

Emergência de *Staphylococcus aureus* resistentes aos antimicrobianos: um desafio contínuo

The emergency of antimicrobial-resistant Staphylococcus aureus: a continuing challenge

Caio Ferreira de Oliveira¹, Alexandre Tadachi Morey², Renata Perugini Biasi-Garbin¹, Márcia Regina Eches Perugini³, Lucy Megumi Yamauchi², Sueli Fumie Yamada-Ogatta^{2*}

¹Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. UEL, PR; ²Docente do Departamento de Microbiologia. Centro de Ciências Biológicas. UEL, PR; ³Docente do Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas. Centro de Ciências da Saúde. UEL, PR.

Resumo

Objetivo: Descrever o conhecimento atual dos principais mecanismos de resistência aos β -lactâmicos e glicopeptídeos apresentados por *Staphylococcus aureus*. **Metodologia:** Foram selecionados artigos de pesquisa originais e de revisão disponíveis nas bases de dados PubMed, Portal Periódicos CAPES e SCIELO. Os seguintes descritores foram utilizados: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), MRSA infection, vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA), heterogeneous-VISA (hVISA), staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*). A seleção dos artigos foi baseada em dois critérios: 1) publicação entre os anos 2000 e 2014 (até a data de submissão); 2) artigos cujos autores contribuíram com descobertas relevantes sobre os temas, independente do ano de publicação. **Resultados:** As consultas realizadas nos bancos de dados resultaram em 268 artigos, dos quais 59 foram utilizados para escrita dessa revisão. **Conclusão:** As comunidades, médica e científica, são constantemente desafiadas com a emergência de bactérias resistentes aos antimicrobianos. MRSA continua sendo um grande problema de saúde pública no mundo todo. Resistência aos glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina), uma das últimas escolhas para o tratamento intravenoso de infecções causadas por cepas de MRSA também tem sido descrita. A partir deste novo cenário, observou-se o surgimento de VRSA (vancomycin-resistant *S. aureus*), VISA (vancomycin-intermediate *S. aureus*) e hVISA (heterogeneous-VISA). Esses dados indicam a necessidade urgente de adoção de métodos mais sensíveis e rigorosos para detecção dessas cepas no laboratório de microbiologia clínica. Esta medida pode contribuir no sucesso do tratamento e prevenção de infecções causadas por essas bactérias.

Palavras-chave: Beta-lactâmicos. Glicopeptídeos. Oxacilina. Meticilina.

Abstract

Objective: To describe the current knowledge of the major mechanisms of resistance to β -lactams and glycopeptides presented by *Staphylococcus aureus*. **Methodology:** Original research and review articles were selected by searching the PubMed, Portal de Periódicos CAPES and SCIELO bibliographic databases. The following descriptors were used: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), MRSA infection, vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA), heterogeneous-VISA (hVISA), staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*). The selection of the articles was based on two criteria: 1) published between the years 2000 and 2014 (until the submission); 2) articles whose authors contributed with important insights into the issues, regardless of the year of publication. **Results:** Search in databases resulted in 268 articles, of which 59 were used for writing this review. **Conclusion:** The medical and scientific communities are continuously challenged with the emergence of antimicrobial-resistant bacteria. MRSA remains a major public health problem worldwide. Resistance to glycopeptides (vancomycin and teicoplanin), one of the last alternative for the intravenous treatment of infections caused by MRSA strains have also been described. From this new scenario, it was observed the emergence of VRSA (vancomycin-resistant *S. aureus*), VISA (vancomycin-intermediate *S. aureus*) and hVISA (heterogeneous-VISA). Altogether, these data indicate the urgent need to adopt more sensitive and accurate method for the detection of these strains in clinical microbiology laboratory. This measure can contribute for the successful of treatment and prevention of infections caused by these bacteria.

Keywords: Beta-Lactams. Glycopeptides. Oxacillin. Methicillin.

INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Staphylococcus* vivem como comensais em diversos sítios anatômicos de humanos e outros animais, sendo *Staphylococcus aureus* a espécie de

maior importância médica. Este microrganismo pode ser componente da microbiota normal da pele e membranas mucosas humanas, em especial a mucosa nasal¹.

