



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

DIOGO CESAR CARRARO

**DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA RESISTÊNCIA A
ANTIMICROBIANOS E RELAÇÃO COM A TIPAGEM
SCCMEC DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLADOS DE
PELE E PARTES MOLES EM UM HOSPITAL NA REGIÃO
SUL DO BRASIL ENTRE OS ANOS 2000 E 2019**

Londrina
2019

DIOGO CESAR CARRARO

**DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA RESISTÊNCIA A
ANTIMICROBIANOS E RELAÇÃO COM A TIPAGEM
SCCMEC DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLADOS DE
PELE E PARTES MOLES EM UM HOSPITAL NA REGIÃO
SUL DO BRASIL ENTRE OS ANOS 2000 E 2019**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção de título de Mestre em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial.

Orientadora: Profa. Dra. Marcia Regina Eches Perugini

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

D591 Carraro, Diogo Cesar .
Distribuição temporal da resistência a antimicrobianos e relação com a tipagem SCCmec de *Staphylococcus aureus* isolados de pele e partes moles em um hospital na região sul do Brasil entre os anos de 2000 e 2019 / Diogo Cesar Carraro. - Londrina, 2019.
80 f. : il.

Orientador: Marcia Regina Eches Perugini.
Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, 2019.
Inclui bibliografia.

1. *Staphylococcus aureus* - Tese. 2. Perfil SCCmec - Tese. 3. Resistência bacteriana - Tese. 4. Infecção hospitalar - Tese. I. Regina Eches Perugini, Marcia. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. III. Título.

CDU 579

DIOGO CESAR CARRARO

**DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA RESISTÊNCIA A
ANTIMICROBIANOS E RELAÇÃO COM A TIPAGEM SCCMEC DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADOS DE PELE E PARTES
MOLES EM UM HOSPITAL NA REGIÃO SUL DO BRASIL ENTRE OS
ANOS 2000 E 2019**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção de título de Mestre em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Marcia Regina Eches
Perugini
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profª Dra. Sueli Fumie Yamada Ogatta
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profª Dra. Marla Karine Amarante
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 12 de dezembro de 2019.

CARRARO, Diogo Cesar. **Distribuição temporal da resistência a antimicrobianos e relação com a tipagem *sccmec* de *Staphylococcus aureus* isolados de pele e partes moles em um hospital na região sul do Brasil entre os anos 2000 e 2019.** 2019. 79 f. Dissertação (Mestrado em Fisipatologia Clínica e Laboratorial) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

Staphylococcus aureus resistentes a meticilina [*Methicillin-resistant S. aureus* – (MRSA)] é um patógeno altamente prevalente ao redor do mundo e responsável por causar diferentes infecções ao homem. Este estudo teve como objetivo avaliar a distribuição temporal de *S. aureus* nos últimos 20 anos, de acordo com o padrão de resistência a antimicrobianos, bem como sua relação com os tipos de *SCCmec* que circulam em hospital da região sul do Brasil. Para isso, foi realizado um estudo retrospectivo, observacional, transversal, utilizando dados de amostras de pacientes do Hospital Universitário de Londrina no período de 2000 a 2019. *S. aureus* foram isolados de culturas de sangue, pele e partes moles, fragmentos ósseos, secreções respiratórias, líquidos cavitários, urina, swabs de vigilância, entre outros. Foram calculadas as CIM₅₀ e CIM₉₀, correspondem às CIM para antimicrobianos que correspondem a 50 e 90% dos isolados e comparadas entre isolados de MRSA e MSSA. Foram investigados seis tipos de *SCCmec*: I, II, III, IV, V e VI. Os isolados que não se enquadraram em nenhum desses tipos foram categorizados como não-tipáveis (NT). O teste χ^2 test foi usado para variáveis categóricas e o teste Exato de Fisher para variáveis contínuas, quando apropriado. Valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Foram analisados os resultados de 9.717 culturas positivas para *S. aureus*, realizadas no período de janeiro de 2000 a outubro de 2019. Entre os anos 2000 e 2002, a frequência de MRSA era maior (58,5%) do que a de MSSA (36,5%). No entanto, a partir de 2003 ocorreu uma inversão das taxas. MRSA reduziu para 29% em 2019 e MSSA aumentou para 59,9% em 2019. Além disso, a análise de diferentes antibiótipos permitiu a observação da ocorrência de isolados com *SCCmec* tipo II com perfis de resistência a um menor número de antimicrobianos, ao passo que também se observou a presença de isolados *SCCmec* tipo IV com perfis de resistência a um maior número de classes de antimicrobianos. Surpreendentemente, *S. aureus* sensíveis a penicilinas [*Penicillin-susceptible S. aureus* – (PSSA)], apresentaram uma tendência de aumento ao longo do tempo. Nossos dados são consistentes com análises anteriores que indicaram declínios no MRSA no hospital e aumento de prevalência de MSSA e PSSA. Embora com o viés de ter sido realizado em apenas uma instituição, o estudo atenta para o fato da constante alteração entre os clones de MRSA no ambiente hospitalar e também na comunidade, indicando a necessidade constante de revisão epidemiológica, a fim de otimizar protocolos terapêuticos.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*. MRSA. CA-MRSA. HA-MRSA. *SCCmec*.

CARRARO, Diogo Cesar. **Temporal distribution of antimicrobial resistance and relationship to sccmec typing of *Staphylococcus aureus* isolated from skin and soft tissue in a hospital in southern Brazil from 2000 to 2019.** 2019. 79 p. Dissertation (Master's in Clinical and Laboratory Pathophysiology) - Londrina State University, Londrina, 2019.

ABSTRACT

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [Methicillin-resistant *S. aureus* - (MRSA)] is a highly prevalent pathogen around the world and responsible for causing different infections to man. This study aimed to evaluate the temporal distribution of *S. aureus* in the last 20 years, according to the pattern of resistance to antimicrobials, as well as its relationship with the types of SCCmec circulating in a hospital in southern Brazil. For this, a retrospective, observational, cross-sectional study was carried out, using data from patient samples at the University Hospital of Londrina from 2000 to 2019. *S. aureus* were isolated from blood, skin and soft tissue cultures, bone fragments, secretions respiratory tract, cavity fluids, urine, surveillance swabs, among others. MIC50 and MIC90 were calculated, corresponding to MICs for antimicrobials that correspond to 50 and 90% of the isolates and compared between MRSA and MSSA isolates. Six types of SCCmec were investigated: I, II, III, IV, V and VI. Isolates that did not fit into any of these types were categorized as non-typable (NT). The χ^2 test was used for categorical variables and Fisher's Exact test for continuous variables, when appropriate. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. The results of 9,717 positive cultures for *S. aureus*, carried out from January 2000 to October 2019, were analyzed. Between the years 2000 and 2002, the frequency of MRSA was higher (58.5%) than that of MSSA (36.5%). However, from 2003 onwards there was an inversion of rates. MRSA decreased to 29% in 2019 and MSSA increased to 59.9% in 2019. In addition, the analysis of different antibiotics allowed the observation of the occurrence of isolates with SCCmec type II with profiles of resistance to a lower number of antimicrobials, while that the presence of SCCmec type IV isolates with profiles of resistance to a number of classes of antimicrobials was also observed. Surprisingly, penicillin-sensitive *S. aureus* [Penicillin-susceptible *S. aureus* - (PSSA)], showed an increasing trend over time. Our data are consistent with previous analyzes that indicated declines in MRSA in the hospital and increased prevalence of MSSA and PSSA. Although with the bias of having been carried out in only one institution, the study is aware of the fact of the constant change between MRSA clones in the hospital environment and also in the community, indicating the constant need for an epidemiological review in order to optimize therapeutic protocols.

