram feitas diluições seriadas desses antimicrobianos em caldo Müeller-Hinton com um volume final de 150µL. Uma suspensão bacteriana com turvação correspondente ao tubo nº 0,5 da escala de McFarland (1×10^8 UFC/mL) foi preparada e diluída 1:50 e adicionados 50µL em cada poço. A concentração final do inóculo foi de 5×10^5 UFC/mL. A placa de foi incubada em estufa a 35°C e a leitura da CIM feita após 24 horas de incubação.

Para cada amostra testada foi utilizado um controle positivo, contendo o caldo e a suspensão bacteriana e um controle negativo contendo apenas o caldo Müeller-Hinton.

A CIM foi considerada como a menor concentração de antimicrobiano que inibiu completamente o crescimento do microrganismo, conforme detectado a olho nu. Para a oxacilina, valores de CIM ≤ 2 µg/mL indicam sensibilidade e valores ≥ 4 µg/mL indicam que o *S. aureus* é resistente à meticilina. Para a vancomicina, as amostras com CIM ≤ 2 µg/mL são consideradas sensíveis; valores entre 4 e 8 µg/mL indicam resistência intermediária e ≥ 16 µg/mL indicam resistência total (CLSI, 2005b).

4.7 OBTENÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS DOS PACIENTES

Dados demográficos e clínicos tais como, material biológico, setores de internação, idade, sexo, entre outros foram obtidos pela análise dos prontuários dos pacientes no serviço de atendimento médico (SAME) do HC/UFTM.

4.8 AMOSTRAS DE REFERÊNCIA

Nas provas de identificação, bem como nos testes de sensibilidade aos antimicrobianos, triagem, diluição em caldo e análise molecular, foi usada como controle o *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

4.9 ANÁLISE DOS DADOS

Todos os resultados obtidos foram digitados em um banco de dados e analisados utilizando o programa de estatística SPSS (Versão 16.0; SPSS Inc., Chicago, IL).

Foi feita uma análise descritiva dos dados para determinar a taxa de isolamento de MRSA e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de acordo com o material biológico, e setor de internação no HC/UFTM, em cada período de obtenção das amostras. A comparação da taxa de MRSA nos dois períodos avaliados foi feita pelo teste do Qui-quadrado ou teste exato de Fisher, considerando como significativo $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

Durante o ano de 1998, foram obtidas 208 amostras de *S. aureus* isoladas de diferentes materiais biológicos de pacientes internados no HC/UFTM. Dentre essas amostras, 23,0% (48/208) foram *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA). No ano de 2008 foram isoladas 151 amostras de *S. aureus*, com 37,1% (56/151) de MRSA. Comparando-se as taxas de MRSA encontradas nos dois períodos, foi observada uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,0055$) (Figura 3).

A incidência de MRSA por 1000 pacientes internados no HC/UFTM nos anos de 1998 e 2008 foram 3,57 e 4,84 respectivamente.

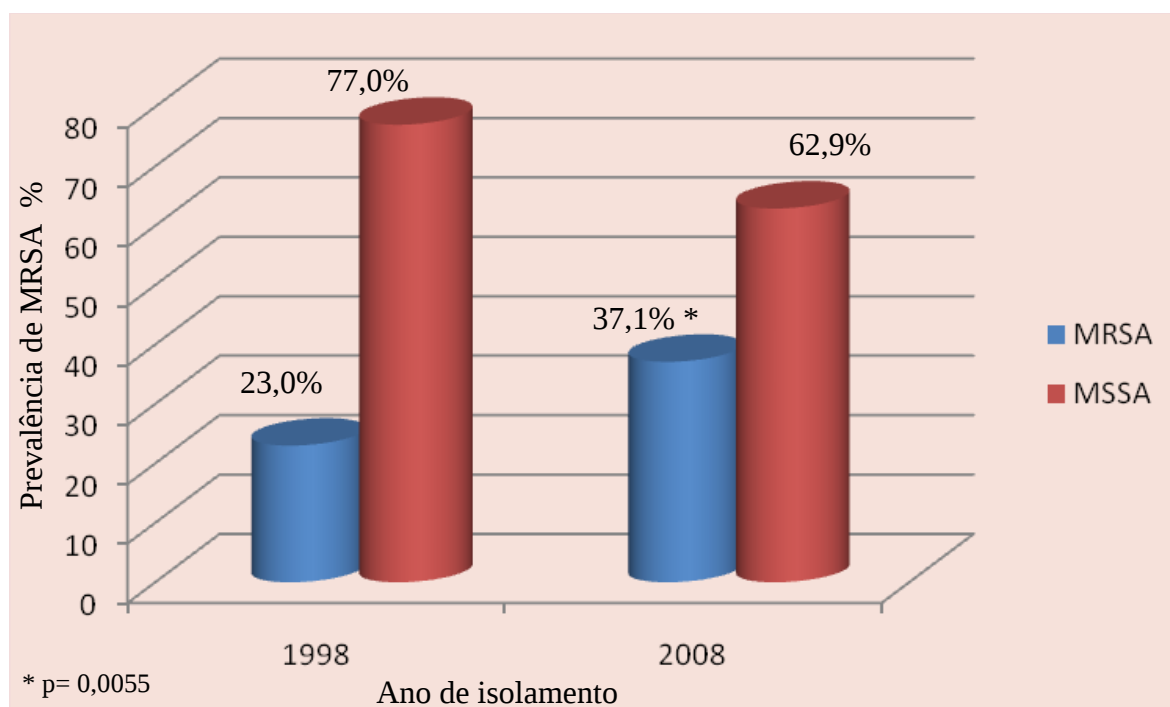


Figura 3. Prevalência de MRSA no HC/UFTM em 1998 e 2008.

A resistência à meticilina foi determinada pela pesquisa do gene *mecA*, por PCR. Todas as amostras de MRSA isoladas em 1998 e 2008 apresentaram o gene *mecA*. A Figura 4 mostra o resultado da PCR em algumas amostras de MRSA isoladas em 1998 e 2008. Essas

amostras também foram resistentes à metilicina de acordo com os resultados dos testes fenotípicos de disco difusão, triagem e diluição em caldo.

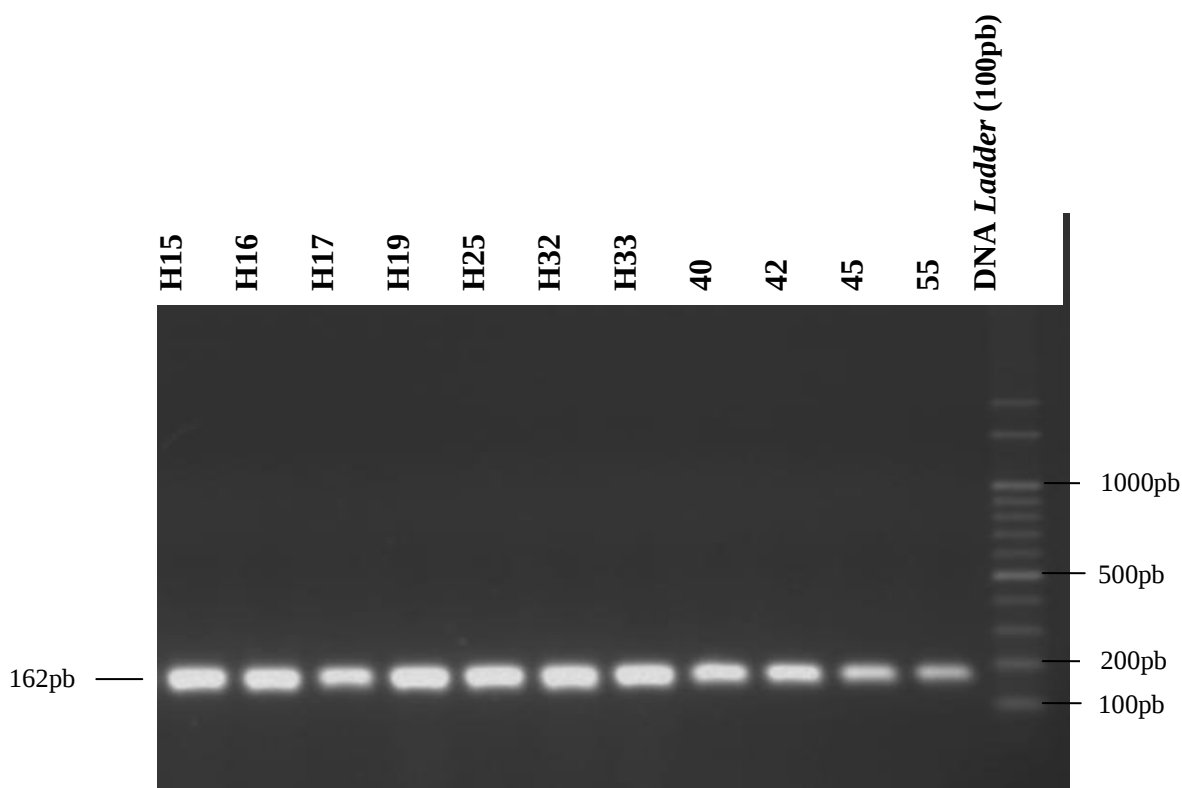


Figura 4. Eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corada com brometo de etídio, mostrando amplificação do gene *mecA* de algumas amostras de MRSA isoladas em 1998 (H15 a H33) e em 2008 (40 a 55) de pacientes internados no HC/UFTM.

A CIM para oxacilina foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo. Dentre os MRSA isolados em 1998, 8,3% (n=4) apresentaram CIM de 128 µg/mL e 91,7% (n=44) CIM ≥ 256 µg/mL. Nenhuma amostra de MRSA de 1998 apresentou CIM ≤ 64 µg/mL. Dentre os MRSA de 2008, 3,6% (n=2) apresentaram CIM de 8 µg/mL, 1,8% (n=1) CIM de 16 µg/mL, 1,8% (n=1) CIM de 32 µg/mL, 3,6% (n=2) CIM de 64 µg/mL, 8,9% (n=5) CIM de 128 µg/mL e, 80,3% (n=45) apresentaram CIM ≥ 256 µg/mL.