S. aureus é um patógeno oportunista capaz de produzir infecções em diversos tecidos do corpo humano e está associado a altas taxas de morbidade e mortalidade, constituindo-se em uma das principais causas de infecções adquiridas tanto na comunidade como em ambiente hospitalar². A maioria das infecções

Correspondente / Corresponding: *Sueli Fumie Yamada-Ogatta, Universidade Estadual de Londrina – Departamento de Microbiologia – Centro de Ciências Biológicas. Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445, km 380, Campus Universitário, Cx. Postal 10.011 CEP. 86.057-970 Londrina – PR. E-mail: ogatta@uel.br

provocadas por *S. aureus* resulta de portadores assintomáticos, em que o indivíduo pode ser colonizado por períodos curtos ou longos, causando doença quando há algum comprometimento do sistema imunológico³. Aproximadamente 20% da população podem ser considerados portadores persistentes, sendo a maioria crianças. Por outro lado, uma grande parte da população (60%) alberga *S. aureus* de forma intermitente¹.

A colonização persistente por *S. aureus* pode ter um efeito protetor contra a aquisição de outros patógenos, porém, esta barreira é reduzida ou eliminada quando os hospedeiros são submetidos à terapia com antimicrobianos⁴. Assim, a aquisição e a transmissão de cepas resistentes de *S. aureus* é preocupante principalmente no ambiente hospitalar, uma vez que indivíduos colonizados apresentam risco elevado de desenvolverem infecção invasiva por estes microrganismos⁵.

O desenvolvimento das doenças causadas por *S. aureus* está associado, além das características do hospedeiro, com a expressão de fatores de virulência que permitem colonização persistente, disseminação no hospedeiro e a evasão do sistema imunológico. O conjunto de fatores de virulência necessários para causar a doença depende do local da infecção, e este pode ser determinante na disseminação da bactéria⁶.

Tentativas de desenvolver uma vacina contra este patógeno até o momento não apresentaram resultados satisfatórios⁷, assim, a terapia com antimicrobianos é ainda a principal estratégia no combate a infecções por *S. aureus*^{3,8}.

Devido à elevada frequência de isolamento de *S. aureus* multirresistentes em hospitais e disseminação de resistência tanto no ambiente hospitalar como na comunidade, o objetivo deste trabalho foi revisar a literatura atual sobre os principais mecanismos de resistência aos β -lactâmicos e glicopeptídeos, antimicrobianos de escolha para o tratamento das infecções causadas por esta bactéria.

METODOLOGIA

Foram realizadas buscas em três bases de dados bibliográficos – Literatura Internacional em Ciências da Saúde (PubMed), Portal Periódicos CAPES e SCIELO, utilizando os descritores: *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), MRSA infection, *vancomycin-intermediate S. aureus* (VISA), *heterogeneous-VISA* (hVISA), *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec). Os critérios utilizados para seleção dos artigos foram: pesquisas originais e revisões, escritas em língua inglesa, publicadas entre os anos 2000 e 2014, e artigos cujos autores contribuíram com descobertas relevantes sobre os temas, independente do ano de publicação.

RESULTADOS

As consultas realizadas nos bancos de dados, utilizando-se os descritores, resultaram em 268 artigos. Foram selecionados 59 artigos com informações úteis para

escrita dessa revisão. Os principais temas relacionados aos mecanismos de resistência aos β -lactâmicos e glicopeptídeos foram organizados por assunto e apresentados na discussão.

DISCUSSÃO

RESISTÊNCIA AOS BETA-LACTÂMICOS

No início dos anos 1940, a penicilina era o fármaco de escolha para o tratamento de infecções por *S. aureus*. Este antimicrobiano se liga especificamente à DD-transpeptidase, uma proteína de ligação à penicilina (PBP2 – do inglês *Penicillin-Binding Protein 2*), que catalisa a formação de pontes cruzadas entre as subunidades do peptidoglicano da parede celular bacteriana⁹. Contudo, já em 1942 foi relatado o primeiro caso de resistência a este fármaco, devido à aquisição do gene plasmidial que codifica a penicilinase ou β -lactamase. Esta enzima degrada o anel β -lactâmico da penicilina, inativando-a. A introdução de penicilinas semissintéticas resistentes às penicilinas, como a metilina, na década de 1960, possibilitou um avanço na terapêutica, porém, logo se detectou resistência a metilina em *S. aureus*^{8,10}.