Key words: *Staphylococcus aureus*. MRSA. CA-MRSA. HA-MRSA. SCCmec.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CA-MRSA	<i>Community-associated Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
CC	Complexo Clonal
<i>ccr</i>	<i>Cassette chromosome recombinase</i>
CDC	<i>Center of Diseases Control</i>
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CfB	<i>Fator B de agregação</i>
CLSI	<i>Clinical and Standards Laboratory Institute</i>
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
HA-MRSA	<i>Hospital-associated Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
h-VISA	<i>Heterogeneous-Vancomycin-intermediate S. aureus</i>
J1; J2 e J3	Regiões Internas dos Elementos SCCmec
MLST	<i>Multi Locus Sequence Type</i>
MRSA	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
MSSA	<i>Methicillin-susceptible S. aureus</i>
NAG	<i>N-acetil-glicosamina</i>
NAM	<i>N-acetil-muramico</i>
OS-MRSA	<i>Oxacilin-susceptible MRSA</i>
PAV	<i>Pneumonia associada à ventilação</i>
PBP	<i>Penicillin Biding Proteins</i>
PSSA	<i>Penicilin-susceptible S. aureus</i>
PVL	<i>Panton-Valentine Leukocidin</i>
SCC	<i>Staphylococcal Chromosome Cassette</i>
SNP	<i>Single-Nucleotide Polymorphisms</i>
SPA	<i>Proteína A estafilocócica</i>
ST	<i>Sequence Type</i>
TSST	<i>Toxic Shock Syndrome Toxin</i>
VISA	<i>Vancomycin-intermediate S. aureus</i>
VRE	<i>Vancomycin-resistant Enterococcus</i>
VRSA	<i>Vancomycin-resistant S. aureus</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
1.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DO STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	7
1.2	MECANISMOS DE RESISTÊNCIA.....	9
1.2.1	Resistência aos Betalactâmicos	9
1.2.2	Resistência aos Glicopeptídeos	13
1.2.3	Resistência a Daptomicina e Linezolida	15
1.2.4	Resistência a Outros Antimicrobianos	16
1.3	INFECÇÕES CAUSADAS POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS	16
1.4	EPIDEMIOLOGIA DO MRSA	17
1.5	MÉTODOS DE TIPAGEM.....	20
1.6	EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR.....	24
2	OBJETIVOS	31
2.1	OBJETIVO GERAL.....	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3	MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	32
3.2	CLASSIFICAÇÃO DE MRSA EM ANTIBIOTIPOS	33
3.3	AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	33
3.4	MÉTODOS GENOTÍPICOS	35
3.4.1	Reativação das Amostras.....	35
3.4.2	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	36
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
4	LOCAIS DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO	37
5	PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	38
6	CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
	REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Staphylococcaceae* e se apresenta, estruturalmente, como cocos Gram-positivos, de 0,5 a 1,5 μm de diâmetro, podendo ocorrer na forma de cocos aglomerados, tétrades, cadeias curtas ou aos pares. São anaeróbios facultativos não móveis e não formadores de esporos (JORGENSEN et al., 2015).

A identificação desse organismo teve origem no final do século 19, mais precisamente em 1880, quando o primeiro *S. aureus* foi isolado de uma ferida cirúrgica por Alexander Ogston, um médico cirurgião britânico que ficou famoso pela descoberta. A partir desse isolamento, pode-se observar que o microrganismo em questão era capaz de causar abscessos quando injetado em cobaias e camundongos (OGSTON, 1881).

Em 1882 foi definido o gênero *Staphylococcus* e em 1884 a divisão entre duas espécies: *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus albus*, sendo essa nomenclatura modificada somente em 1939 a partir de testes de coagulase, quando foi possível separar *Staphylococcus epidermidis* como uma espécie distinta (COWAN, 1939). Mesmo sendo um dos primeiros patógenos descritos, o *S. aureus* permanece sendo um dos mais frequentes causadores de infecções em humanos. Atualmente esse gênero é composto por 54 espécies e 28 subespécies (LPSN, 2019).

Dentre estes, destaca-se *S. aureus*, que pode ser encontrado como membro da microbiota humana, principalmente em pele, narinas e outras mucosas de indivíduos saudáveis; e como patógeno, por causar infecções de gravidade distintas, tanto autolimitadas quanto graves, capazes de provocar altos níveis de morbidade e mortalidade (PANTOSTI; SANCHINI; MONACO, 2007). Aproximadamente metade da população é colonizada por *S. aureus*, sendo que destes 40% são portadores permanentes, enquanto 60% são colonizados de forma intermitente. Essa alta taxa de indivíduos colonizados torna o risco do aparecimento de infecções maior, uma vez que o processo de colonização precede uma infecção (LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

No entanto, existem exceções, como quando há contaminação de cateteres ou feridas devido às práticas inadequadas de controle de infecção. Por esse motivo, entender a dinâmica da colonização torna-se relevante. A adesão bacteriana ao epitélio do hospedeiro é realizada pela ação do ácido teicóico localizado na parede celular bacteriana (BURIAN et.al., 2010; WEIDENMAIER et. al., 2008). Além desta substância, outros componentes fazem parte do processo de adesão de *S. aureus*, como por exemplo, o fator B de agregação (ClfB), relacionado à colonização de narinas, embora algumas cepas deficientes de ClfB são capazes de colonizar o hospedeiro independentemente (O'BRIEN et. al., 2002).

Além dos fatores diretamente envolvidos na relação entre bactéria e hospedeiro, a interação desta com outras espécies encontradas na mucosa nasal, como *Corynebacterium spp.*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus lugdunensis* e *Staphylococcus epidermidis* podem estar relacionadas com a ausência ou presença de *S. aureus* (LIU et. al, 2015; LEMON et. al.,2010). A competição por locais de adesão e por nutrientes são fundamentais para o êxito de uma espécie em relação à outra no processo de colonização. As narinas, por exemplo, possuem uma quantidade de nutrientes disponíveis relativamente baixa. Este fato é um dos fatores de sucesso de *S. aureus* em colonizar essa região, pois em comparação com espécies coagulase-negativas de estafilococos, ele é menos exigente do ponto de vista nutricional, permitindo uma vantagem na competição existente entre esses microrganismos (KRISMER et. al., 2014).

Algumas espécies competem por um mecanismo chamado antibiose, ou seja, podem produzir certas substâncias capazes de inibir o crescimento de um segundo microrganismo. Isso é observado no caso de *S. lugdunensis* que produz um composto antimicrobiano chamado lugdunina que inibe o crescimento e destrói *S. aureus*, tanto *in vitro* quanto em modelos animais (ZIPPERER et. al., 2016). Ainda com relação à dinâmica da colonização, *S. aureus* tem capacidade de induzir uma resposta imunológica do hospedeiro a produzir proteínas antimicrobianas contras às quais é mais resistente do que outras bactérias comensais (KRISMER et. al., 2017).

1.2 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Dois anos após a introdução da penicilina na prática clínica como terapia em humanos, em 1942, já foram relatados os primeiros casos de *S. aureus* resistentes (RAMMELKAMP; MAXON, 1942). Em 1945, estima-se que a frequência de *S. aureus* resistentes à penicilina já havia chegado a 80% (BONDI, 1945). Essa resistência era mediada por uma β -lactamase cujo gene (*blaZ*), localizado em um plasmídeo, permite ao microrganismo a capacidade de hidrolisar o anel β -lactâmico da penicilina. Atualmente este mecanismo é responsável por aproximadamente 95% da resistência à penicilina em isolados de *S. aureus*. Alternativamente, o antimicrobiano semissintético, conhecido como meticilina foi desenvolvido no final da década de 50 e introduzido clinicamente em 1959. No entanto, em 1960 já foi identificado o primeiro isolado de *S. aureus* resistente à meticilina [*methicillin-resistant S. aureus* – (MRSA)] (JEVONS, 1961).

Até a década de 80, surtos por MRSA foram relatados em grande parte ao continente europeu e eram provocados em sua maioria por cepas chamadas “arcaicas” originárias do Reino Unido. Após este período, novas cepas foram descritas e atingiram as demais regiões do mundo, tornando as infecções causadas por MRSA mundialmente importantes por acarretarem casos mais graves com taxas de mortalidade maiores quando comparadas às infecções originadas a partir de isolados sensíveis [*methicillin-susceptible S. aureus* – (MSSA)] (ENRIGHT et al., 2002).