Não houve diferença estatisticamente significativa com relação aos valores da CIM para metilicina entre as amostras de MRSA isoladas nos dois períodos estudados como mostrado na Figura 5.

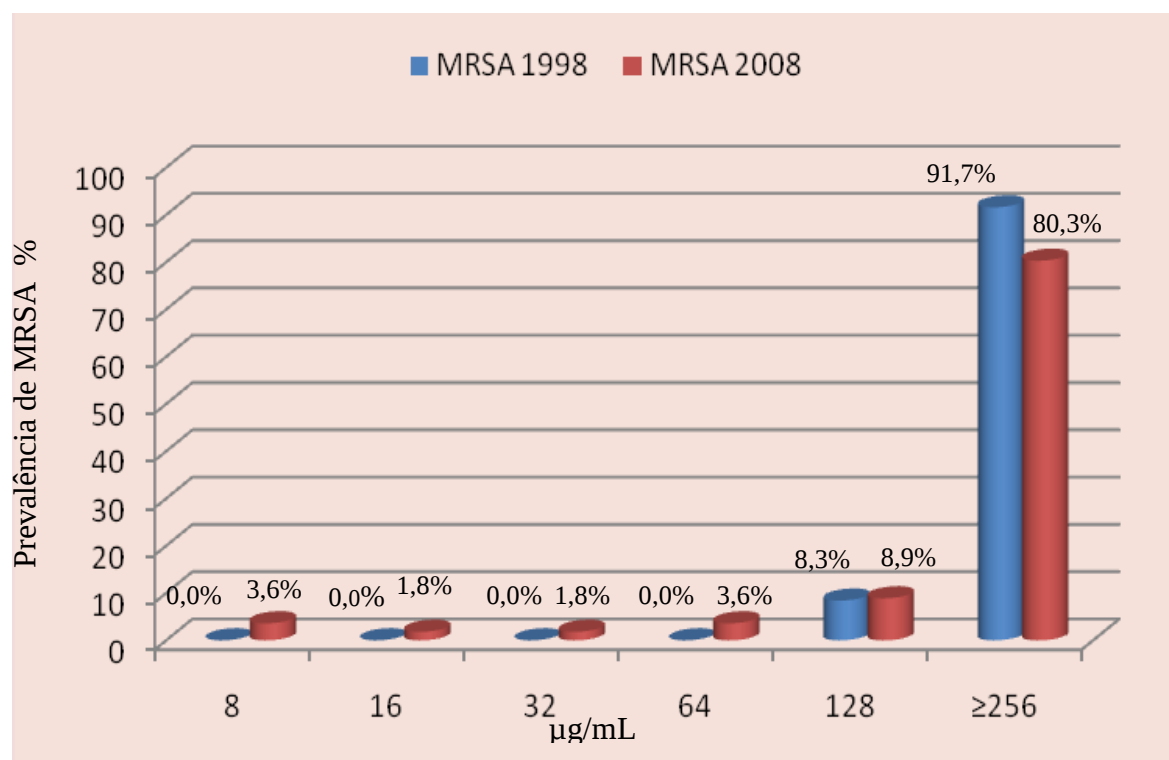


Figura 5. Concentração inibitória mínima para meticilina apresentada pelos MRSA isolados em 1998 e 2008 de pacientes internados no HC/UFTM.

A sensibilidade à vancomicina foi analisada pela disco difusão, triagem e diluição em caldo. Nenhuma amostra de *S. aureus* resistente à vancomicina foi encontrada. Das 48 amostras MRSA isoladas em 1998, 2,1% (n=1) mostraram CIM de 0,25 µg/mL; 87,5% (n=42) CIM de 0,5 µg/mL e 10,4% (n=5) CIM de 1,0 µg/mL. Dentre as 56 amostras de MRSA de 2008, 21,4 % (n= 12) apresentaram CIM de 0,25 µg/mL; 73,2 % (n=41) CIM de 0,5 µg/mL e 5,4% (n=3) CIM de 1,0 µg/mL.

Foi observado um aumento estatisticamente significativo ($p=0,007$) na porcentagem de amostras de MRSA com CIM de 0,25 µg/mL para vancomicina (Figura 6).

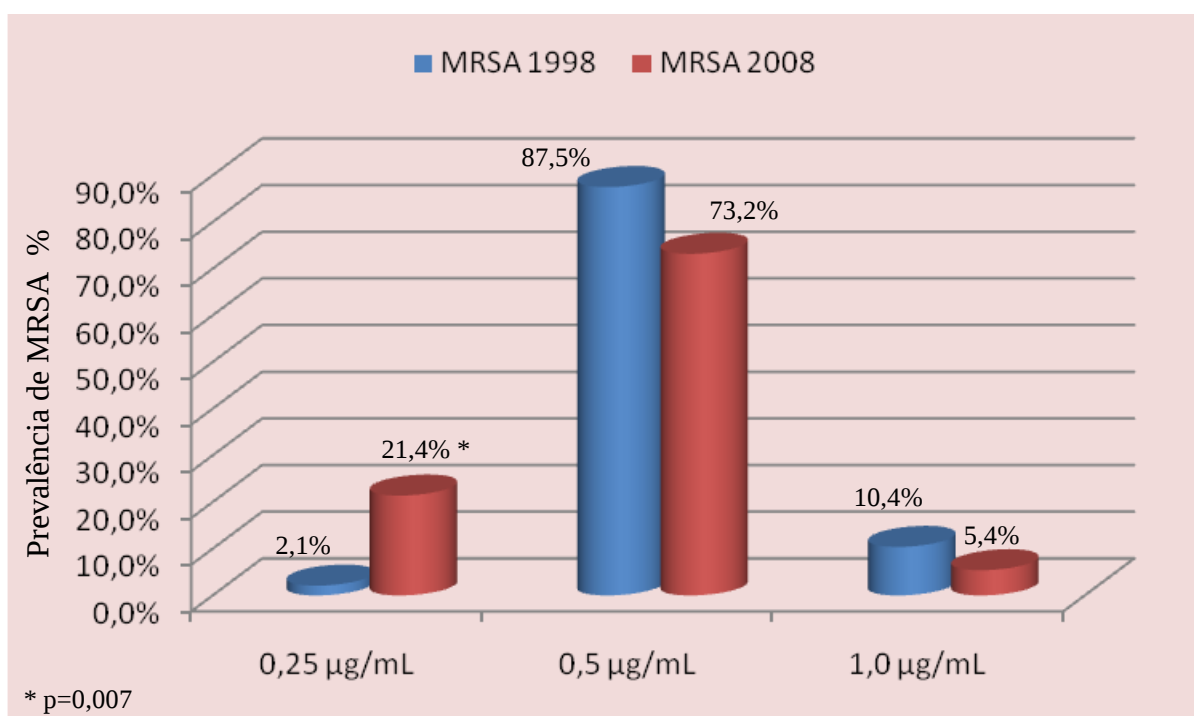


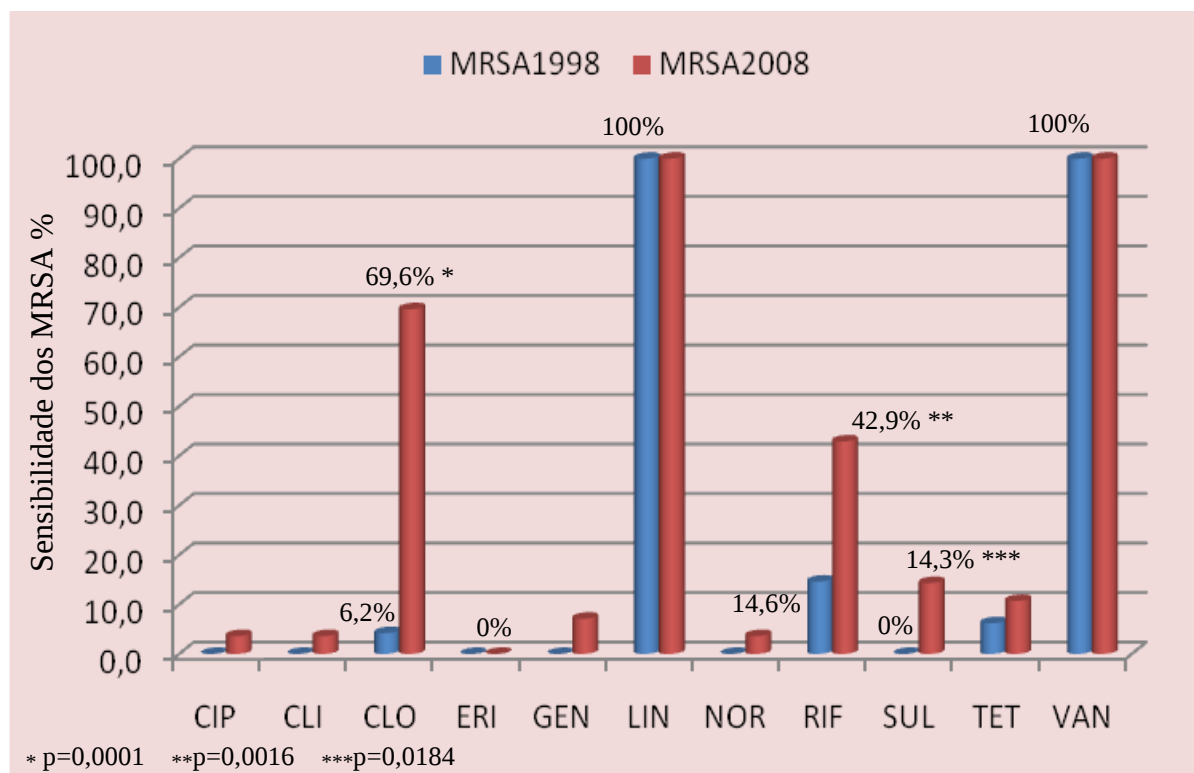
Figura 6. Concentração inibitória mínima para vancomicina apresentada pelos MRSA isolados de pacientes internados no HC/UFTM, em 1998 e 2008.