S. aureus resistente à metilina (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus* – MRSA) foi primeiramente reportado em 1961, no Reino Unido, quase dois anos após a introdução da metilina no mercado. O mecanismo de resistência a este antimicrobiano mais disseminado entre MRSA é mediado por uma PBP (de aproximadamente 77 kDa) denominada de PBP2' ou PBP2a, devido sua localização entre PBP1 e PBP2, após migração em gel de poliácridamida¹¹. PBP2a é codificada pelo gene *mecA*, o qual encontra-se inserido em uma região de DNA conhecida como cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCCmec – *staphylococcal cassette chromosome mec*)¹².

SCCmec é um elemento genético móvel, variando de 20–67 kb, flanqueado por sequências repetidas diretas (RD) contendo as sequências do sítio de integração de SCC que são reconhecidas por recombinases e, encontra-se integrado em um sítio específico (*attBsc*) localizado próximo à origem de replicação do DNA de *S. aureus*. SCCmec é organizado em dois complexos gênicos principais, *mec* e *ccr* (*cassette chromosome recombinase*), que são flanqueados por regiões denominadas J1, J2 e J3 (J da palavra em inglês *joining*), as quais são utilizadas para classificar os diferentes subtipos de SCCmec^{13,14}. Além disso, SCCmec apresenta sequências repetidas e invertidas (RI) nas suas extremidades. Assim este segmento de DNA tem a estrutura básica -RD-RI-J3-complexo *mec*-J2-complexo *ccr*-J1-RI-RD¹⁵.

O complexo gênico *mec* codifica resistência à metilina e é composto pelos genes *mecA*, *mecR1*, *mecI* e sequências de inserção localizadas a jusante e a montante de *mecA*^{16,17,18,19}, enquanto o complexo *ccr* codifica uma ou mais recombinases sítio-específicas (genes *ccr*), as quais são responsáveis pela mobilidade de SCCmec. Diversos tipos de SCCmec surgiram por meio da transferência

horizontal em eventos independentes e, até a presente data, onze tipos (I a XI) foram descritos em *S. aureus* de diferentes origens^{13,14}. Cada tipo de SCCmec é definido pela combinação da classe do gene *mecA* e tipo de *ccr*, por exemplo, SCCmec tipo I carrega o gene *mec* da classe B e o tipo 1 de *ccr*, enquanto SCCmec tipo II carrega o gene *mec* da classe A e tipo 2 de *ccr*¹⁵.

A expressão do gene *mecA*, um segmento de DNA de 2,1 kb, é controlada pelos genes *mecR1* e *mecl*. O *mecl* codifica uma proteína repressora que se liga ao operador localizado na região promotora do gene *mecA*, inibindo sua transcrição. Esta repressão é revertida em presença da metilina ou qualquer outro β -lactâmico no meio (mecanismo de indução)²⁰, já MecR1, produto do gene *mecR1*, é uma proteína sensora de membrana envolvida em um sistema de transdução de sinal, a qual reconhece a presença de β -lactâmico pelo seu domínio de ligação à penicilina extracelular. O domínio citoplasmático apresenta atividade de protease e degrada Mecl, permitindo assim a transcrição do gene *mecA*^{21,22}.

PBP2a atua como uma DD-transpeptidase e apresenta baixa afinidade pelas penicilinas e outros β -lactâmicos, exceto a cefalosporina ceftaroline²³. Este polipeptídeo mantém-se ativo mesmo em presença dos antimicrobianos, permitindo assim a formação das pontes cruzadas do peptidoglicano, durante a biossíntese da parede celular^{21,24}. Em casos raros, o mecanismo de resistência a metilina está associado com a hiperprodução de β -lactamase, PBPs alteradas (1, 2 e 4) e hiperprodução de PBP4^{25,26}.

Devido à aquisição de resistência aos antimicrobianos, MRSA tem se perpetuado nos ambientes de assistência à saúde, devido a pressão seletiva exercida pelo uso dos mesmos²⁷, aumentando os custos e complicações, sobretudo em pacientes imunocomprometidos e/ou internados em UTIs²⁸. De fato, MRSA é, atualmente, o patógeno mais comumente identificado como agente de infecções nos hospitais em muitas partes do mundo, incluindo Europa, Américas, Norte da África, Oriente Médio e Leste da Ásia^{28,29,30}.