1.2.1 Resistência a Betalactâmicos

A forma como *S. aureus* apresenta resistência à meticilina está intimamente relacionada às proteínas ligadoras de penicilina [*penicillin-binding protein* – (PBP)] alteradas. Essas proteínas servem de alvo para a ligação da maioria dos antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos, incluindo as penicilinas, permitindo que eles atuem inibindo a síntese da parede bacteriana, promovendo fragilidade osmótica, aumentando a permeabilidade celular do microrganismo e,

consequentemente, exercendo sua atividade bactericida. Por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, *S. aureus* pode receber, por via horizontal o gene *mecA*, um gene localizado no elemento genético móvel cassete cromossômico estafilocócico *mec* [*Staphylococcal Cassette Chromosome mec* – (SCC*mec*)]. A expressão deste gene leva à produção de uma PBP alterada (PBP2a ou PBP2'), estruturalmente perfeita e capaz de exercer sua função, porém com menor afinidade à maioria dos antimicrobianos β -lactâmicos, exceto ceftaroline e ceftobiprole (HARTMAN; TOMASZ, 1981; LEE et al., 2018).

Esse mesmo cassete cromossômico é composto ainda por outras regiões, chamadas J. Essas regiões, embora estruturalmente não essenciais ao cassete, podem carregar genes relacionados à resistência aos antimicrobianos (MILHEIRIÇO; OLIVEIRA; DE LENCASTRE, 2007).

A região J se divide em 3 sub-regiões. J1 está localizada à montante do complexo *ccr*, na junção inicial do cassete. A região J2 fica entre o complexo *ccr* e o gene *mec*, enquanto a região J3 está a jusante do gene *mec*, na junção final do cassete (MILHEIRIÇO; OLIVEIRA; DE LENCASTRE, 2007).

As diferentes combinações possíveis entre o complexo *ccr*, o gene *mec* e as regiões J definem os diferentes tipos de SCC*mec*. Até a presente data, 13 tipos de SCC*mec* foram identificados (GREMA, 2015; LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

Atualmente, são conhecidos outros 3 genes envolvidos no processo que confere resistência às penicilinas ao *S. aureus*, *mecB*, *mecC* e *mecD* (LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

Em 2007, uma cepa de *S. aureus* resistente a meticilina foi isolada a partir de uma amostra de leite em um estudo epidemiológico de casos de mastite em rebanho do Reino Unido. Embora tenha mostrado resistência a meticilina, os testes para *mecA* e PBP2a foram repetidamente negativos. Posteriormente, esse isolado foi estudado e identificado que o gene *mecA* possuía em torno de 69% de similaridade de sequência nucleotídica com o *mecA* original e 63% de similaridade de sequência de aminoácidos, o que explicava os testes negativos (GÁRCIA-ÁLVAREZ et al., 2011; SHORE et al., 2011). Em 2012, esse gene,

originalmente chamado de *mecA*_{LGA251}, foi renomeado para *mecC* (ITO et al., 2012).

Um terceiro grupo de genes homólogos ao *mecA* foi encontrado tanto no cromossomo quanto em plasmídeo de *Micrococcus caseolyticus*, um microrganismo geneticamente próximo a *Staphylococcus*. Em 2009, *M. caseolyticus* carregando genes homólogos ao *mecA* foram isolados de amostras de pele de aves no Japão (BABA et al., 2009). Essas cepas possuíam 62% de similaridade de nucleotídeos comparadas a *mecA* original, sendo chamadas de *mecB* a partir de 2012 (ITO et al., 2012).

Em 2018, cepas de *S. aureus* resistentes a metilina e que testaram negativo para *mecA* e *mecC* foram isoladas em uma triagem rotineira a partir de um swab nasal de um paciente cardíaco de 67 anos de idade. O isolado mostrou 100% de similaridade genética em comparação com o gene *mecB* relatado em *M. caseolyticus* (BECKER et al., 2018). Da mesma forma que *mecA* e *mecC*, a presença do gene *mecB* confere a *S. aureus* resistência a metilina e identificá-lo corretamente permite a correta classificação dessas cepas como MRSA e não MSSA (LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

Em 2017, um outro homólogo do gene *mecA* foi relatado em cepas caninas e bovinas de *M. caseolyticus*. Chamada de *mecD*, essa cepa é capaz de conferir resistência a todos os β -lactâmicos, incluindo cefalosporinas anti-MRSA, como ceftarolina e ceftabiprole. Como o gene *mecD* foi encontrado em ilhas genômicas de resistência chamadas McRI_{mecD-1} e McRI_{mecD-2}, sua presença sugere alta capacidade de propagação, pois tais ilhas estão associadas a um gene de virulência e uma integrase sítio-específica (SCHWENDENER; COTTING; PERRETEN, 2017).

Isolados de MRSA, *mecA* positivo, podem expressar resistência heterogênea a oxacilina, com Concentração Inibitória Mínima (CIM) variando de 2 $\mu\text{g/mL}$, considerado sensível, a 256 $\mu\text{g/mL}$, classificada como resistência extremamente alta (HRYNIEWICZ; GARBACZ, 2017; POURNARAS et al., 2015). Devido a esse fato, o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) passou a classificar como MRSA todos os isolados que apresentam gene *mecA* ou CIM para oxacilina $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ (CLSI, 2018).

O surgimento de cepas sensíveis a oxacilina, porém com presença de gene *mecA* [*Oxacilin-susceptible* MRSA – (OS-MRSA)], tem tornado a terapia antimicrobiana ainda mais complexa, pois mesmo possuindo *mecA*, esses isolados se mostram sensíveis nos testes fenotípicos, com CIM muitas vezes $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ (DUARTE et al., 2019).

As possíveis explicações para esse achado são várias, passando desde repressão ou baixa expressão do gene *mecA* até a aquisição de elementos genéticos móveis como a *IS1272*. Outras teorias dizem respeito a mutações em genes envolvidos na síntese da parede celular da bactéria ou mutações no complexo *mecI-mecR* envolvidos na regulação da transcrição do gene *mec* (KAMBEROVIC, et al., 2015; POURNARAS et al., 2015). Esses isolados possuem prevalência distintas dependendo da região do mundo, variando de 1,2% em estudo realizado no Reino Unido (SAEED et al., 2014) a até 52% como mostrou um estudo brasileiro (ANDRADE-FIGUEIREDO; LEAL BALBINO, 2016).

Por muito tempo, a preocupação com relação à resistência de *S. aureus* era restrita aos ambientes hospitalares e de assistência à saúde. Atualmente, porém, essa realidade tem se alterado e o MRSA é considerado como um dos principais patógenos relacionados às infecções na comunidade. Devido a isso, já há algum tempo, não é correto tratar MRSA como um patógeno de interesse exclusivamente hospitalar (TORRES et al., 2017).

As cepas comunitárias apresentam características fenotípicas e genéticas das cepas hospitalares, fato que motivou uma denominação específica para cada uma delas, sendo as comunitárias chamadas de *community-associated MRSA* (CA-MRSA) e as hospitalares chamadas de *hospital-associated MRSA* (HA-MRSA). Inicialmente, as cepas comunitárias foram quase que exclusivamente relacionadas às infecções de peles e partes moles, porém atualmente se encontra essas cepas causando infecções hospitalares. Por esse motivo, essa diferenciação entre CA-MRSA e HA-MRSA tem sido menos clara pbp.

De maneira geral, CA-MRSA possuem perfis genéticos e de resistência aos antimicrobianos diferentes de HA-MRSA, sendo sensíveis a um maior número de classes de antimicrobianos não-beta-lactâmicos; carregam SCC-*mec*

estruturalmente mais simples e produzem, em muitos casos PVL (VANDENESCH et al., 2003). Infecções causadas por CA-MRSA, na maioria das situações, respondem bem a tratamentos realizados por diversos antimicrobianos, incluindo fluoroquinolonas, clindamicina, eritromicina e aminoglicosídeos. Por outro lado, infecções provocadas por cepas de HA-MRSA requerem tratamento mais específico, sendo a vancomicina historicamente o medicamento de escolha (LOUGHREY et al., 2007).

A facilidade com que *S. aureus* tem de adquirir resistência a uma grande quantidade de antimicrobianos é um ponto importante no estudo desses microrganismos. A maior parte dos genes de resistência é adquirida através de transmissão horizontal de genes (HGT), obtidas em sua maioria de outras espécies ou gêneros, embora possam ocorrer mutações capazes de gerar resistência a determinados antimicrobianos. A HGT permite a aquisição de *clusters* de genes que podem ter na sua constituição genes de resistência. Podem ser citados como exemplos disso os genes *mec*, para resistência à meticilina, e o gene *vanA*, para resistência à vancomicina. Por outro lado, as mutações podem fornecer resistência a novos antimicrobianos ou para aqueles que não tenham análogo naturais e que por esse motivo não possuem determinantes de resistência disponíveis na natureza (MONACO et al., 2016).