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos das amostras de MRSA isoladas em 1998 mostra que 4,2% (n=2) delas eram sensíveis ao cloranfenicol, 6,2% (n=3) à tetraciclina, 14,6% (n=7) à rifampicina e 100% (n=48) à linezolida e vancomicina. Não foram observadas amostras sensíveis à ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, gentamicina, norfloxacin e sulfametoxazol/trimetoprim.

Os MRSA isolados no ano de 2008 foram sensíveis à ciprofloxacina (3,6%, n=2), clindamicina (3,6%, n=2), cloranfenicol (69,6%, n=39), gentamicina (7,1%, n=4), norfloxacin (3,6%, n=2), rifampicina (42,9%, n=24), sulfametoxazol/trimetoprim (14,3%, n=8), tetraciclina (10,7%, n=6), linezolida e vancomicina (100%, n=56). Nenhuma amostra foi sensível à eritromicina.

Como demonstrado na Figura 7, uma porcentagem maior de amostras de MRSA isoladas em 2008 apresentou sensibilidade ao cloranfenicol (p=0,0001), rifampicina

($p=0,0034$), sulfametoxazol/trimetoprim ($p=0,0184$) quando comparada com a porcentagem de amostras de MRSA de 1998 sensíveis aos mesmos antimicrobianos.



CIP= ciprofloxacina; CLI=clindamicina; CLO=cloranfenicol; ERI=eritromicina; GEN=gentamicina; LIN=linezolida; NOR=norfloxacina; RIF=rifampicina; SUL=sulfametoxazol/trimetoprim; TET=tetraciclina; VAN=vancomicina.

Figura 7. Perfil de sensibilidade dos MRSA isolados de pacientes internados no HC/UFTM em 1998 e 2008.

Em 1998, 21 (43,8%) MRSA foram isolados de ponta de cateter, 19 (39,6%) da pele e tecidos moles, 5 (10,4%) do trato respiratório inferior, 1 (2,1%) do trato respiratório superior e 2 (4,1%) foram isolados do trato urinário. Nenhuma amostra foi isolada na corrente sangüínea. Já as amostras de MRSA do ano de 2008 foram mais freqüentemente isoladas da pele e tecidos moles ($n=25$; 44,6%), seguido dos isolados de ponta de cateter ($n=12$; 21,4%), trato respiratório inferior ($n=9$; 16,1%), corrente sangüínea ($n=8$; 14,3 %) e trato urinário ($n=2$; 3,6%). Nenhum MRSA foi isolado do trato respiratório superior em 2008.

Somente entre os isolados na corrente sanguínea e ponta de cateter nos anos de 1998 e 2008 houve diferença estatística ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição dos MRSA isolados em 1998 e 2008 de pacientes internados no HC/UFTM de acordo com o material biológico

Material Biológico	1998	2008
	Nº. Pacientes (%)	Nº. Pacientes (%)
Corrente sanguínea	0	8 (14,3) *
Pele e tecidos moles	19 (39,6)	25 (44,6)
Ponta de cateter	21 (43,8)	12 (21,4) **
Trato respiratório inferior	5 (10,4)	9 (16,1)
Trato respiratório superior	1 (2,1)	0
Trato urinário	2 (4,1)	2 (3,6)
Total	48 (100,0)	56 (100,0)

* $p=0,018$ ** $p=0,025$

De acordo com os setores de internação do HC/UFTM, a maioria das amostras de MRSA de 1998 foram isoladas de pacientes internados na enfermaria de Clínica Médica (25,0%), seguida pela Clínica Cirúrgica ($n=11$; 22,8%), Neurologia ($n=6$; 12,5%), Pronto Socorro Adulto ($n=4$; 8,3%), UIH ($n=4$, 8,3%), Ortopedia ($n=3$; 6,3%), CTI Adulto ($n=3$; 6,3%), CTI Coronário ($n=3$; 6,3%), enquanto na Pediatria e CTI Infantil foram isoladas (2,1%).

A Tabela 3 mostra a distribuição dos isolados MRSA nos setores do HC/UFTM, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os períodos estudados.

1 Tabela 3. Frequência de MRSA por setor de internação no HC/UFTM em 1998 e 2008.

Setor de internação	1998	2008
	Nº. de Pacientes (%)	Nº. de Pacientes (%)
Clínica Médica	12 (25,0)	13 (23,2)
Clínica Cirúrgica	11 (22,9)	8 (14,3)
CTI Adulto	3 (6,3)	6 (10,7)
CTI Infantil	1 (2,1)	2 (3,6)
CTI Coronário	3 (6,3)	1 (1,8)
Neurologia	6 (12,5)	3 (5,3)
Ortopedia	3 (6,3)	7 (12,5)
Pediatria	1 (2,1)	1 (1,8)
Pronto-Socorro Adulto	4 (8,3)	7 (12,5)
UIH	4 (8,3)	8 (14,3)
Total	48 (100,0)	56 (100,0)

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

6 DISCUSSÃO

O MRSA é um patógeno multirresistente e tem se tornado endêmico no Brasil, nas últimas décadas, apresentando uma prevalência que varia de 32 a 72 %, de acordo com a complexidade e o tamanho do hospital (BERETA et al., 2004; GALES et al., 2004).

Durante o ano de 1998 a prevalência de MRSA no HC/UFTM foi de 23,0%, e houve um aumento significativo ($p=0,0055$) para 37,1%, no ano de 2008, acompanhando a tendência em várias partes do mundo. Medidas de intervenção para a prevenção e controle de infecções causadas por MRSA, podem ser colocadas em prática e devem estar constantemente atualizadas, pois, têm sido eficientes na redução da incidência de infecções hospitalares originadas por esse patógeno, reduzindo significativamente a mortalidade (MOREIRA et al., 2007).

Gales e colaboradores (2009) reportam uma prevalência de MRSA de 31%, no Brasil, de acordo com estudo realizado pelo Programa SENTRY entre 2005 e 2008.

As infecções adquiridas em ambiente hospitalar são consideradas uma das questões de segurança para o paciente mais importantes (BURKE, 2003), e o MRSA é a maior causa de infecções adquiridas em hospitais e sua prevalência continua a aumentar (NNIS, 2004).

Medidas de controle para reduzir a transmissão de MRSA dentro de hospitais incluem precaução ou barreiras de contato, tais como o uso de jaleco e luvas ao entrar em contato com paciente colonizado ou infectado, boa lavagem das mãos e a existência de salas apropriadas para isolamento privativo (SIEGEL et al., 2007).

Pacientes que carregam MRSA e não são identificados podem servir como reservatório para a transmissão limitando a eficácia de um programa de medidas de controle de infecção (STRAUSBAUGH, JACOBSON e SEWELL, 1991).

A tradicional estratégia para prevenir a transmissão de MRSA dentro de hospitais, implementando precauções de contato somente após detecção do microrganismo por meio de

1 culturas diferentes de *swab* nasal, tem falhado em interromper a disseminação de MRSA
2 (WARREN et al., 2007). Por outro lado, a vigilância ativa com triagem sistemática de
3 pacientes hospitalizados tem sido proposta para controlar a sua disseminação (MUTO et al.,
4 2003).

5 Huang e colaboradores (2006) reportam uma importante redução (75%) de
6 bacteremias por MRSA em UTI e 40% de redução em outros locais, num período de 16 meses
7 de intervenção ativa.

8 Embora as medidas de isolamento de contato tenham mostrado a redução da
9 transmissão de patógenos dentro dos vários setores de um hospital, muitas instituições não
10 implementam a vigilância ativa devido ao custo associado a essas medidas e também pela
11 escassez de quartos privados para isolamento (JERNIGAN et al., 1996; KIRKLAND e
12 WEINSTEIN, 1999; KIM, OH e SIMOR, 2001).

13 A resistência à meticilina foi determinada pela detecção do gene *mecA* por PCR e
14 pela disco difusão, triagem e microdiluição em caldo. Todas as amostras consideradas MRSA
15 pelo teste genotípico também apresentaram resistência à meticilina pelos testes fenotípicos,
16 não havendo discordância entre os métodos. Isto reforça as recomendações do CLSI de que os
17 testes fenotípicos podem ser usados rotineiramente para a detecção da resistência à meticilina
18 em laboratórios clínicos

19 O tratamento apropriado e o controle da disseminação do MRSA dependem de uma
20 rápida e acurada identificação dessas amostras. A detecção genotípica do gene *mecA*, por
21 PCR, é considerada padrão ouro, entretanto, não é utilizada devido ao alto custo.

22 A escolha do melhor teste fenotípico para a detecção do MRSA ainda é controversa,
23 embora métodos como E-test, triagem em ágar e diluição em caldo têm demonstrado bons
24 resultados (ANTUNES et al., 2007; MIMICA et al., 2007). Em relação à disco difusão, as
25 recomendações do CLSI foram alteradas em 2005, preconizando-se a utilização do disco de

1 cefoxitina 30µg para detecção da resistência fenotípica à meticilina, visto que o gene
2 regulador (*mecR1*) do *mecA* ser induzido mais sensivelmente pela cefoxitina do que pelo
3 disco de oxacilina 1 µg (BERGER-BÄCHI e ROHRER, 2002; CLSI, 2005). No nosso estudo
4 a resistência à meticilina foi determinada pela disco difusão utilizando somente o disco de
5 cefoxitina 30µg e não encontramos resultados discrepantes.

6 Na determinação da CIM para meticilina, por microdiluição em caldo, a maioria das
7 amostras de MRSA isoladas em 1998 (91,6%) e 2008 (80,3%) apresentou elevado nível de
8 resistência ($CIM \geq 256 \mu\text{g/mL}$), não tendo sido observada diferença estatisticamente
9 significativa entre os dois períodos.

10 A sensibilidade à vancomicina foi determinada por três métodos diferentes, disco
11 difusão, triagem e microdiluição em caldo. Nenhuma amostra de MRSA com sensibilidade
12 intermediária à vancomicina ou mesmo resistente foi encontrada no HC/UFTM nos dois
13 períodos estudados.