Dados do *National Nosocomial Infection Surveillance System* (NNISS) mostram que MRSA foi responsável por 59,5% das infecções causadas por *S. aureus* em UTIs de vários hospitais nos EUA (2006-2007)²⁹. Ainda neste país, no ano de 2011, o número de pacientes com infecção por MRSA foi de 80.461, sendo que 11.285 casos resultaram em morte³⁰. Dados derivados do Programa SENTRY de Vigilância a Resistência Antimicrobiana englobando Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Venezuela e Uruguai mostram que MRSA é causa comum de bacteremia em pacientes hospitalizados, com prevalência de 21,6%^{31,32,33}. No Brasil, a frequência de isolamento de *S. aureus* e sua relação com infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) atingem valores elevados. Em muitos hospitais brasileiros, o isolamento de MRSA varia de 30 a 80%^{10,13,21}.

MRSAs de origem hospitalar (HA-MRSA: *healthcare-associated-MRSA*) estão fortemente associados aos tipos

I, II e III de SCCmec. Estas cepas apresentam resistência a múltiplos antimicrobianos além dos β -lactâmicos, como os macrolídeos, aminoglicosídeos, tetraciclina, rifampicina, cotrimoxazol e quinolonas³⁴. Em 1990, relatos de infecções causadas por MRSA em indivíduos saudáveis, na comunidade, sem histórico de internação hospitalar, foram reportados na Austrália e Nova Zelândia, e posteriormente nos EUA^{35,36}. Desde então, surtos de infecção por CA-MRSA (*community-associated-MRSA*) em ambientes de assistência à saúde têm sido descritos no mundo todo³⁷.

CA-MRSAs apresentam características fenotípicas e genéticas distintas, quando comparadas às cepas típicas isoladas nos hospitais. A maioria dos CA-MRSAs pertence aos tipos IV ou V de SCCmec, apresenta resistência apenas aos antimicrobianos β -lactâmicos, carrega genes que codificam a leucocidina de Panton-Valentine (PVL)^{38,39}. Além disso, CA-MRSAs são identificados na comunidade ou em até 48 horas após a admissão hospitalar, em indivíduos sem histórico prévio de assistência à saúde, tais como hospitalização, diálise, cirurgia ou utilização de material médico implantado no último ano⁴⁰. Em virtude dessas características, as infecções causadas por MRSA devem ser analisadas quanto ao tipo de bactéria isolada (CA-MRSA ou HA-MRSA), aquisição da infecção e isolamento inicial de MRSA (na comunidade ou em ambientes de assistência à saúde)⁴¹.

RESISTÊNCIA AOS GLICOPEPTÍDEOS

Devido à resistência aos β -lactâmicos, os glicopeptídeos, vancomicina e teicoplanina, são utilizados no tratamento das infecções causadas por MRSA desde 1958^{42,43}. Estes antimicrobianos são inibidores da biossíntese da parede celular, ligando-se ao terminal carboxílico de resíduos de D-ala-D-ala precursor do peptidoglicano, formando um complexo não covalente estável, impedindo a sua utilização na biossíntese da parede celular²⁷. Apesar do uso substancial de glicopeptídeos desde sua introdução na clínica médica, falha na terapia antimicrobiana com teicoplanina em infecções causadas por *S. aureus* foi reportado somente nos anos de 1990 nos EUA e Europa^{44,45}.

O primeiro relato de isolamento de *S. aureus* apresentando sensibilidade reduzida à vancomicina foi realizado por Hiramatsu e colaboradores em 1997, no Japão. Estas cepas apresentaram, por metodologia de microdiluição em caldo, fenótipo de sensibilidade intermediária à vancomicina (VISA – *vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus*), com concentração inibitória mínima (CIM) de vancomicina de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, e fenótipo de heteroresistência à vancomicina (hVISA – *heteroresistant vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus*), com CIM de vancomicina de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sendo denominados cepa Mu50 e Mu3, respectivamente^{46,47}. Não há consenso quanto a definição de hVISA, entretanto esta terminologia é empregada para *S. aureus* que apresentam CIM para vancomicina dentro da faixa de sensível, mas que contêm uma subpopulação de células que apresentam valores maiores de CIM para o antimicrobiano, quando testes

utilizando alta densidade celular ou tempo de incubação prolongado são utilizados⁴⁸.