1.2.2 Resistencia a Glicopeptideos

Embora muitas vezes seja eficaz como terapia empírica e usada inclusive como medicamento de última escolha, a farmacoterapia com vancomicina deve ser realizada com critério, pois cepas de *S.aureus* com resistência intermediária à vancomicina (VISA) e resistência total à vancomicina (VRSA) já foram identificadas (HIRAMATSU, 1997; CDC, 2002).

Em 1997, no Japão, o primeiro *S.aureus* com sensibilidade reduzida à vancomicina foi descrito (HIRAMATSU et al., 1997). Posteriormente, outros países também identificaram cepas com diferentes perfis de sensibilidade, apresentando desde sensibilidade limítrofe até resistência total (GARDETE et

al., 2012). Além da detecção de VISA e VRSA, um achado importante foi a presença de VISA heterogêneo (hVISA), que é definido como *S.aureus* ainda sensíveis à vancomicina, porém contendo população minoritária com resistência intermediária (LIU; CHAMBERS, 2003). O gene *vanA* é um exemplo típico de HGT. Esse operon é composto de 5 genes, e localizado no transposon *Tn1546*, e que ocorre geralmente em enterococos resistentes à vancomicina (VRE), principalmente em *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*. A transferência ocorre através de um plasmídeo da família *Inc18* (ZHU et al., 2010). Importante notar que o VRSA identificado no Brasil está relacionado com o USA300 e PVL-positivo (ROSSI et al. 2014).

Foi em MRSA que a maior parte dos VISA e VRSA emergiram. Poderia se pensar que VRSA seria uma evolução da resistência de VISA, porém o que se observou é que não houve essa progressão e que VISA e VRSA possuem mecanismos de resistência distintos (BOBIN-DUBREUX et al., 2001; RYBAK et al., 2005).

O crescimento das cepas de VISA é inibido com valores de CIM consideradas como resistência intermediária, ou seja, entre 4-8 µg/mL (CLSI, 2018). De maneira geral, CIM's de teicoplanina para VISA são maiores do que para vancomicina (RYBAK et al., 2005). Há também cepas de *S. aureus* que podem aparecer como sensíveis à vancomicina nos testes de rotina, mas que podem conter subpopulações com resistência intermediária para a vancomicina, capazes de serem identificadas somente com uma análise do perfil dessas populações. Essas cepas recebem o nome de VISA heteroresistente (h-VISA) (LIU; CHAMBERS, 2003). A prevalência de h-VISA pode chegar a 50%, embora possa variar bastante dependendo da região do mundo (LIU; CHAMBERS, 2003).

Diferentemente do VISA, as cepas de VRSA possuem CIM para a vancomicina em concentrações bastante elevadas, normalmente acima de 16 µg/mL. O mecanismo de resistência dessas cepas foi adquirido através da transferência do marcador de resistência presente em *Enterococcus* resistentes a vancomicina [*vancomycin resistant enterococcus* – (VRE)]. Dessa forma, as bases genéticas e bioquímicas de resistência de VRSA são as mesmas de VRE, sendo as cepas portadoras do gene operon *vanA*, capazes de conferir alto nível

de resistência não só a vancomicina, mas também a teicoplanina (COURVALIN, 2006).

O operon *vanA* possui um grupo de genes capaz de codificar a síntese de precursores de peptidoglicano modificados contendo um terminal *D-ala-D-lac* ao invés de *D-ala-D-ala*, tornando a bactéria menos suscetível a ação do glicopeptídeo (WEIGEL et al, 2003).

É sugerido que a transferência do operon *vanA* para VRSA ocorreu *in vivo*, provavelmente em uma infecção mista entre VRE e MRSA, sendo mediada por plasmídeo, assumindo a característica de VRSA (COURVALIN, 2006).

1.2.3 Resistência a Linezolida e Daptomicina

Em 2001 ocorreu o primeiro relato de *S. aureus* resistente à linezolida em um paciente nos Estados Unidos que havia recebido esse antimicrobiano por 30 dias (TSIODRAS et al., 2001). Esse achado vai de encontro com o que é observado na maioria dos casos de resistência à linezolida, ou seja, a detecção de isolados resistentes está associada ao uso prévio deste medicamento. Esse fato torna esse tipo de resistência mais comum em alguns grupos específicos, como paciente com fibrose cística, por exemplo, visto que sofrem frequentemente com pneumonias e linezolida é um dos medicamentos de escolha (ENDIMIANI et al., 2011).

Com consequências clínicas importantes, a resistência de *S. aureus* contra daptomicina merece ser citada. A mutação mais comum que promove essa resistência é no gene *mprF* que codifica uma enzima envolvida no metabolismo da membrana celular. Essa mutação promove uma alteração na estrutura de cargas da membrana celular, promovendo diminuição da inserção do complexo cálcio-daptomicina (JONES et al., 2008). Logo após a introdução do uso clínico da daptomicina em 2003, os primeiros isolados de *S. aureus* resistentes já foram detectados, principalmente em pacientes que sofriam de endocardite, devido, provavelmente, ao fato dessas infecções possuírem uma carga bacteriana elevada (, HAYDEN et al., 2005; JULIAN et al., 2007).

Felizmente, a prevalência de resistência à daptomicina ainda é bastante reduzida, sendo cerca de 0,05% (SADER et al., 2014). Há ainda uma relação entre a sensibilidade diminuída à vancomicina e a resistência à daptomicina. Grande parte dos isolados de VISA possui resistência à daptomicina, indicando que o espessamento da parede celular que ocorre nos VISA pode influenciar a permeabilidade também da daptomicina (CUI et al., 2006).

1.2.4 Resistência a Outros Antimicrobianos

Determinados clones de MRSA possuem também perfis característicos de resistência. CA-MRSA, por exemplo, são em sua maioria sensíveis à maioria das classes de antimicrobianos não-beta-lactâmicos, embora observa-se resistência à eritromicina e ciprofloxacina no clone USA300 (DAVID; DAUM, 2010). O clone europeu ST80, por sua vez, é resistente à tetraciclina. HA-MRSA são conhecidos por possuir um perfil de maior resistência, com sensibilidade a uma gama menor de antimicrobianos. O clone ST22 (EMRA-15) possui a característica de resistência a fluorquinolonas e macrolídeos, sendo sensível à gentamicina (ELLINGTON et al., 2010; JOHNSON et al., 2005). Enquanto o clone ST8 (clone de Lyon) é resistente à fluorquinolonas, porém sensível à macrolídeos e aminoglicosídeos (DAUWALDER et al., 2008).

Alguns antimicrobianos que foram desenvolvidos há menos tempo apresentam boa ação contra o MRSA. Esse é o exemplo da ceftarolina e do ceftabiprole, duas cefalosporinas que possuem ação contra MRSA por terem afinidade contra as PBP2 (DAVIES et al., 2007; MOISAN et al., 2010). Além desses, alguns derivados da vancomicina e da teicoplanina, como telavancina e dalbavancina, foram desenvolvidas e também mostram-se eficientes contra MRSA (MORATA et al., 2015).

1.3 INFECÇÕES CAUSADAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

As infecções mais comuns relacionadas à *S. aureus* incluem as de pele e partes moles, artrite séptica, endocardite, osteomielite, sepse, pneumonia e

infecções de corrente sanguínea. Infecções de sítio cirúrgico relacionadas a corpos estranhos, como próteses ortopédicas, também podem ocorrer (YU et al., 2015).

Infecções crônicas, refratárias a tratamento com antimicrobianos, estão intimamente relacionadas à produção de biofilme (JOSHI et. al., 2018).

Como algumas cepas *S. aureus* possuem a capacidade da produção de biofilme, a formação dessas estruturas em tubos orotraqueais pode tornar recorrente o surgimento de quadros de pneumonias, além de dificultar ainda mais a terapia medicamentosa (SANCHEZ et al., 2013; WAN et al., 2017)

S. aureus foi isolado em cerca de 40% das culturas obtidas de pacientes com pneumonias adquiridas em hospitais (KOLLEF; MICEK, 2005), sendo também o patógeno mais frequentemente relacionado a Pneumonias Associadas à Ventilação (PAV), causando cerca de 25% dessas infecções (WEINER et al., 2016). Alguns estudos apontam que a prevalência de PAV relacionada com *S. aureus* pode chegar a 33%. Além da gravidade clínica do paciente com esse quadro, que pode apresentar complicações respiratórias importantes, os altos índices de PAV em serviços de saúde elevam muito o custo de tratamento e a morbimortalidade dos pacientes (AYKAC; OZSURECKI; BARASANOGLU, 2017).