14 Os testes de disco difusão para vancomicina já haviam sido realizados quando o
15 CLSI (2009) publicou que esse método não diferenciava o *S. aureus* sensível do VISA e a
16 sensibilidade de todas as amostras de *S. aureus* deveria ser determinada pela diluição em
17 caldo. Mesmo assim, não houve diferença entre os resultados da disco difusão e o teste de
18 triagem e microdiluição em caldo.

19 O VRSA é uma grande preocupação mundial, entretanto, poucos isolados têm sido
20 reportados, todos eles nos Estados Unidos. Ao contrário, existem muitos relatos de VISA,
21 inclusive no Brasil, especialmente após a redução dos pontos de corte para a vancomicina de
22 4 para 2 µg/mL, pelo CLSI em 2006 (GALES et al., 2009; TENOVER e MOELLERING,
23 2007).

24 A diminuição da atividade da vancomicina em infecções causadas por amostras de
25 MRSA com a CIM entre 1 e 2 µg/mL tem sido reportada com grande apreensão. Sakoulas e

colaboradores (2004) reportam que a CIM para vancomicina entre 1,5 e 2,0 µg/mL são preditores de uma resposta terapêutica diminuída em adultos. Nesse estudo foi comparado o sucesso do tratamento de bacteremia com vancomicina em pacientes com infecções por MRSA apresentando CIM para vancomicina entre 1 e 2 µg/mL (grupo I) e outros pacientes com bacteremia por MRSA com CIM < 0,5 µg/mL (grupo II). O resultado mostra uma porcentagem inferior a 10% de sucesso terapêutico para o grupo I, contrastando com 56% para o grupo II.

Um estudo coorte retrospectivo, realizado em um hospital de Nova Iorque, conduzido entre pacientes com infecção da corrente sanguínea por MRSA que foram tratados com vancomicina, mostra que houve falha terapêutica quando os MRSA apresentavam CIM de 1,5 µg/mL (LODISE et al., 2008).

Outro estudo, realizado na Espanha, analisando a influência da CIM para vancomicina no tratamento de bacteremias causadas por MRSA, mostrou que a mortalidade dos pacientes foi significativamente maior quando a antibioticoterapia empírica foi inadequada e quando a vancomicina foi usada empiricamente para o tratamento de infecções causadas por MRSA com CIM para vancomicina >1 µg/mL (SORIANO et al., 2008).

O aumento da CIM para vancomicina ao longo dos anos, porém, ainda dentro dos critérios interpretativos de sensível (CIM ≤ 2 µg/mL), foi reportado por Steinkraus e colaboradores (2007). O estudo mostrou um aumento da CIM em isolados de MRSA, no período de 2001 a 2005.

Em nosso trabalho, não houve aumento da CIM para vancomicina entre as amostras de MRSA isolados em 1998 e 2008. Ao contrário, observamos que houve uma diminuição quando comparamos as amostras de 1998 (10,4%) com as de 2008 (5,4%) quando a CIM era de 1,0 µg/mL, apesar de não haver diferença estatisticamente significativa (p>0,05). Entretanto, a existência de uma porcentagem não desprezível de amostras de MRSA com

CIM de 1,0 µg/mL (5,4%, n=3) no HC/UFTM deve servir de alerta para possíveis falhas no tratamento com vancomicina e terapias alternativas devem ser consideradas.

Muitas amostras de VISA demonstram heterorresistência à vancomicina e são denominadas h-VISA (HIRAMATSU et al., 1997). Atualmente, não existem metodologias padronizadas ou recomendadas para a sua detecção e até que elas estejam disponíveis para os Laboratórios de Microbiologia, o uso de vancomicina para o tratamento de infecções causadas por MRSA com CIM maiores que 1 µg/mL deveria ser utilizada com precaução (SAKOULAS e MOELLERING, 2008). Por isso, os resultados para detecção da sensibilidade à vancomicina devem ser reportados somente pela determinação da CIM.

Devido aos vários estudos reportando falha terapêutica, o CLSI, em 2006, baixou os pontos de corte para vancomicina para ≤ 2 µg/mL. Talvez seja necessário considerar modificações adicionais nesses critérios interpretativos de sensibilidade quando métodos de detecção do h-VISA estiverem disponíveis aos microbiologistas (SAKOULAS e MOELLERING, 2008).

Grande parte dos estudos encontrados na literatura utiliza a determinação da CIM pelo método da fita de E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden). A metodologia realizada em nosso trabalho, sugerida pelo CLSI, utiliza uma diluição geométrica e o E-test, diluição de progressão aritmética, tornando difícil a comparação entre os resultados encontrados, pois, em estudos anteriores, as CIMs para a vancomicina realizadas pelo E-test apresentaram diluições uma ou duas vezes mais altas quando comparadas com os resultados gerados pela microdiluição em caldo, utilizando a mesma amostra bacteriana (HSU et al., 2008; PRAKASH, LEWIS e JORGENSEN, 2008).

O perfil de sensibilidade dos MRSA isolados em 1998 mostrou que nenhum deles apresentou sensibilidade à ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, gentamicina, norfloxacin e sulfametoxazol/trimetoprim. Apenas 4,2% (n=2) delas eram sensíveis ao

cloranfenicol, 6,3% (n=3) à tetraciclina e 14,6% (n=7) à rifampicina. Todas as amostras (n=48) foram sensíveis à linezolida e vancomicina.

De acordo com Sader e colaboradores (2001a), amostras de MRSA isoladas em alguns hospitais brasileiros, durante o período de 1997 a 1999, apresentavam sensibilidade à ciprofloxacina (7,2%), clindamicina (7,2%), eritromicina (2,4%), gentamicina (4,5%), e sulfametoxazol/trimetoprim (8,3%). Comparando com nossos resultados, os MRSA isolados no HC/UFTM em 1998 aparentavam ter uma sensibilidade menor em relação aos isolados em outros estados brasileiros, apesar da taxa encontrada nos hospitais participantes do estudo ser, também, baixa.

Os MRSA de 2008 apresentaram sensibilidade à ciprofloxacina (3,6%, n=2), clindamicina (3,6%, n=2), cloranfenicol (69,6%, n=39), gentamicina (7,1%, n=4), norfloxacina (3,6%, n=2), rifampicina (42,8%, n=24), sulfametoxazol/trimetoprim (14,3%, n=8), tetraciclina (10,7%, n=6), linezolida e vancomicina (100%, n=56) havendo diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) somente para o cloranfenicol, rifampicina e sulfametoxazol/trimetoprim. Nenhuma amostra foi sensível à eritromicina.

Gales e colaboradores (2009) mostram um perfil de sensibilidade de MRSA isolados durante o Programa SENTRY (2005-2008) semelhante ao encontrado em nosso estudo, exceto para a sulfametoxazol/trimetoprim, onde a porcentagem de isolados resistentes foi 68,1%.

Comparando as amostras de 1998 e 2008 podemos notar que houve uma mudança no perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e o número de amostras sensíveis aumentou com relação à maioria dos antimicrobianos, com exceção da eritromicina. Essa mudança pode ser explicada devido uma possível introdução de variedades genéticas de MRSA no HC/UFTM.

Desde o início dos anos 90, o CA-MRSA tem sido cada vez mais reconhecido como causa de infecções entre pessoas saudáveis fora do ambiente hospitalar. Entretanto, pacientes

com infecções por CA-MRSA são tratados por longos períodos em hospitais e esse MRSA de origem comunitária pode se tornar endêmico (GONZALES et al., 2006). Os CA-MRSA carregam o *SSCmec* tipo IV que difere em tamanho e composição genética daquele encontrado no MRSA hospitalar e não possui genes acoplados de resistência a outros antimicrobianos sendo, portanto, sensível à maioria dos antimicrobianos não beta-lactâmicos (DAUM et al., 2002; CHAMBERS, 1997).

Essa diferença no perfil de sensibilidade devido à diversidade genética entre os MRSA poderia explicar o aumento do número de amostras sensíveis encontrado nas amostras de 2008. Nosso trabalho faz parte de um estudo maior onde a tipagem do *SCCmec* será realizada e talvez possa confirmar essa hipótese.

Um estudo realizado no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, em 2004, mostrou que amostras de MRSA com *SCCmec* tipo IV estava claramente inserido como patógeno nosocomial naquele hospital. O estudo analisou 151 amostras consecutivas de MRSA isoladas da corrente sanguínea durante um período de 7 meses e nenhum foi adquirido na comunidade. A tipagem molecular demonstrou um padrão predominante e 95% das amostras foram identificadas como *SCCmec* tipo IV (TRINDADE et al., 2005).

Donnio e colaboradores (2004) realizaram um estudo, durante um período de 11 anos, investigando a relação entre a mudança na sensibilidade aos antimicrobianos e a distribuição dos tipos de *SCCmec* entre os MRSA isolados de pacientes internados em um Hospital Francês, e mostram que o aumento na sensibilidade aos antimicrobianos foi devido à emergência de amostras MRSA com *SCCmec* tipo IV.

Em outro estudo, Klevens e colaboradores (2006) mostram um decréscimo da taxa de resistência para vários antimicrobianos não beta-lactâmicos entre amostras de MRSA, isolados em UTI de hospitais americanos, no período de 1992 a 2003. O autor conclui que a

substituição das amostras de MRSA predominantes é sugestiva para explicar a mudança encontrada nos padrões de sensibilidade.

No Canadá, um estudo realizado com 7.942 amostras de MRSA isoladas de pacientes internados em 48 hospitais, no período de 1995 a 2008, mostrou uma variação regional no perfil de sensibilidade aos antimicrobianos. A disseminação de amostras de CA-MRSA, nesse país, parece ter contribuído para aumentar a sensibilidade, a vários agentes não beta-lactâmicos, encontrada nos MRSA do ambiente hospitalar, na década passada (SIMOR, et al., 2010).

Com relação à prevalência de MRSA, de acordo com os materiais biológicos, nosso trabalho mostra que houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras de 1998 e 2008 quando foram isolados na corrente sanguínea ($p=0,018$) e em pontas de cateter ($p=0,025$). Os resultados mostram que no ano de 1998 não foi isolado nenhum MRSA na corrente sanguínea, enquanto nos dados publicados pelo Programa SENTRY a prevalência de MRSA na corrente sanguínea era de 29,4% no mesmo período de estudo das amostras de 1998 (SADER, 2001a).