O primeiro isolamento de VRSA (*vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*) foi reportado nos EUA, em 2002. Neste caso, o mecanismo de resistência a este antimicrobiano era mediado pelo gene *vanA*, que foi adquirido de *Enterococcus faecalis* por transferência horizontal⁴⁹. Posteriormente, foram descritos VRSA na Índia e Irã e, a partir de então, medidas de detecção de VISA ou VRSA em outros países foram intensificadas e como consequência a ocorrência desta bactéria já foi reportada nos EUA, Coreia do Sul, China e Reino Unido²⁷. A Tabela 1 mostra os valores de CIM para definição da sensibilidade/resistência a vancomicina para *S. aureus*.

Tabela 1 – Definições para o perfil de sensibilidade à vancomicina de *Staphylococcus aureus*

Classificação	CIM ^a		Comentário
	EUCAST	CLSI	
Sensível (VSSA)	≤ 2	≤ 2	hVISA é classificado fenotipicamente nesta categoria. Para confirmação são necessários testes adicionais, como o PAP
Intermediário (VISA)	–	4-8	EUCAST não utiliza esta categoria
Resistente (VRSA)	≥ 4	≥ 16	–

^aCIM: Concentração inibitória mínima determinada por microdiluição em caldo. Valores expressos em µg/mL.; EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute; VSSA: *vancomycin-susceptible Staphylococcus aureus*; VISA: *vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus*; VRSA: *vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*; PAP: *Population Analysis Profile*.

Fonte: HOWDEN et al.⁴²

A maioria dos VISA e hVISA parece surgir em pacientes com histórico de infecções por MRSA sensíveis a este antimicrobiano *in vitro*, e apresentam falha na terapia com vancomicina^{50,51,52}. Vários fatores contribuem para a evolução de um VSSA (*vancomycin-susceptible Staphylococcus aureus*) a hVISA e VISA. Dentre eles, a exposição à vancomicina é o mais evidente. Todavia, outras classes de antimicrobianos podem contribuir para a emergência de *S. aureus* com sensibilidade intermediária a vancomicina. Neste contexto, foi mostrado que o imipenem, um β-lactâmico, induziu a geração *in vitro* de hVISA com perfil fenotípico similar àquele induzido por vancomicina^{3,27,43,53}.

Determinantes moleculares de resistência em hVISA e VISA ainda desafiam os pesquisadores. O número de *loci* genéticos que pode estar associado ao desenvolvimento de hVISA e VISA é grande, assim como os tipos de mutações que ocorrem neles, como simples substituição de base nitrogenada ou deleção da mesma. O sequenciamento de seus genomas mostra que mutações sequenciais, pre-

dominantemente em genes que codificam reguladores celulares globais, que alteram parcial ou totalmente suas funções são responsáveis pela emergência da resistência. Entre eles, estudos indicam que os genes regulatórios (sistema regulatório de dois componentes) *walkR*, *vraRS* e *graRS*, bem como o gene que codifica a subunidade B da RNA polimerase (*rpoB*) estão fortemente associados ao fenótipo VISA^{54,55,56,57}. Uma das consequências dessas mutações é a alteração na espessura e composição da parede celular de hVISA e VISA e, muitas vezes, estas células crescem em múltiplos agregados celulares. Em geral, a parede celular contém aumento de terminações livres de resíduos de D-ala-D-ala, bem como número reduzido de ligações cruzadas entre as subunidades do peptidoglicano. O espessamento da parede resulta, funcionalmente, na prevenção da difusão da vancomicina para o septo de divisão celular, local de ação do fármaco²⁷.

A epidemiologia de hVISA e VISA ainda é incerta, devido às dificuldades laboratoriais de se detectar estas cepas. A identificação de VISA e hVISA ainda é um desafio para os profissionais de laboratórios clínicos. Além do espessamento da parede, estes microrganismos apresentam crescimento lento, formam colônias pequenas, e ocorre redução na formação de pigmentos e da atividade da coagulase, que é utilizada como marcador fenotípico de *S. aureus*. Assim, VISA e hVISA podem ser erroneamente identificados como *Staphylococcus coagulase negativo* (CoNS) no laboratório clínico de rotina. Devido a isto, a detecção do gene *coa* (codifica a coagulase) por reação em cadeia da polimerase (PCR) vem sendo empregada para discriminar *S. aureus* de CoNS^{27,58}.