S. aureus também possui importante relevância em infecções de corrente sanguínea e é um dos patógenos mais comuns em casos de bacteremia. Isolados de *S. aureus* mais resistentes estão relacionadas a piores prognósticos quando comparados com aqueles mais sensíveis. A taxa de mortalidade de pacientes com bacteremia por *S. aureus* reportada por diversos autores é bastante elevada, chegando a 20% após um período de internação maior que 30 dias, com taxa de 13% de mortalidade relacionada à infecção (VAN HAL et al., 2012; RECKER et al., 2017).

Nos EUA, um estudo mostrou que a incidência de infecções por CA-MRSA é maior quando comparada às infecções causadas por HA-MRSA, alcançando números em torno de 250 casos/100.000 habitantes e 30 casos/100.000 habitantes, respectivamente (DAVID; DAUM, 2010). Apesar do

aumento observado nas infecções por CA-MRSA, a exposição aos cuidados de saúde continua sendo um grande risco para o desenvolvimento de infecções invasivas por MRSA. Em 2015, 78% dos casos foram classificados como associados à saúde, enquanto 21% foram classificados como associado à comunidade, mostrando respectivamente incidências de 14,8 por 100.000 e 3,9 por 100.000 (CDC, 2015).

No Brasil, MRSA é considerado o principal agente etiológico causador de bacteremias. Com relação às pneumonias, aparece como segundo patógeno mais isolado (GALES et al., 2009).

1.4 EPIDEMIOLOGIA DO MRSA

Os primeiros surtos e epidemias ocorreram nos anos de 1950 e foram causados por um clone de *S. aureus* resistente à penicilina denominado fago tipo 80/81 (GILLESPIE; ALDER, 1957). Essa cepa rapidamente se tornou predominante em alguns países, como Reino Unido, Canada, Estados Unidos e Austrália (BYNOE; ELDER; COMTOIS, 1956), causando muitos casos graves de infecções de pele, sepse e pneumonia. Nesse momento os surtos eram praticamente restritos ao ambiente hospitalar, atingindo a comunidade gradualmente no decorrer dos anos. Com a introdução da meticilina no final da década de 50, o fago tipo 80/81 reduziu em frequência (JESSEN et al., 1969).

A partir de 1980, o número de infecções hospitalares causadas por esses patógenos passou a atingir níveis alarmantes. Um estudo realizado na Inglaterra e no País de Gales acompanhou a evolução das taxas de mortalidade e morbidade causadas por MRSA durante os anos de 1993 e 2002. O que se notou foi um aumento de 15 vezes na mortalidade e de 24 vezes nos casos de bacteremia causadas por MRSA (GRIFFITHS et al., 2004).

Nos Estados Unidos, em 1968 ocorreu a primeira epidemia hospitalar causada por MRSA, no estado de Massachussetts (BARRETT; MCGEHEE; FINLAND, 1968). Progressivamente, outras regiões do país passaram a ser atingidas, sendo hospitais universitários os mais acometidos, principalmente as suas Unidades de Terapia Intensiva (UTI's). Entre 1975 e 1991 a taxa de MRSA

isolados de pacientes hospitalizados passou de 2,4% para 29% (PANLILIO et. al., 1992).

Na Austrália, o primeiro relato de MRSA ocorreu em 1965 após observação de ineficácia terapêutica da meticilina em duas grandes cidades: Sydney e Melbourne (ROUNTREE; BEARD, 1968; GIVNEY et. al., 1998). Algumas regiões da Austrália não reportaram casos de MRSA durante muitos anos, até que uma cepa de MRSA sensível à gentamicina foi identificado no final dos anos de 1980 (TORVALDSEN; ROBERTS; RILEY, 1999). Após a descoberta, essa cepa rapidamente se disseminou por todo o país. Na região leste desse país, mais precisamente em Queensland, um estudo demonstrou que o número de casos de MRSA não multirresistente passou de 71 casos/milhão em 2000 para 315 casos/milhão em 2006, sendo que essas cepas eram resistentes para ao menos antimicrobiano não-beta-lactâmico e sensível ao ciprofloxacino (NIMMO et. al., 2008). No mesmo período um grande aumento foi observado em pacientes ambulatoriais na região, passando de 52 para 490 casos/milhão (SONG et. al., 2011).

No final da década de 1980, o Japão passou a observar uma maior prevalência de MRSA em hospitais acadêmicos e a partir de 1990 os demais hospitais passaram a ser atingidos também (KAYABA et. al., 1997). A frequência de pacientes com MRSA que era de 3,8% em 1990 passou a ser de 9,6% em 1994. Um dado interessante é notar que, de todos os pacientes colonizados por MRSA no Japão em 1990, 4,5% eram representados por pacientes ambulatoriais, tendo esse número alcançado 35% em 1994. A explicação aceita é de que isso foi devido à disseminação do MRSA na comunidade (UDO; PEARMAN; GRUBB, 1993, 1993; KAYABA et. al., 1997), embora somente em 2005 foi descrito o primeiro isolamento de MRSA carregando o gene PVL, demonstrando ser um CA-MRSA (TAKIZAWA et. al., 2005; ITO et. al., 2008). Em países do norte europeu, enquanto na Finlândia o número de casos de MRSA aumenta anualmente, tendo iniciado com 120 casos em 1997 e passando a 1458 casos em 2004 (KERTTULA et. al., 2007), outros países da mesma região permanecem com casos apenas esporádicos de isolamento de MRSA, como são os casos de Noruega, Dinamarca, Holanda e Suécia (TIEMERSMA et. al., 2004; ANDERSEN; RASCH; SYVERSEN; 2007; STENHEM et. al., 2006).

O continente africano possui dados ainda escassos sobre a prevalência de MRSA. A maioria dos estudos utiliza apenas testes fenotípicos, fato que tornam menos fidedignos os resultados. Estima-se que a prevalência seja algo em torno de 50% na maioria dos países, podendo ser inferior a 30% em algumas regiões. Como a África é um continente diversificado economicamente, fatores como disponibilidade de antimicrobianos, práticas de controle de infecção e incidência de infecção pelo HIV (considerado como um fator de risco para a colonização por MRSA) podem explicar as variações entre os países (LEE et. al., 2018).

Na América Latina, um estudo publicado em 2017 foi realizado utilizando 1185 isolados obtidos a partir de amostras de corrente sanguínea de 1010 pacientes obtidos de 24 hospitais diferentes em 9 países distintos, sendo eles Brasil, Argentina, Venezuela, Guatemala, Chile, Colômbia, Equador, México e Peru. A taxa geral de isolados de MRSA foi de 45%, havendo, porém, diferenças regionais importantes. O Brasil foi o país que apresentou a maior taxa, 62%. A seguir Venezuela (57%), México (57%), Peru (54%) e Guatemala (54%) também apresentam taxas elevadas. Chile, Argentina, Equador e Colômbia foram os países que apresentaram as taxas mais baixas, respectivamente, 45%, 40%, 29% e 22% (ARIAS et. al., 2017).

1.5 MÉTODOS DE TIPAGEM

Métodos de tipagem possuem um papel de grande importância no processo de identificação e diferenciação dos diferentes clones de MRSA existentes em diferentes regiões do mundo. A tipagem *SCCmec* é baseada na identificação de elementos estruturalmente diferentes do gene *SCCmec* e possui grande utilidade para que se permita rastrear a origem evolutiva de clones de MRSA. Essa tipagem visa identificar os elementos principais de cada tipo *SCCmec*, o complexo da classe *mec* e tipo de complexo de *ccr*.

Atualmente são descritos 13 tipos de *SCCmec* que diferem em tamanho de 20 a 60 kb. Os maiores elementos de *SCCmec* (tipos I a III) podem conter ainda transposons e plasmídeos integrados capazes de conferir resistência a outros antimicrobianos, além da possibilidade de conterem operons que permitem a resistência a metais pesados. O tipo IV codifica resistência somente

à metilina e, por ser de um tamanho menor quando comparado aos tipos I, II e III, tem maior probabilidade de ser transferível. Além disso, ainda pode ser dividido em oito subclasses, nomeado de *a* ao *h*, com base nas diferenças na região J1. SCC*mec* tipo IV e V são normalmente associados a CA-MRSA (LAKHUNDI; ZHANG, 2018). A estrutura dos diferentes elementos SCC*mec* podem ser vistas na figura 1.