Vários outros estudos mostram uma alta prevalência de MRSA isolados na corrente sanguínea. Guilarde e colaboradores (2007), em um estudo coorte retrospectivo realizado em hospital universitário goiano entre 2000 e 2001, mostram que 40% das bacteremias verdadeiras foram causadas por *S. aureus*, e destes, 55,9% eram MRSA. Em outro estudo, realizado no Hospital São Paulo, no início e meados da década de 90, a prevalência de MRSA em bacteremias foi 66,0% (CONTERNO, WEY e CASTELO, 2002).

O número de amostras de MRSA isoladas na corrente sanguínea no ano de 2008 aumentou para 14,3% ($n=8$). Apesar desse aumento, essa porcentagem é pequena em relação a outros estudos realizados no Brasil. Cassettari e colaboradores (2005), estudando o impacto da resistência à metilicina na mortalidade de pacientes com bacteremias por MRSA em dois

grandes hospitais em São Paulo, mostram uma prevalência de 64,3%. De acordo com os dados do Programa SENTRY, realizado entre 2005 e 2008, a porcentagem de MRSA recuperados em amostras sangüíneas foi de 31% (GALES et al., 2009).

De acordo dados fornecidos pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) do HC/UFTM a maior incidência de microrganismos isolados em hemoculturas, no período de janeiro a outubro de 2008, foi atribuída ao MRSA, com taxas de 24% e 12% na UTI Adulto e UTI Pediátrica, respectivamente.. Esses dados se referem somente à sepse primária e não existem dados referentes ao ano de 1998 devido à implantação e começo das atividades exatamente nesse período.

Uma grande porcentagem de MRSA (39,6% em 1998; 44,6% em 2008) foi isolada de pele e partes moles, apesar de não haver diferença estatística significativa entre as amostras no período estudado. Um estudo desenvolvido por Awad e colaboradores (2007) em pacientes com infecções de pele e tecidos moles do setor de cirurgia de um hospital de cuidados terciários, durante um período de 7 anos, mostra um significativo e contínuo aumento na incidência de MRSA nesses pacientes. O autor defende que a terapia empírica para o MRSA deveria ser considerada como terapia de primeira linha, mas, foi observado um aumento da CIM para vancomicina durante o período do estudo. Portanto, antimicrobianos alternativos para o tratamento de infecções causadas pelo MRSA devem ser considerados sempre que a CIM para vancomicina for $> 1\mu\text{g/mL}$.

O MRSA é um patógeno freqüentemente encontrado causando infecções cutâneas também na comunidade. Em estudo realizado com pacientes sem fatores de risco para infecções causadas por MRSA, atendidas pelo setor de emergência de um hospital, a taxa de isolamento foi de 59%. Devido ao aumento da prevalência de infecções comunitárias causadas pelo MRSA (CA-MRSA) nos últimos anos, é necessária a valorização de um exame

de cultura para que a terapia empírica local seja instituída adequadamente (MORAN et al., 2006).

No Brasil, Gales e colaboradores (2009) reportaram uma porcentagem de 17% de isolamento de MRSA em infecções pele e partes moles, durante o Programa SENTRY realizado entre 2005 e 2008 em hospitais brasileiros, mostrando uma taxa de prevalência menor que a encontrada em nosso estudo.

Segundo a literatura, a prevalência de *S. aureus* em infecções do trato urinário é baixa, e, no presente estudo, também foi encontrada uma prevalência de MRSA de 4,1% e 3,6% em 1998 e 2008, respectivamente.

A maioria das amostras de MRSA foi isolada de pacientes internados na enfermaria de Clínica Médica e na Clínica Cirúrgica e, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum dos setores de internação estudados nos dois períodos

Foram encontrados 6,3% (n=3) de amostras de MRSA no ano de 1998 e 10,7% (n=6) em 2008 na Unidade de Tratamento Intensivo (UTI). Nesse setor se concentram pacientes com doenças graves e, por isso, os cuidados à saúde são muito exigidos. O uso de antimicrobianos de amplo espectro é comum, o que o torna alvo de preocupação em relação ao aparecimento de microrganismo multirresistentes. O uso constante da vancomicina no tratamento empírico em UTIs exerce uma pressão seletiva sobre os microrganismos, aumentando o risco de emergência de resistência a esse antimicrobiano em *S. aureus*.

A presença de *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina nessa unidade, é uma realidade e, medidas de vigilância epidemiológica já estão sendo realizadas através de culturas sistemáticas de swab anal. Estudos anteriores demonstram que a resistência do *S. aureus* à vancomicina é devida à transferência horizontal de um operon contendo o gene *vanA* do *E. faecalis* para o *S. aureus* (NOBLE et al., 1992). A presença de MRSA em pacientes

internados na UTI do HC/UFTM aliado aos vários episódios de detecção de VRE pode facilitar o surgimento do *S. aureus* com resistência total à vancomicina.

Os resultados de nosso estudo mostram a evolução do MRSA como patógeno endêmico no HC/UFTM, evidenciando o aumento da sua prevalência. Estudos futuros poderão explicar o aumento do número de MRSA com maior sensibilidade aos antimicrobianos, através da análise genotípica do *SCCmec*, devido uma provável mudança do perfil genético dessas amostras. A introdução do CA-MRSA (*SCCmec* IV) nos hospitais, parece ser a causa desse aumento também registrado em várias partes do mundo.

Métodos padronizados para a detecção do h-VISA são esperados, pois, cada vez mais, estão sendo reportadas elevadas taxas de falha terapêutica com vancomicina em amostras de MRSA consideradas sensíveis pelos métodos recomendados.

Conhecer a epidemiologia local dos patógenos prevalentes, através de métodos fenotípicos acurados para detecção de resistências, reflete diretamente na importância do uso racional de antimicrobianos e de se estabelecer medidas de controle para evitar a disseminação desses microrganismos multirresistentes.

7 CONCLUSÕES

A prevalência de MRSA no HC/UFTM aumentou significativamente em 2008 em comparação com 1998.

Não houve discrepâncias entre o método genotípico e os testes fenotípicos na detecção da resistência à meticilina.

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos mostrou um aumento no número de amostras sensíveis aos antimicrobianos não- β -lactâmicos, principalmente, à sulfametoxazol/trimetoprim, rifampicina e ao cloranfenicol.

Apesar dos MRSA serem mais, freqüentemente, isolados na Clínica Médica e na Clínica Cirúrgica não houve diferença estatística entre os períodos estudados.

Não houve aumento nos valores da CIM para vancomicina entre as amostras estudadas, entretanto, a presença de algumas amostras de MRSA com CIM de 1,0 $\mu\text{g/mL}$ merece atenção especial.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AWAD, S. S., ELHABASH, S. I., LEE, L., FARROW, B., BERGER, D. H. Increasing incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft-tissue infections: reconsideration of empiric antimicrobial therapy. **The American Journal of Surgery**. v. 194, p. 606 - 610, 2007.
- BERETTA, A. L. R. Z., TRABASSO, P., STUCCHI, R. B., MORETI, M. L. Use of molecular epidemiology to monitor the nosocomial dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a University Hospital from 1991 to 2001. **Brazilian Journal Medical of and Biological Research**. v. 37, n. 9, p. 1345 - 1351, 2004.
- BERGER-BÄCHI, B., ROHRER, S. Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. **Archives of Microbiology**. v. 178, p. 165 - 171, 2002.
- BHATEJA, P., PURNAPATREK, K., DUBE, S., FATMA, T., RATTAN, A. Characterization of laboratory-generated vancomycin-intermediate resistant *Staphylococcus aureus* strains. **International. Journal Antimicrobial Agents**. v. 27, p. 201 - 211, 2006.
- BHATIA, A., ZAHOOR. S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: A review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. v. 3, p. 188 - 197, 2007.
- BURKE, J. Infection control - A problem for patient safety. **New England Journal Medicine**. v. 348, p. 651 -656, 2003.
- CASEWELL, M. W. Epidemiology and control of the "modern" methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Hospital Infection**. v. 7 (suppl. A), p. 1 - 11, 1986.
- CASSETTARI, V. C., STRABELLI, T., MEDEIROS, E. A. S. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v.9, n.1, p. 70 – 76, 2005.
- CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Outbreaks of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report**. v. 52, n.5, p.88, 2003.
- CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin, Illinois. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report**. v. 48, p. 1165 - 1167, 2000.

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin - United States, 2002. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report**. v. 51, p. 565 - 567, 2002.

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Minnesota and North Dakota, 1985-1997. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report**. v. 48, p.707 - 710, 1999.

CHAMBERS, H. F. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 10, p. 781 - 791, 1997.

CHANG, S., SIEVERT, D. M., HAGEMAN, J. C., JEFFREY, C., HAGEMAN, BOULTON, M.L., TENOVER, F. C., DOWNES, F. P., SHAH, S., RUDRIK, J. T., PUPP, G. R., BROWN, W. J., CARDO, D., FRIDKIN, S. K. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. **New England Journal Medicine**. v. 348, p. 1342 - 1347, 2003.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S16. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-eighth edition. CLSI document M7-A8. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009b.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard - tenth edition. CLSI document M2-A10. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009 a.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. CLSI document M100-S19. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009c.