Vários métodos para detecção de VISA e hVISA foram desenvolvidos, porém, mostram-se muitas vezes ineficientes, laboriosos ou de custo elevado para serem aplicados na rotina do laboratório clínico. Dentre eles o *E-TEST*® com incubação de 48 horas, *E-TEST*® macrométodo utilizando-se alta densidade celular (6 x 10⁸ UFC/mL) e incubação por 48 horas e o *E-TEST*® GRD são utilizados para triagem de hVISA. Entretanto, o padrão ouro utilizado para detecção de hVISA é o PAP (do inglês *Population Analysis Profile*)⁴³. Esta metodologia baseia-se em calcular a área sobre a curva (AUC: do inglês *area under the curve*), gerada após o crescimento de diferentes densidades celulares (10⁵ e 10² UFC/mL) em presença de concentrações variadas de vancomicina (0-8 µg/mL) em meio BHI (*Brain Heart Infusion*) ágar. Quando a razão entre as AUCs da amostra teste e da cepa de referência Mu3 ATCC® 700698 for ≥0,9, a amostra testada é considerada hVISA⁵⁹.

CONCLUSÃO

Desde o surgimento dos primeiros *S. aureus* resistentes aos antimicrobianos, este patógeno vem desafiando os microbiologistas e profissionais da saúde. É notória que a aquisição de resistência aos antimicrobianos seja uma forma da bactéria se perpetuar diante da pressão seletiva exercida pelo uso dos mesmos. Contudo, a resistência aos antimicrobianos diminui as opções para o

tratamento e agrava os quadros de infecções por *S. aureus* multirresistentes.

A resistência à metilina apresentada por *S. aureus* continua sendo um grande problema de saúde pública no mundo todo. Além disso, a emergência de VRSA, VISA e hVISA desafia a medicina moderna, uma vez que os glicopeptídeos apresentam-se como uma das últimas opções disponíveis para o tratamento de infecções graves causadas por MRSA.

A existência de CA-MRSA e HA-MRSA, além de VISA, hVISA e VRSA indica a necessidade urgente de métodos mais sensíveis e rigorosos para detecção dessas cepas no laboratório de microbiologia clínica. Esta medida pode contribuir no controle, bem como no tratamento das infecções causadas por essas bactérias, minimizando o uso inadequado de antimicrobianos e consequentemente a seleção de cepas resistentes.