A técnica de *multilocus sequence typing* (MLST) é uma técnica bastante utilizada para a classificação de isolados de *S.aureus* dentro de grupos específicos de clones. A metodologia da técnica é baseada no sequenciamento dos fragmentos internos de sete genes de manutenção. Os alelos dos sete genes originam um tipo de sequência definida pelo perfil alélico definida como *sequence typing* (ST). Os ST's relacionados podem ser agrupados em *clusters* chamados "complexos clonais" (CC). As principais vantagens do MLST é sua reprodutibilidade e sua nomenclatura universal, permitindo uma relativa facilidade em comparação de resultados (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2008).

A tipagem da proteína A estafilocócica (*spa*) é baseada na sequência de um único gene, responsável pela codificação da proteína *spa*, em particular da região X. Essa região é bastante polimórfica e contém diferentes repetições curtas em série, cuja combinação resulta em diferentes tipos de *spa* (HARMSEN et. al., 2003). Há, atualmente, cerca de 15.000 tipos de *spa* catalogados. O poder de diferenciação dessa tipagem é superior MLST, porém inferior ao do PFGE em termos de definição do CC (COOKSON et. al., 2007; STROMMINGER et. al., 2008). Como o local onde se encontra o *spa* tem uma alta taxa de mutação, com o passar dos anos pode ocorrer o fenômeno de homoplasia, ou seja, os tipos *spa* podem acabar por convergirem e, conseqüentemente, ocasionar problemas na distinção dos clones (NUBEL et. al., 2011).

A aplicação em maior escala destas técnicas moleculares passou a permitir a identificação de clones de MRSA e suas distribuições mundiais. Vale ressaltar que os clones estão constantemente evoluindo e que ocorrem situações em que alguns tipos de clones declinam e posteriormente ressurgem,

sendo necessária constante atualização dos componentes epidemiológicos envolvendo MRSA. A globalização é um fenômeno que permite a troca e disseminação de clones e linhagens entre os países de maneira mais acelerada a cada ano (CHAMBERS; DELEO, 2009).

A identificação molecular de cepas de *S. aureus* tem ganhado papel importante pela utilidade que pode possuir em várias situações, tanto como agente colonizante quanto naquelas em que levam a um processo infeccioso. Rastreamento de surtos, identificação de fontes de colonização e distinção entre cepas comunitárias e hospitalares podem ser realizados utilizando técnicas como *pulse-field* em gel de eletroforese (PFGE), *multilocus sequence typing* (MLST), tipagem de *SCCmec* e tipagem para proteína A estafilocócica (*spa*). Em muitas situações, a combinação de dois ou mais métodos se torna necessária pelo fato de que alguns isolados não permitem a identificação correta a partir de um único método (BENS; VOSS; KLAASSEN, 2006).

Primeiro descrito por Schwarz e Cantor em 1984, a eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) já foi considerado padrão-ouro para tipagem de MRSA (SCHWARTZ; CANTOR, 1984).

gerando fragmentos que vão desde 30 kb a mais de 1 Mb (GOERING, 2010). Estes fragmentos não podem ser separados através da eletroforese em gel convencional, que utiliza um campo elétrico único e uniforme e em que o DNA percorre do cátodo para o ânodo através do gel em apenas uma direção. Estas bandas maiores apareceriam como uma única banda difusa (SINGH et al., 2006).

Em PFGE a orientação do campo elétrico é pulsado, ou seja, periodicamente deslocado ou alterado, permitindo uma alteração do DNA no sentido do movimento e permitindo a separação dos fragmentos dos pares de bases efetivamente de acordo com seu tamanho (FARBER, 1996). O PFGE, no entanto, requer a utilização de DNA genômico intacto e, por conseguinte, cuidados especiais devem ser tomados durante a extração do DNA. Para este efeito, as células bacterianas são incorporadas em tampões de agarose de baixo ponto de fusão, que permitem o livre fluxo das soluções necessárias para a lise da parede celular e da enzima de digestão das proteínas celulares, ao mesmo tempo que protege o DNA da ruptura. Enquanto permanece na agarose, o DNA gera fragmentos de alto peso molecular. Durante a eletroforese, esses fragmentos migram para o ânodo; no entanto, antes da migração eles precisam se alinhar com a direção da corrente elétrica. O tempo necessário para o alinhamento dos fragmentos de DNA depende do massa molecular dos fragmentos; os fragmentos maiores necessitam de mais tempo para se reorientarem para a direção do novo campo, enquanto os fragmentos menores rapidamente reorientam-se e começam a migrar. Isso resulta em uma resolução mais nítida de fragmentos quando o campo elétrico é pulsado e/ou alternado durante a eletroforese (REED; STEMPEL; SHUKLA, 2007).

1.6 EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

Durante as primeiras décadas após a identificação do primeiro MRSA, essas cepas ficaram restritas a serviços de saúde nos Estados Unidos e Europa, principalmente (CHAMBERS; DELEO, 2009). Denominada como fago tipo 83A, atualmente é classificada como ST250, CC8, e que foi chamado de “clone arcaico”. O clone arcaico gradualmente foi desaparecendo para dar origem a

outros novos clones pandêmicos (ENRIGHT et. al., 2002; CHAMBERS; DELEO, 2009). Uma dessas linhagens é o ST239-SCC*mec* III, também conhecido como clone epidêmico brasileiro-húngaro (BEC) (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2008; SMYTH et. al., 2010). ST239 se tornou prevalente no Reino Unido, Austrália e Estados Unidos entre 1970 e 1980, na América do Sul e Europa entre 1980 e 1990 e na Ásia e Oriente Médio entre 1990 e 2000. A nomenclatura original de HA-MRSA utilizava o nome da área geográfica onde o clone foi isolado pela primeira vez ou mais difundido (MURCHAN et al., 2003) e sua classificação era baseada na tipagem do fago e outros traços fenotípicos (KERR et. al., 1990) e, posteriormente, por PFGE (OLIVEIRA; TOMASZ; LENCASTRE, 2002).

Embora algumas dessas nomenclaturas ainda permaneçam, a forma mais utilizada é feita a partir do tipo ST-SCC*mec* e adicionalmente o componente CC. Na verdade, um único CC pode incluir clones MRSA com diferentes distribuições geográficas e que podem estar associados a diferentes elementos SCC*mec*, além da possibilidade da existência de outras características, como fatores de virulência e resistência a determinados antimicrobianos (MONECKE et. al., 2011; NUBEL et. al., 2011). Um exemplo disso é o tipo CC5 que engloba clones pertencentes ao ST5-SCC*mec* II (USA100), mais comum HA-MRSA presente nos Estados Unidos, assim como ST5-SCC*mec* IV (USA800), conhecido como clone pediátrico (MONECKE et. al., 2011).

Na América do Norte, além do ST5-SCC*mec* II, os clones mais frequentes são o ST8-SCC*mec* IVh (USA500), ST36-SCC*mec* IV (USA200) e ST45-SCC*mec* IV. Com menos frequência se encontra também ST22-SCC*mec* IV e ST247-SCC*mec* I. A América do Sul apresenta dois clones HA-MRSA mais frequentes: o ST5 e o ST239. No Brasil, particularmente, as linhagens hospitalares mais comumente encontradas são ST239-SCC*mec* III (clone brasileiro), ST5 e ST1 (SILVA-CARVALHO et al., 2009; CABOCLO et al. 2013), enquanto na Argentina a maioria dos HA-MRSA isolados são do clone ST5-SCC*mec* I (clone cordobes-chileno), também bastante frequente na Colômbia, juntamente com o ST8-SCC*mec* IVc (BECKER et al. 2012; EGEA et al. 2014).