- CONTERNO, L. O., WEY, S. B., CASTELO, A. *Staphylococcus aureus* bacteremia: comparison of two periods and a predictive model of mortality. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v. 6, n. 6, p. 288 – 297, 2002.
- COSGROVE, S.E. The Impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, and hospital charges. **Infection Control and Hospital Epidemiology**. v. 26, p. 166 - 174, 2005.
- DAUM, R. S., ITO, T., HIRAMATSU, K., HUSSAIN, F., MONGKOLRATTANOTHAI, K., JAMKLANG, M., BOYLE-VAVRA, S. A novel methicillin-resistance cassette in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of diverse genetic backgrounds. **Journal Infectious Diseases**. v.186, p. 1344 - 1347, 2002.
- DERESINSKI, S. Vancomycin heteroresistance and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Infections Diseases**. v. 199, p. 605 - 609, 2009.
- DONNIO, P. Y., PRENEY, L., GAUTIER-LERESTIF, A. L., AVRIL, J. L., LAFFORGUE, N. Changes in staphylococcal cassette chromosome type and antibiotic resistance profile in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a French hospital over an 11-year period. **Journal Antimicrobials Chemotherapy**. v.53, p. 808 -813, 2004.
- FERNANDES, C. J., FERNANDES, L. A., COLLIGNON, P. Cefoxitin resistance as a surrogate marker for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal Antimicrobials Chemotherapy**. v. 55, p. 506 - 510, 2005.
- FRANCIS, J. S., DOHERT, M. C., LOPATIN, U. Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the Panton-Valentine Leukocidin genes. **Clinical Infectious Diseases**. v. 40, p. 100 - 107, 2005.
- GALES, A. C., ANDRADE, S. S., SADER, H. S., JONES, R. N. Activity of mupirocin and 14 additional antibiotics against staphylococci isolated from Latin American hospitals: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Journal of Chemotherapy**. v.16, p. 323 - 328, 2004.
- GALES, A. C., SADER, H. S., RIBEIRO, J., ZOCCOLI, C., BARTH, A., PIGNATARI, A. C. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008). **Brazilian Journal Infectious Diseases**. v. 13, n. 2, p. 90 – 98, 2009.

- GOMES, A. R., WESTH, H., DE LENCASTRE, A. H. Origins and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal lineages. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v. 50, n.10, p. 3237 - 3244, 2006.
- GONZALEZ, B. E., RUEDA, A. M., SHELBURNE, S. A., MUSHER, D. M., HAMILL, R. J., HULTÉN, K. G. Community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as the cause of healthcare-associated infection. **Infection Control and Hospital Epidemiology**. v.27, p. 1051 - 1056, 2006.
- GUILARDE, A. O.,TURCHI, M. D., MARTELLI, C. M. T., PRIMO, M. G. B., BATISTA, L. J. A. Bacteremias em pacientes internados em hospital universitário. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 53, n. 1, p. 34 - 38, 2007.
- HANAKI, H., KUWABARA-ARAI, K., BOYLE-VAVRA, S., DAUM, R. S., LABISCHINKI, H., HIRAMATSU, K. Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. **Journal Antimicrob Chemotherapy**. v. 42, p. 199 – 209, 1998.
- HIRAMATSU, K., ARITAKA, N., HANAKI, H., KAWASAKI, S., HOSODA, Y., HORI, S., FUKUCHI, Y., KOBAYASHI, I. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. **Lancet**. v. 350, p.1670 - 1673, 1997b.
- HIRAMATSU, K., HANAKI, H., INO, T., YABUTA, K., OGURI, T., TENOVER, F. C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **Journal Antimicrob Chemother.**, v. 40, p. 135 - 136, 1997a.
- HSU D. I., HIDAYAT, L. K., QUIST, R., HINDLER, J., KARLSSON, A., YUSOF, A., WONG-BERINGER, A. Comparison of method-specific vancomycin minimum inhibitory concentration values and their predictability for treatment outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. **International Journal Antimicrobial Agents**. v. 32, p. 378 - 385, 2008.
- HUANG, S. S., YOKOE, D. S., HINRICHSSEN, V. L., SPURCHISE, L. S., DATTA, R., MIROSHNIK, I., PLATT, R. Impact of routine intensive care unit surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**. v. 43, p. 971 – 978, 2006.
- ITO, T., HIRAMATSU, K. Acquisition of methicillin resistance and progression of multiantibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Yonsei Medical Journal**. v.39, p. 526 - 533, 1998.

LIU, C., CHAMBERS, H. F. *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 47, p. 3040 - 3045, 2003.

LODISE, T. P., GRAVES, J., EVANS, GRAFFUNDER, E., HELMECKE, M., LOMAESTRO, B. M., STELLRECHT, K. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v. 52, n. 9, p. 3315 - 3320, 2008.

LOPES, H.V. CA-MRSA: um novo problema para o infectologista. **Revista Panamericana de Infectologia**. v. 7, n. 3, p. 34 - 36, 2005.

LOWY, F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Investigation**. v. 111, p. 1265 - 73, 2003.

MASSAY, R. C., HORSBURGH, M. J., LINA, G., HOOK, M., RECKER, M. The evolution and maintenance of virulence in *Staphylococcus aureus*: a role for host-to-host transmission. **Nature Reviews Microbiology**. v. 4, p. 953-958, 2006.

MCCAIG, L. F. *Staphylococcus aureus*–associated skin and soft tissue infections in ambulatory care. **Emerging Infectious Diseases**. v. 12, n. 11, p. 1715 - 1723, 2006.

MIMICA, M. J. BEREZIN, E. N., CARVALHO, R. L. B., MIMICA, I. M., MIMICA L. M. J., SÁFADI, M. A. P., SCHNEIDER, E., CAIAFFA-FILHO, H. H. Detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from pediatric patients: is the cefoxitin disk diffusion test accurate enough? **Brazilian Journal of Infection Diseases**. v. 11, p. 415 - 417, 2007.

MIMICA, M. J., MENDES, C. M. F. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 43, n. 6, p. 399 - 406, 2007.

MORAN, G. J., KRISHNADASAN, A., GORWITZ, R. J., FOSHEIM, G. E., MCDOUGAL, L. K., CAREY, R. B., TALAN, D. A. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. **New England Journal Medicine**. v. 355, n. 7, p. 666 - 674, 2006.

MOREIRA, M., FREITAS, M. R., MARTINS, S. T., CASTELO, A., MEDEIROS, E. A.S. Efficacy of a program of prevention and control for methicillin-resistant *Staphylococcus*

- aureus* infections in an intensive-care Unit. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases.** v. 11, n.1, p. 57 - 62, 2007.
- MULLIGAN, M., MURRAY-LEISURE, K. A., RIBNER, B. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. **American Journal Medicine.** v. 94, p. 313 - 328, 1994.
- MUSSER, J. M., KAPUR, V. Clonal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from intercontinental sources: association of the *mec* gene with divergent phylogenetic lineages implies dissemination by horizontal transfer and recombination. **Journal Clinical Microbiology.** v.30, p. 2058 - 2063, 1992.
- MUTO, C. A., JERNIGAN, J. A., OSTROWSKY, B. E. SHEA Guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. **Infection Control Hospital Epidemiology.** v. 24, n. 5, p. 362 - 386, 2003.
- NNIS – NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE SYSTEM REPORT. Data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. **American Journal Infections Control.** v. 32, p. 470 - 485, 2004.
- NOBLE, W. C., VIRANI, Z., CREE, R. G. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiology Letters.** v.72, p. 195 - 198, 1992.
- OLIVEIRA, A. G., DRESCH, G., ALMEIDA JÚNIOR, A. A.; TERRA, A. P. S., MORAIS, C. A. Avaliação do perfil de sensibilidade a antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus aureus* oxacilina resistentes isoladas em um hospital universitário no período de um ano. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia,** p. 97, 1999.
- OLIVEIRA, D. C., TOMASZ, A., DE LENCASTRE, H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Lancet Infectious Diseases.** v. 2, p. 180 - 189, 2002.
- PALAVECINO, E. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Clin Lab Med.** v. 24, n. 2, p. 403 - 418, 2004.
- PRAKASH, V., LEWIS, J. S., JORGENSEN, J. H. Vancomycin MICs for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates differ based upon the susceptibility test method used. **Antimicrobials Agents Chemotherapy.** v. 52, n.12, p. 4528, 2008.

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

RUBIN, R. J., HARRINGTON, C. A., POON, A., DIETRICH, K., GREENE, J. A., MOIDUDDIN, A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. **Emergence Infectious Diseases**. v. 5, p. 9 - 17, 1999.

SADER, H. S., GALES, A. C., PFALLER, M. A., MENDES, R. E., ZOCCOLI, C., BARTH, A., JONES, R. N. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian Hospitals: Summary of results from three years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v. 4 , p. 200 - 214, 2001a.

SADER, H. S., JONES, R. N., GALES, A. C., SILVA, J. B., PIGNATARI, A. C., THE SENTRY PARTICIPANTS GROUP (LATIN AMERICA) .SENTRY Antimicrobial Surveillance Program Report: Latin American and Brazilian Results for 1997 through 2001. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v. 8, n. 1, p. 25 - 79, 2004.

SADER, H. S., MENDES, R. E., GALES, A. C., JONES, R. N., PFALLER, M. A., ZOCCOLI, C., SAMPAIO, J. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas do trato respiratório baixo de pacientes com pneumonia internados em hospitais brasileiros - resultados do Programa SENTRY, 1997 - 1998. **Journal Pneumology**. v. 27, n. 2, p. 59 - 67, 2001b.

SAKOULAS, G., MOELLERING, R. C. JR. Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Clinical Infectious Diseases**. v. 46, p. 360 - 367, 2008.

SAKOULAS, G., MOISE-BRODER, P. A., SCHENTAG, J., FORREST, A., MOELLERING, R. C. JR., ELIOPOULOS, G. M. Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 42, n. 6, p. 2398 - 2402, 2004.

SHURLAN, S., ZHAN, M., BRADHAM, D. D., ROGHMANN, M. C. Comparison of mortality risk associated with bacteremia due to methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. **Infection Control and Hospital Epidemiology**. v. 28, n. 3, p. 273 - 279, 2007.