REFERÊNCIAS

1. KLUYTMANS, J.; BELKUM, A. V.; VERBRUGH, H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington, v. 10, n. 3, p. 505–520, jul. 1997.
2. FRANCOIS, P. et al. Evaluation of three molecular assays for rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 45, n. 6, p. 2011–2013, jun. 2007. Some aspects of nasal carriage of staphylococci
3. HOLMES, N. E. et al. Relationship between vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-intermediate *S. aureus*, high vancomycin MIC, and outcome in serious *S. aureus* infections. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 50, n. 8, p. 2548–2552, aug. 2012.
4. NOBLE, W. C. et al. Some aspects of nasal carriage of staphylococci. **J. Clin. Pathol.**, Londres, v. 17, n. 1, p. 79–83, 1964.
5. CALFEE, D. P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci, and other Gram-positives in healthcare. **Curr. Opin. Infect Dis.**, Londres, v. 25, n. 4, p. 385–394, 2012.
6. VANDENESCH, F. et al. *Staphylococcus aureus* hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: a redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, Lausanne, v. 2, n. 12, p. 1–15, 2012.
7. BAGNOLI, F. et al. Inferring reasons for the failure of *Staphylococcus aureus* vaccines in clinical trials. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, Lausanne, v. 2, n. 16, p. 1–4, 2012. LOWY, F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Invest.**, Michigan, v. 111, n. 9, p. 1265–1273, dec. 2003.
8. YOCUM, R. R. et al. [Mechanism of penicillin action: penicillin and substrate bind covalently to the same active site serine in two bacterial D-alanine carboxypeptidases.](#) **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, Washington, v. 76, n. 6, p. 2730–2734, june 1979.
9. DUMITRESCU, O. et al. Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. **Med. Sci.**, Paris, v. 26, n. 11, p. 943–949, 2010.
10. REYNOLDS, P. E.; BROWN, D. F. Penicillin-binding proteins of beta-lactam-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. Effect of growth conditions. **FEBS Lett.**, Heidelberg, v. 192, n. 1, p. 28–32, may 1985.
11. SJÖSTRÖM, J. E.; LÖFDAHL, S.; PHILIPSON, L. Transformation reveals a chromosomal locus of the gene(s) for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **J. Bacteriol.**, Washington, v. 123, n. 3, p. 905–915, sep. 1975.
12. INTERNATIONAL working group on the classification of staphylococcal cassette chromosome elements (IWG-SCC). Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*): Guidelines for reporting novel SCC*mec* elements. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 53, n. 12, p. 4961–4967, dec. 2009.
13. SHORE, A. C. et al. Detection of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 55, n. 8, p. 3765–3773, aug. 2011.
14. HIRAMATSU, K. et al. Genomic basis for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Infect. Chemother.**, Seul, v. 45, n. 2, p. 117–136, 2013.
15. MATSUHASHI, M. et al. Molecular cloning of the gene of a penicillin-binding protein supposed to cause high resistance to beta-lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. **J. Bacteriol.**, Washington, v. 167, n. 3, p. 975–980, sep. 1986.
16. SONG, M. D. et al. Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. **FEBS Lett.**, Heidelberg, v. 221, n. 1, p. 167–171, 1987.
17. TESCH, W. et al. Evidence of a novel staphylococcal *mec*-encoded element (*mecR*) controlling expression of penicillin-binding protein 2'. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 34, n. 9, p. 1703–1706, sep. 1990.
18. HIRAMATSU, K. et al. Molecular cloning and nucleotide sequence determination of the regulator region of *mecA* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **FEBS Lett.**, Heidelberg, v. 298, n. 2–3, p. 133–136, 1992.
19. UBUKATA, K.; YAMASHITA, N.; KONNO, M. Occurrence of a beta-lactam-inducible penicillin-binding protein in methicillin-resistant staphylococci. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 27, n. 5, p. 851–857, may 1985.
20. ITO, T.; HIRAMATSU, K. Acquisition of methicillin resistance and progression of multiantibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Yonsei Med. J.**, Seoul, v. 39, n. 6, p. 526–533, dec. 1998.
21. KATAYAMA, Y. et al. A new class of genetic element, staphylococcal cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 44, n. 6, p. 1549–1555, jun. 2000.
22. POTTINGER, P. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Med. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 97, n. 4, p. 601–619, jul. 2013.
23. DAUM, R. S.; ITO, T. et al. A novel methicillin-resistance cassette in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of diverse genetic backgrounds. **J. Infect. Dis.**, Oxford, v. 186, n. 9, p. 1344–1347, 2002.
24. REISCHL, U. et al. Rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and simultaneous species confirmation using real-time fluorescence PCR. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 38, n. 6, p. 2429–2433, jun. 2000.
25. YOSHIDA, R. et al. Physiological and molecular analysis of a *mecA*-negative *Staphylococcus aureus* clinical strain that express heterogeneous methicillin resistance. **J. Antimicrob. Chemother.**, Oxford, v. 51, n. 2, p. 247–255, 2005.
26. HOWDEN, B. P. et al. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington, v. 23, n. 1, p. 99–139, jan. 2010.
27. CARVALHO, K. S. et al. Methicillin/Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a hospital and public health threat in Brazil. **Braz. J. Infec. Dis.**, Salvador, v. 14, n. 1, p. 71–76, jan./feb. 2010.