Apesar desse achado, no Brasil observa-se em alguns locais uma mudança de perfil quanto à epidemiologia. Estudos já mostram uma maior prevalência de *SCCmec* tipo II em um hospital de São Paulo (CAIAFFA-FILHO et al., 2013). ST5-*SCCmec* IV e ST1-*SCCmec* IV foram as linhagens predominantes em estudo realizado em um hospital no Rio de Janeiro (PEDINOTTI et al., 2017). Além disso, USA100 se mostrou o clone predominante em dois estudos realizados no Brasil incluindo hospitais de São Paulo e Porto Alegre (ARIAS et al., 2017; CHAMON et al., 2017).

Na Europa, ST5, (CC5), ST8 (CC8) e ST22 (CC22) são aqueles que predominam na maioria dos países, embora existam diferenças regionais importantes. Na Itália, Alemanha, Croácia, Áustria, Hungria e Eslovênia o clone ST228-*SCCmec* I (clone balcânico-adriático do norte) é detectado com frequência (GRUNDMANN et. al., 2010; MONACO et. al., 2010). Na Espanha, o clone ST125-*SCCmec* IV tem sido identificado com o tipo *spa* t067 (PEREZ-VAZQUEZ et. al., 2009).

Na Alemanha, Bélgica Holanda, Suíça e Croácia se observa constantemente o isolamento do clone ST45-*SCCmec* IV, chamado de “clone epidêmico de Berlim”. Na França, o clone mais abundante é o chamado “clone de Lyon”, classificado como ST8-*SCCmec* IV, seguido pelo ST5-*SCCmec* I, conhecido como “clone Geraldino” (DAUWALDER et. al., 2008). Os Estados Unidos, desde o início dos anos de 1990, apresenta como clone mais comum o ST22-*SCCmec* IV, chamado de EMRSA-15. Esse mesmo clone tem sido encontrado seguidamente em outros países, como Alemanha, Hungria, Portugal e Itália. Esse clone é mais frequentemente encontrado no continente europeu (HOLDEN et. al., 2013; GRUNDMANN et. al., 2014).

Na África, os testes genotípicos são ainda limitados. Sugere-se a predominância dos clones ST5 associados a diferentes tipos *SCCmec*, principalmente I, II e IV. A África do Sul já identificou como clones de HA-MRSA o ST22-*SCCmec* IV, ST36-*SCCmec* II e o ST612-*SCCmec* IV (ABDULGADER et. al., 2015). Hospitais localizados na Tunísia e na Nigéria já tiveram identificados isolados de clones ST1 (MARIEM et. al., 2013; RAJI et. al., 2013).

A Ásia, embora territorialmente extensa e amplamente povoada, possui uma característica peculiar: cerca de 90% das infecções hospitalares são causadas pelo clone ST239-SCC*mec* III (SMYTH et. al., 2010). Esse é o clone predominante em praticamente todos os países onde os testes genotípicos têm sido realizados, incluindo China, Coreia do Sul (MOON; LEE; LEE, 2010), Indonésia, Filipinas, Tailândia, Vietnã, Índia e Paquistão (SHABIR et. al., 2010; CHEN; HUANG, 2014). O Japão é a exceção e possui como seu clone predominante o ST5-SCC*mec* II (CHEN; HUANG, 2014), que também é encontrado na China, Coreia do Sul e Taiwan (TSAO et. al. 2014). Clones de ST241 são encontrados na Tailândia, Vietnã e Filipinas (CHEN; HUANG, 2014).

Na Austrália, até o final da década de 90, o clone de HA-MRSA mais recorrente era o mesmo asiático, ou seja, o ST239-SCC*mec* III. Nesse período, o clone ST22-SCC*mec* IV passou a ser o mais comum nessa região (WILLIAMSON; COOMBS; NIMMO, 2014). Uma particularidade com relação à Nova Zelândia é que os clones ST1 são os mais detectados em pacientes apresentando bacteremia (RITCHIE; THOMAS; RAINEY, 2014).

A partir dos anos de 1990 houve uma mudança significativa na epidemiologia de MRSA provocada, principalmente, pelo aumento dos casos de infecções causadas por cepas na comunidade, denominadas CA-MRSA. As primeiras infecções por esse tipo de cepa foram identificadas na Austrália, no final da década de 80, sendo posteriormente identificada como ST8-SCC*mec* IV (NIMMO; COOMBS, 2008).

No início da década de 90, os Estados Unidos observaram a ocorrência de casos de infecção por MRSA na comunidade em crianças sem nenhum fator de risco aparente (HEROLD et. al., 1998). No final da mesma década, um pequeno surto de pneumonia necrotizante e sepse, causado por MRSA, ocorreu em crianças saudáveis no oeste americano. A cepa causadora desse surto foi identificada como USA400 através da técnica de PFGE (DELEO et. al., 2010; DAVID et. al., 2015) e se tornou o CA-MRSA mais prevalente nos Estados Unidos até 2001, ano em que o clone USA300 substituiu o anterior como sendo o de maior prevalência na comunidade (STRYJEWSKI; CHAMBERS 2008).

CA-MRSA foi associada a muitas infecções de pele e tecidos moles em jovens saudáveis sem nenhum fator de risco e nenhuma relação com serviços de saúde (STRYJEWSKI; CHAMBERS 2008). Essas cepas passaram a causar surtos em algumas populações específicas, como atletas, militares, prisioneiros, homens homossexuais e recém-nascidos. Em algumas situações, cepas de CA-MRSA foram relacionadas a infecções graves, como pneumonia necrotizante, fasciíte necrotizante, sepse e osteomielite (CRUM et. al., 2006; BUKHARIE 2010).

A tipagem molecular das cepas de CA-MRSA mostrou um perfil diferente quando comparado ao HA-MRSA. As cepas comunitárias mostraram ser em sua maioria do tipo *SCCmec* IV ou V enquanto as cepas hospitalares frequentemente são dos tipos I, II ou III. Além disso, os CA-MRSA apresentam resistência a um número menor de antimicrobianos não-beta-lactâmicos, ao passo que os HA-MRSA são, em sua maioria, multirresistentes (BENOIT et. al., 2008; DAVID; DAUM, 2010).

Outra característica comum aos CA-MRSA é a presença dos genes para a PVL responsável por uma citotoxina com afinidade aos neutrófilos humanos, levando a sua destruição e, conseqüentemente, dano tecidual (BOYLE-VAVRA; DAUM 2007; SPAAN et. al., 2015). Além disso, a PVL tem sido definida como importante fator que contribui para a virulência e disseminação do CA-MRSA (ZHANG et. al., 2008; CHAMBERS; DELEO 2009). A presença de *SCCmec* tipo IV e PVL tem sido utilizado como marcadores para o acompanhamento da disseminação de CA-MRSA em todo o mundo (VANDENESCH et. al., 2003). Entre 60 e 100% das cepas de CA-MRSA possuem genes para PVL (ROSSNEY et. al., 2007; SHALLCROSS et. al., 2013), sendo que essa porcentagem pode variar dependendo da região geográfica (MUNCKHOF et. al., 2003).

Com a recente elevação da presença de clones CA-MRSA em ambientes hospitalares, principalmente nos Estados Unidos, a distinção epidemiológica entre essas cepas e as HA-MRSA tem sido menos clara e, portanto, exigindo mais de um critério molecular para que seja possível a diferenciação (DAVID; DAUM, 2010).

A prevalência de infecções por CA-MRSA parece ser maior nos Estados Unidos do que em outras regiões do mundo, embora os dados ainda sejam

escassos em muitos países e continentes (WITTE , 2009; MEDIAVILLA et. al., 2012).

Nos Estados Unidos, o clone CA-MRSA mais comum é o ST8-SCC*mec* IVa (USA 300). Esse clone possui, além dos genes PVL, um elemento móvel catabólico de arginina (ACME), que é relacionado a uma maior capacidade de colonização da pele (DAVID; DAUM 2010). Além do clone citado acima, o ST1-SCC*mec* IV (USA400), ST30-SCC*mec* IV e ST59-SCC*mec* IV também podem ser encontrados em menor número (MEDIAVILLA et. al., 2012; MONECKE et. al., 2011). O Canadá possui um perfil semelhante aos Estados Unidos, sendo USA300 e USA400 os mais prevalentes (NICHOL et. al., 2013).