SIEGEL, J.D., RHINEHART, E., JACKSON, M., CHIARELLO, L. Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings, 2007. **American Journal Infectious Control**. v. 35, n. 10, p.65 - 164, 2007

- SIERADZKI, K., ROBERTS, R. B., HABER, S. W., TOMASZ, A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. **New England Journal Medicine**. v. 340, p. 517 - 523, 1999.
- SIMOR, A. E., LOUIE, L., WATT, C., GRAVEL, D., MULVEY, M. R., CAMPBELL, J., MCGEER, A., BRYCE, E., LOEB, M., MATLOW, A. Antimicrobial susceptibilities of health care-associated and community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hospitalized patients in Canada, 1995 to 2008. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.54, n.5, p. 2265 - 2268, 2010.
- SMITH, T. L. et al. Emergence of vancomycin resistance in *S. aureus*. **New England Journal Medicine**. v. 340, n. 7, p. 493-501, 1999.
- SORIANO, A., MARCO, F., MARTÍNEZ, J. A., PISOS, E., ALMELA, M., DIMOVA, V. P., ALAMO, D., ORTEGA, M., LOPES, J., MENSA, J. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**. v. 46, p. 193 - 200, 2008.
- STEINKRAUS, G., WHITE, R., FRIEDRICH, L. Vancomycin MIC creep in non-vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) blood isolates from 2001– 05. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 60, p. 788 – 794, 2007.
- STRAUSBAUGH, L. J., JACOBSON, C., SEWELL, D. L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in extended-care facilities: Experiences in a Veterans' Affairs nursing home and a review of the literature. **Infection Control Hospital Epidemiology**. v. 12, p. 36 - 45, 1991.
- SWENSON, J. M., WILLIAMS, P. P., KILLGORE, G., O'HARA, C. M., TENOVER, F. C. Performance of eight methods, including two new rapid methods, for detection of oxacillin resistance in a challenge set of *Staphylococcus aureus* organisms. **Journal Clinical Microbiology**. v. 39, p. 3785 - 3788, 2001.
- SWENSON, J. M., TENOVER, F. C., CEFOXITIN DISK STUDY GROUP. Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate with presence of *mecA* in *Staphylococcus* spp. **Journal Clinical Microbiology**. v. 43, p. 3818 - 3823, 2005.
- TENOVER, F. C., WEIGEL, L. M., APPELBAUM, P. C. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v. 48, p. 275 - 280, 2004.

- TENOVER, F. C., MOELLERING, R. C. JR. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infection Disease**. v. 44, p. 1208 – 1215, 2007.
- TRINDADE, P. A., PACHECO, R. L., COSTA, S. F., ROSSI, F., BARONE, A. A., MAMIZUKA, E. M., LEVIN, A. S. Prevalence of SCCmec type IV in nosocomial bloodstream isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 43, n. 7, p. 3435 - 3437, 2005.
- UTSUI, Y., YOKOTA, T. Role of an altered penicillin-binding protein in methicillin and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v. 28, p. 397- 403, 1985.
- WARREN, D. K., GUTH, R. M., COOPERSMITH, C. M. , MERZ, L. R., ZACK, J. E., FRASER, V. J. Impact of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* active surveillance program on contact precaution utilization in a surgical intensive care unit. **Critical Care Medicine**. v. 35, n.2, p. 430 - 434, 2007.
- ZETOLA, N., FRANCIS, J.S., NUERMBERGER, E. L., BISHAI, W. R. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. **The Lancet Infections Diseases**. v. 5, n. 5, p. 275 - 286, 2005.

9 ANEXOS

ANEXO 1. Parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM

10/10



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba(MG)
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-CEP
Parecer Consubstanciado
PROTOCOLO DE PROJETO DE PESQUISA COM ENVOLVIMENTO DE SERES HUMANOS

IDENTIFICAÇÃO

TÍTULO DO PROJETO: “Infecção hospitalar por *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina (MRSA) em um hospital público de ensino: tipagem epidemiológica molecular e fenotípica de amostras isoladas em 1998 e 2008”

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: ADRIANA GONÇALVES DE OLIVEIRA

INSTITUIÇÃO ONDE SE REALIZARÁ A PESQUISA: UFTM

DATA DE ENTRADA NO CEP/UFTM: 21/12/2007

PROTOCOLO CEP/UFTM: 1095

análise dos prontuários disponíveis no SAME (os pesquisadores não manterão contato com o paciente);

3) em geral, os pacientes hospitalizados, dos quais as amostras de MRSA são isoladas, são pacientes com doenças graves e muitos chegam ao óbito.

14. ESTRUTURA DO PROTOCOLO – O está adequado para atender às determinações da Resolução CNS 196/96.

15. COMENTÁRIOS DO RELATOR, FRENTE À RESOLUÇÃO CNS 196/96 E COMPLEMENTARES

PARECER DO CEP: APROVADO

(O relatório anual ou final deverá ser encaminhado um ano após o início do processo).

DATA DA REUNIÃO: 09-05-2008

João Batista Ribeiro
Coordenador

ANEXO 2. Tabela 2C – CLSI. Padrões intepretativos de diâmetros halos de inibição e pontos de corte equivalentes concentrações inibitórias mínimas para *Staphylococcus aureus*.

Table 2C
Staphylococcus spp.
M02 and M07

Table 2C. Zone Diameter and MIC Interpretive Standards for *Staphylococcus* spp.

Testing Conditions		Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)
Medium:	Disk diffusion: MHA Broth dilution: CAMHB; CAMHB + 2% NaCl for oxacillin, methicillin, and nafcillin; CAMHB supplemented to 50 µg/mL calcium for daptomycin Agar dilution: MHA; MHA + 2% NaCl for oxacillin, methicillin, and nafcillin. Agar dilution has not been validated for daptomycin.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923 (Disk diffusion) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213 (MIC) <i>Escherichia coli</i> ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard	Refer to Appendixes B and C for additional testing and reporting suggestions.
Incubation:	35 ± 2 °C; ambient air; Disk diffusion: 16 to 18 hours; 24 hours (coagulase negative staphylococci and cefoxitin); Dilution methods: 16 to 20 hours; All methods: 24 hours for oxacillin, methicillin, nafcillin, and vancomycin. Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRS.	

General Comments

- (1) For disk diffusion, measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light, except for linezolid, oxacillin, and vancomycin, which should be read with transmitted light (plate held up to light source). The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter. Any discernable growth within the zone of inhibition is indicative of oxacillin, linezolid, or vancomycin resistance.
- (2) Historically, resistance to the penicillinase-stable penicillins (see Glossary I) has been referred to as "methicillin resistance"; thus, the acronyms MRSA (for "methicillin-resistant *S. aureus*") or MRS (for "methicillin-resistant staphylococci") are still commonly used, even though methicillin is no longer the agent of choice for testing or treatment. In this document, resistance to these agents may be referred to using several terms (eg, "MRS," "methicillin resistance," or "oxacillin resistance").
- (3) For oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci, results for parenteral and oral cepheims, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, and carbapenems, if tested, should be reported according to the results generated using routine interpretive criteria. See comment (4) for reporting β-lactam results on oxacillin-resistant strains.
- (4) **WARNING:** For oxacillin-resistant *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci (MRS), other β-lactam agents, ie, penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cepheims, and carbapenems, may appear active *in vitro*, but are not effective clinically. Results for these drugs should be reported as resistant or should not be reported. This is because most cases of documented MRS infections have responded poorly to β-lactam therapy, or because convincing clinical data have yet to be presented that document clinical efficacy for those agents.
- (5) Detection of oxacillin resistance: Tests for *mecA* or for the protein expressed by *mecA*, the penicillin-binding protein 2a (PBP 2a, also called PBP2'), are the most accurate methods for prediction of resistance to oxacillin and can be used to confirm results for isolates of staphylococci from serious infections. Isolates of staphylococci that carry the *mecA* gene, or that produce PBP 2a (the *mecA* gene product), should be reported as oxacillin resistant. Isolates that do not carry *mecA* or do not produce PBP 2a should be reported as oxacillin susceptible. Because of the rare occurrence of resistance mechanisms other than *mecA*, if MIC tests are performed in addition to disk diffusion, isolates for which oxacillin MICs are ≥ 4 µg/mL and are *mecA* negative or PBP 2a negative should be reported as oxacillin resistant. These isolates may test as susceptible to cefoxitin by disk diffusion.

Table 2C. (Continued)

- (6) Routine testing of urine isolates of *S. saprophyticus* is not advised, because infections respond to concentrations achieved in urine of antimicrobial agents commonly used to treat acute, uncomplicated urinary tract infections (eg, nitrofurantoin, trimethoprim ± sulfamethoxazole, or a fluoroquinolone).
- (7) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.
- (8) For screening tests for β -lactamase production, oxacillin resistance, *mecA*-mediated oxacillin resistance using ceftiofur, reduced susceptibility to vancomycin, and inducible clindamycin resistance, refer to Appendix B for *S. aureus* group and Appendix C for coagulase-negative staphylococci. In addition, further explanation on the use of ceftiofur for prediction of *mecA*-mediated oxacillin resistance can be found in Section 12 of M07-A8 and Section 11 of M02-A10.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Table 2C

Table 2C
Staphylococcus spp.
M02 and M07

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS									
(9) Penicillin-susceptible staphylococci are also susceptible to other penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cepheems, and carbapenems approved for use by the FDA for staphylococcal infections. Penicillin-resistant, oxacillin-susceptible strains are resistant to penicillinase-labile penicillins but susceptible to other penicillinase-stable penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, relevant cepheems, and carbapenems. Oxacillin-resistant staphylococci are resistant to all currently available β-lactam antibiotics. Thus, susceptibility or resistance to a wide array of β-lactam antibiotics may be deduced from testing only penicillin and oxacillin (or cefoxitin). Routine testing of other penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cepheems, and carbapenems is not advised.									
See comment (4).									
A	Penicillin	10 units	≥ 29	-	≤ 28	≤ 0.12	-	≥ 0.25	(10) Penicillin-resistant strains of staphylococci produce β-lactamase, and the testing of penicillin instead of ampicillin is preferred. Penicillin should be used to test the susceptibility of all staphylococci to all penicillinase-labile penicillins, such as ampicillin, amoxicillin, azlocillin, carbenicillin, mezlocillin, piperacillin, and ticarcillin. An induced β-lactamase test should be performed on staphylococcal isolates with penicillin MICs ≤ 0.12 µg/mL or zone diameters ≥ 29 mm before reporting the isolate as penicillin susceptible. A positive β-lactamase test predicts resistance to penicillin, ampicillin, amoxicillin, carbenicillin, ticarcillin, mezlocillin, and piperacillin. For oxacillin-resistant staphylococci, report penicillin as resistant or do not report. See Appendixes B and C.
A	Oxacillin For <i>S. aureus</i> and <i>S. lugdunensis</i> .	1 µg oxacillin	≥ 13	11-12	≤ 10	≤ 2 (oxacillin)	-	≥ 4 (oxacillin)	For <i>S. aureus</i> .
		1 µg oxacillin	-	-	-	≤ 2 (oxacillin)	-	≥ 4 (oxacillin)	For <i>S. lugdunensis</i> .
		30 µg cefoxitin	≥ 22	-	≤ 21	≤ 4 (cefoxitin)	-	≥ 8 (cefoxitin)	For <i>S. aureus</i> and <i>S. lugdunensis</i> .
									(11) Cefoxitin is used as a surrogate for oxacillin resistance; report oxacillin susceptible or resistant based on the cefoxitin result.
									See comment (9).
A	Oxacillin For coagulase-negative staphylococci except <i>S. lugdunensis</i> .	1 µg oxacillin	-	-	-	≤ 0.25 (oxacillin)	-	≥ 0.5 (oxacillin)	For coagulase-negative staphylococci except <i>S. lugdunensis</i> .
		30 µg cefoxitin	≥ 25	-	≤ 24	-	-	-	See comment (11). See comment (9).