28. HIDRON, A. I. et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. **Infect Cont. Hosp. Epidemiol.**, Chicago, v. 29, n. 11, p. 996-1011, 2008.
29. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic resistance threats in the United States, 2013** (Online). Atlanta: U. S. Department of Health and Human Services, 2013. Disponível em: < <http://www.cdc.gov/drug-resistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>>. Acesso em: 5 mar. 2014.
30. BIEDENBACH, D. J. et al. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, Philadelphia, v. 50, n. 1, p. 59-69, sep. 2004.
31. FOWLER, V. G. J. et al. *Staphylococcus aureus* endocarditis: a consequence of medical progress. **JAMA**, Chicago, v. 293, n. 24, p. 3012-3021, jun. 2005.
32. COREY, G. R. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: definitions and treatment. **Clin. Infect. Dis.**, Oxford, v. 48, n. 4, p. 254-259, may 2009.
33. HIRAMATSU, K. Vancomycin resistance in staphylococci. **Drug Resist. Updat.**, Philadelphia, v. 1, n. 2, p. 135-150, jul. 1998.
34. UDO, E. E.; PEARMAN, J. W.; GRUBB, W. B. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 25, n. 2, p. 97-108, 1993.
35. HEROLD, B. C. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. **JAMA**, Philadelphia, v. 279, n. 8, p. 593-598, 1998.
36. OTTER, J. A.; FRENCH, G. L. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains as a cause of healthcare-associated infection. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 79, n. 3, p. 189-193, nov. 2011.
37. GRAHAM, P. L. 3RD; LIN, S. X.; LARSON, E. L. A U.S. population-based survey of *Staphylococcus aureus* colonization. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 144, n. 5, p. 318-325, 2006.
38. NAIMI, T. S. et al. Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. **JAMA**, Philadelphia, v. 290, n. 22, p. 2976-2984, 2003.
39. MILLAR, B. C. et al. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 67, n. 2, p. 109-113, apr. 2007.
40. OTTER, J. A.; FRENCH, G. L. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the case for a genotypic definition. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 81, n. 3, p. 143-148, 2012.
41. HOWDEN, B. P.; PELEG, A. Y.; STINEAR, T. P. The evolution of vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogenous-VISA. **Infect. Genet. Evol.**, Califórnia, v. 21, p. 575-582, sep. 2014.
42. HAL, S. J. V.; FOWLER, V. G. Jr. Is it time to replace vancomycin in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections? **Clin. Infect. Dis.**, Oxford, v. 56, n. 12, p. 1779-1788, apr. 2013.
43. KAAZ, G. W. et al. Emergence of teicoplanin resistance during therapy of *Staphylococcus aureus* endocarditis. **J. Infect. Dis.**, Oxford, v. 162, n. 1, p. 103-108, 1990.
44. MANQUAT, G. et al. Failure of teicoplanin treatment associated. **J. Antimicrob. Chemother.**, Oxford, v. 29, n. 6, p. 731-732, jul. 1992.
45. HIRAMATSU, K. et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. **The Lancet**, Oxford, v. 350, n. 9092, p. 1670-1673, apr. 1997.
46. HIRAMATSU, K. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **J. Antimicrob. Chemother.**, Oxford, v. 40, n. 1, p. 135-136, dec. 1997.
47. HIRAMATSU, K. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Trends Microbiol.**, Cambridge, v. 9, n. 10, p. 486-493, 2001.
48. PÉRICHON, B.; COURVALIN, P. VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 53, n. 11, p. 4580-4587, may 2009.
49. PILLAI, S. K. et al. Development of reduced vancomycin susceptibility in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. **Clin. Infect. Dis.**, Oxford, v. 49, n. 8, p. 1169-1174, sep. 2009.
50. TENOVER, F. C. et al. Characterization of a *Staphylococcus aureus* strain with progressive loss of susceptibility to vancomycin and daptomycin during therapy. **Int. J. Antimicrob. Agents**, Philadelphia, v. 33, n. 6, p. 564-568, 2009.
51. GAO, W. et al. Two novel point mutations in clinical *Staphylococcus aureus* reduce linezolid susceptibility and switch on the stringent response to promote persistent infection. **PLoS Pathog.**, San Francisco, v. 6, n. 6, p. 1-15, jun. 2010.
52. KATAYAMA, Y. et al. Selection of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* by imipenem. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 53, n. 8, p. 3190-3196, 2009.
53. SHOJI, M. et al. Walk and clpP mutations confer reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 55, n. 8, p. 3870-3881, jun. 2011.
54. HAFER, C. et al. Contribution of selected gene mutations to resistance in clinical isolates of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 56, n. 11, p. 5845-5851, 2012.
55. VIDAILLAC, C. et al. Alternative mutational pathways to intermediate resistance to vancomycin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Infect. Dis.**, Oxford, v. 208, n. 1, p. 67-74, jul. 2013.
56. CUI, L et al. DNA microarray-based identification of genes associated with glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 49, n. 8, p. 3404-3413, aug. 2005.
57. TIWARI, H. K.; SAPKOTA, D.; SEN, M. R. Evaluation of different tests for detection of *Staphylococcus aureus* using coagulase (*coa*) gene PCR as the gold standard. **Nepal Med. Coll. J.**, Kathmandu, v. 10, n. 2, p. 129-131, jun. 2008.
58. WOOTTON, M. et al. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. **J. Antimicrob. Chemother.**, Oxford, v. 47, n. 4, p. 399-403, apr. 2001.

Submetido em: 12.03.2014

Aceito em: 26.08.2014