Table 2C. (Continued)

Table 20 (Continued)									
Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINS (Continued)									
O	Ampicillin	10 µg	≥ 29	-	≤ 28	≤ 0.25	-	≥ 0.5	(12) Class representative for ampicillin and amoxicillin. (13) For oxacillin-resistant staphylococci, report ampicillin as resistant or do not report.
O	Methicillin	5 µg	≥ 14	10-13	≤ 9	≤ 8	-	≥ 16	(14) For use with <i>S. aureus</i> only.
O	Nafcillin	1 µg	≥ 13	11-12	≤ 10	≤ 2	-	≥ 4	See comment (14).
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS									
(15) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.									
See comments (4) and (9).									
O	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 µg	≥ 20	-	≤ 19	≤ 4/2	-	≥ 8/4	
O	Ampicillin-sulbactam	10/10 µg	≥ 15	12-14	≤ 11	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
O	Piperacillin-tazobactam	100/10 µg	≥ 18	-	≤ 17	≤ 8/4	-	≥ 16/4	
O	Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 µg	≥ 23	-	≤ 22	≤ 8/2	-	≥ 16/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)									
See comment (15).									
See comments (4) and (9).									
O	Cefamandole	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefazolin	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefepime	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefmetazole	30 µg	≥ 16	13-15	≤ 12	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefonicid	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefoperazone	75 µg	≥ 21	16-20	≤ 15	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefotaxime	30 µg	≥ 23	15-22	≤ 14	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Cefotetan	30 µg	≥ 16	13-15	≤ 12	≤ 16	32	≥ 64	
O	Ceftazidime	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Ceftizoxime	30 µg	≥ 20	15-19	≤ 14	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Ceftriaxone	30 µg	≥ 21	14-20	≤ 13	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Cefuroxime (parenteral)	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cephalothin	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Moxalactam	30 µg	≥ 23	15-22	≤ 14	≤ 8	16-32	≥ 64	
CEPHEMS (ORAL)									
See comment (15).									
See comments (4) and (9).									
O	Cefaclor	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefdinir	5 µg	≥ 20	17-19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefpodoxime	10 µg	≥ 21	18-20	≤ 17	≤ 2	4	≥ 8	
O	Cefprozil	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefuroxime (oral)	30 µg	≥ 23	15-22	≤ 14	≤ 4	8-16	≥ 32	
O	Loracarbef	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32	

Table 2C

Table 2C
Staphylococcus spp.
M02 and M07

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
CARBAPENEMS									
See comment (15). See comments (4) and (9).									
O	Ertapenem	10 µg	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8	
O	Imipenem	10 µg	≥ 16	14-15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16	
O	Meropenem	10 µg	≥ 16	14-15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16	
GLYCOPEPTIDES									
B	Vancomycin	-	-	-	-	≤ 2	4-8	≥ 16	For <i>S. aureus</i> . (16) MIC tests should be performed to determine the susceptibility of all isolates of staphylococci to vancomycin. The disk test does not differentiate vancomycin-susceptible isolates of <i>S. aureus</i> from vancomycin-intermediate isolates, nor does the test differentiate among vancomycin-susceptible, intermediate, and resistant isolates of coagulase-negative staphylococci, all of which will give similar size zones of inhibition. (17) The vancomycin disk test will detect <i>S. aureus</i> isolates containing the <i>vanA</i> vancomycin resistance gene (VRSA). Such isolates will show no zone of inhibition around the disk (zone = 6 mm). The identification of isolates showing no zone of inhibition should be confirmed. Isolates of staphylococci producing vancomycin zones of ≥ 7 mm should not be reported as susceptible without performing a vancomycin MIC test. (18) Send any <i>S. aureus</i> determined to have an elevated MIC for vancomycin (MIC ≥4 µg/mL) to a reference laboratory. (19) Disk testing is not reliable for testing vancomycin. See also Appendix B, Section 12.1.3 in M07-A8 and Section 11.1.3 in M02-A10.

Table 2C. (Continued)

Table 2C. (Continued)									
Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
GLYCOPEPTIDES (Continued)									
B	Vancomycin	-	-	-	-	≤ 4	8-16	≥ 32	For coagulase-negative staphylococci. See comments (16) and (19). (20) Send any coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> determined to have an elevated MIC for vancomycin (MIC ≥ 8 µg/mL) to a reference laboratory. See also Section 12.1.3 in M07-A8 and Section 11.1.3 in M02-A10.
Inv.	Teicoplanin	30 µg	≥ 14	11-13	≤ 10	≤ 8	16	≥ 32	(21) Teicoplanin disk diffusion breakpoints were not reevaluated concurrent with the reevaluation of vancomycin disk diffusion breakpoints during recent studies. Therefore, the ability of these teicoplanin breakpoints to differentiate teicoplanin-intermediate and teicoplanin-resistant staphylococci from teicoplanin-susceptible strains is not known.
LIPOPEPTIDES									
B	Daptomycin	-	-	-	-	≤ 1	-	-	(22) Disk testing is not reliable for testing daptomycin. See comment (7).
AMINOGLYCOSIDES									
C	Gentamicin	10 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Amikacin	30 µg	≥ 17	15-16	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64	
O	Kanamycin	30 µg	≥ 18	14-17	≤ 13	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	30 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	
O	Tobramycin	10 µg	≥ 15	13-14	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
MACROLIDES									
(23) Not routinely reported on organisms isolated from the urinary tract.									
A	Azithromycin or clarithromycin or erythromycin	15 µg	≥ 18	14-17	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
A		15 µg	≥ 18	14-17	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8	
A		15 µg	≥ 23	14-22	≤ 13	≤ 0.5	1-4	≥ 8	
O	Dirithromycin	15 µg	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8	
KETOLIDES									
B	Tellithromycin	15 µg	≥ 22	19-21	≤ 18	≤ 1	2	≥ 4	

Table 2C

Table 2C
Staphylococcus spp.
M02 and M07

Table 2C. (Continued)

Table 2C. (Continued)									
Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
TETRACYCLINES									
(24) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.									
B	Tetracycline	30 µg	≥ 19	15-18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	
B	Doxycycline	30 µg	≥ 16	13-15	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	30 µg	≥ 19	15-18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES									
(25) <i>Staphylococcus</i> spp. may develop resistance during prolonged therapy with quinolones. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.									
C	Ciprofloxacin or	5 µg	≥ 21	16-20	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	(26) FDA-approved for <i>S. saprophyticus</i> and <i>S. epidermidis</i> (not <i>S. aureus</i>).
C	levofloxacin or	5 µg	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
C	ofloxacin	5 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 1	2	≥ 4	
C	Moxifloxacin	5 µg	≥ 24	21-23	≤ 20	≤ 0.5	1	≥ 2	
U	Lomefloxacin	10 µg	≥ 22	19-21	≤ 18	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	10 µg	≥ 17	13-16	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16	
O	Enoxacin	10 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 23	20-22	≤ 19	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 1	2	≥ 4	
O	Sparfloxacin	5 µg	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 0.5	1	≥ 2	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8	

Table 2C. (Continued)

Table 20. (Continued)									
Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Breakpoints, nearest whole mm			MIC Interpretive Standard (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
NITROFURANTOINS									
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥ 17	15-16	≤ 14	≤ 32	64	≥ 128	
LINCOSAMIDES									
A	Clindamycin	2 µg	≥ 21	15-20	≤ 14	≤ 0.5	1-2	≥ 4	(27) Inducible clindamycin resistance can be detected by disk diffusion using the D-zone test and by broth microdilution using a single well containing a combination of erythromycin and clindamycin. See Appendixes B and C, Section 12 in M02-A10, and Section 13 in M07-A8 for current recommendations.
See comment (23).									
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 16	11-15	≤ 10	≤ 2/38	-	≥ 4/76	
U	Sulfonamides	250 or 300 µg	≥ 17	13-16	≤ 12	≤ 256	-	≥ 512	(28) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
U	Trimethoprim	5 µg	≥ 16	11-15	≤ 10	≤ 8	-	≥ 16	
PHENICOLS									
C	Chloramphenicol	30 µg	≥ 18	13-17	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	See comment (23).
ANSAMYCINS									
B	Rifampin	5 µg	≥ 20	17-19	≤ 16	≤ 1	2	≥ 4	(29) Rx: Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.
STREPTOGRAMINS									
C	Quinupristin-dalfopristin	15 µg	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4	
OXAZOLIDINONES									
B	Linezolid	30 µg	≥ 21	-	-	≤ 4	-	-	See comment (7).
(30) When testing linezolid, disk diffusion zones should be examined using transmitted light. Organisms with nonsusceptible results should be confirmed using an MIC method.									

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)