Na Europa existe uma série de clones diferentes circulando, sendo que maioria das infecções são provocadas pelo clone europeu ST80-SCC*mec* IV (VANDENESCH et. al., 2003). O clone USA300, responsável por pequenos surtos e infecções esporádicas, foi relatado na Dinamarca em 2000 (LARSEN et. al., 2007) e, posteriormente, em outros países como Áustria, Inglaterra, França, França, Holanda, Espanha e Itália (NIMMO 2012; SANCHINI et. al., 2013). Esses últimos dois países também já detectaram o clone USA300-LV (CERCENADO; RUIZ DE GOPEGUI, 2008; SANCHINI et al., 2011; DAVID; DAUM, 2010). O clone ST30-SCC*mec* IV é bastante comum em várias regiões do continente. Outros tipos também são encontrados em frequência variável dependendo da região, incluindo os clones ST22, ST59, ST122 e ST772 (MONECKE et. al., 2011; ELLINGTON et. al., 2010; MEDIAVILLA et. al., 2012).

O norte africano possui o clone ST80-SCC*mec* IV como sendo o mais comum (SCHAUMBURG et. al., 2014). A região central, oeste e leste do continente africano apresenta o clone ST80-SCC*mec* IV como mais prevalente (SCHAUMBURG et. al., 2014). No sul, ST612-SCC*mec* IV é clone mais comum (ABDULGADER et. al., 2015).

A Ásia apresenta uma ampla diversidade de clones circulando e a prevalência varia significativamente dependendo da região. O clone ST59 associado ao gene SCC*mec* IV, V ou V_T (V_{Taiwan}) encontra-se em Taiwan, China, Vietnã e Japão (DAVID; DAUM, 2010; SOWASH; UHLEMANN, 2014; CHEN; HUANG, 2014). O clone ST30-SCC*mec* IV pode ser encontrado em praticamente todo o continente, com maior prevalência em Singapura, Hong

Kong, Filipinas e Japão. Na Índia, o clone ST772-SCC*mec* V (clone Bengal Bay) é o predominante, embora ST22-SCC*mec* IV também seja encontrado. No Japão ainda é possível encontrar os clones ST8, ST88 e ST93 (CHEN; HUANG, 2014; DAVID; DAUM, 2010; MONECKE et. al., 2011; SOWASH; UHLEMANN, 2014; WILLIAMSON; COOMBS; NIMMO, 2014).

Na Austrália, o clone mais prevalente de CA-MRSA é o ST93-SCC*mec* IV, conhecido como clone Queensland. Porém, outros clones podem ser encontrados também, inclusive negativos para PVL (NIMMO; COOMBS, 2008). Deve ser notada a presença do clone ST75, geneticamente distinto do *S. aureus* e que, provavelmente, pertença a uma outra espécie. A Nova Zelândia possui como clone mais comum o ST30-SCC*mec* IV desde 2005. Antes disso, o clone ST5-SCC*mec* IV era o mais prevalente. Além desses citados, outros clones encontrados na Oceania são USA300, ST59-SCC*mec* V_T e ST772-SCC*mec* V, esses dois últimos também bastante comum na Ásia e que explica-se pela proximidade das duas regiões (WILLIAMSON et. al., 2014).

Na América do Sul, uma variante do clone ST8-SCC*mec* IVa (USA300) chamado de clone ST8-SCC*mec* IVc (USA300-LV) é o clone CA-MRSA mais prevalente. Esse clone, que possui o gene para PVL, mas não ACME, foi primeiramente descrito na Colômbia em 2009 (REYES et. al., 2009), e também é presente em muitos países, incluindo Peru, Equador, Brasil, Venezuela e Argentina (JIMENEZ et. al., 2012; EGEA et. al., 2014). No Brasil, o clone comunitário mais comum é o ST30-SCC*mec* IV (GELATTI, 2016).

Dessa forma, a caracterização da distribuição da resistência a antimicrobianos e relação com tipagem SCC*mec* de *S. aureus* torna-se relevante para o entendimento da situação local, permitindo um melhor entendimento sobre a epidemiologia do local de estudo. Nesse trabalho, foi pesquisada essa relação no Hospital Universitário da Região Norte do Paraná em infecções de pele e partes moles entre os anos de 2000 a 2019.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a distribuição temporal da resistência a antimicrobianos e relação com a tipagem *SCCmec* de *Staphylococcus aureus* isolados de pele e partes moles em um hospital na região sul do Brasil entre os anos 2000 a 2019.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Avaliar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos.

2.2.2 Comparar os dados de CIM₅₀ e CIM₉₀ entre as cepas de MSSA e MRSA utilizadas no estudo.

2.2.3 Identificar a tendência de resistência para os antimicrobianos betalactâmicos entre os anos de 2000 e 2019.

2.2.4 Determinar a frequência global dos antibiotipos identificados nos isolados clínicos de MRSA entre os anos de 2010 e 2019.

2.2.5 Observar a variação dos tipos *SCCmec* das amostras *mecA* positivas entre os anos de 2010 e 2019.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo retrospectivo, observacional, transversal, com pacientes de um hospital da região sul do Brasil, no período de 2010 a 2019. Trata-se de um hospital terciário da Rede Sentinela que possui 290 leitos.

Dados demográficos dos pacientes, resultados das culturas e de testes de sensibilidade a antimicrobianos foram obtidos do banco de dados do Sistema de Informação AGTA *Healthcare*, módulo LABHOS®, do laboratório de análises clínicas do hospital.

S. aureus foram isolados de culturas de sangue, pele e partes moles, fragmentos ósseos, secreções respiratórias, líquidos cavitários, urina, *swabs* de vigilância, entre outros. As hemoculturas foram realizadas utilizando-se Sistemas automatizados, BacT/ALERT® (bioMérieux, Durham, NC, USA) ou BD Bactec™ (Becton Dickinson). As demais culturas foram realizadas por metodologia manual, padronizada por Jorgensen et al. (2015).

A identificação das amostras assim como a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) a antimicrobianos foram realizadas pelos sistemas automatizados MicroScan WalkAway® (Siemens-Califórnia), Phoenix® (Becton- Dickinson) ou Vitek2® (bioMérieux- Durham, NC, USA), de acordo com o período de estudo, seguindo orientações dos fabricantes.

A CIM de vancomicina para *S. aureus* foi determinada pelo método de Etest®, utilizando-se fitas plásticas contendo o antimicrobiano em gradiente de concentração, de 0,16 a 256 µg/mL, de acordo com recomendações do fabricante.

Isolados que apresentaram CIM para oxacilina \geq a 4 µg/mL foram designados MRSA, enquanto os que apresentaram CIM para oxacilina menor a $<$ 4 µg/mL e para benzilpenicilina \geq 0,25 µg/mL foram considerados *S. aureus* sensíveis a meticilina (*Methicillin-susceptible S. aureus* – MSSA). Aqueles isolados que apresentaram CIM para benzilpenicilina \leq 0,12 µg/mL foram categorizados como *S. aureus* sensíveis a penicilina (*Penicillin-susceptible S. aureus* – PSSA).

Foram consideradas infecções hospitalares aquela desenvolvidas após um período de 72 horas de internação. Consequentemente, aquelas infecções observadas em um período anterior a esse, foram consideradas infecções comunitárias.

3.2 CLASSIFICAÇÃO DE MRSA EM ANTIBIOTIPOS

S. aureus foram categorizados em antibiotipos, de A a W, de acordo com as classes de antimicrobianos (macrolídeos, lincosaminas, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, sulfonamidas, rifampicina, oxazolidinona e glicilciclina), às quais apresentavam resistência.

O antibiotipo A apresentavam resistência a seis classes, exceto a oxazolidinona e glicilciclina. O B era resistente aos mesmos antimicrobianos, com exceção de rifampicina. O antibiotipo C apresentava resistência a betalactâmicos e a mais outras quatro classes, com exceção das sulfonamidas e rifampicinas. Já os MRSA que apresentavam antibiotipo D eram resistentes a macrolídeos, lincosaminas e fluoroquinolonas, e assim sucessivamente, como pode ser visualizado na tabela 1.

3.3 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Foram calculadas as CIM₅₀ e CIM₉₀, correspondem às CIM para antimicrobianos que correspondem a 50 e 90% dos isolados e comparadas entre isolados de MRSA e MSSA.

Resultados das CIM para oxacilina, benzilpenicilina, ceftaroline, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina, daptomicina, levofloxacina, prulifloxacina, gentamicina, sulfametoxazol-trimetoprim, rifampicina, linezolide, ácido fusídico, teicoplanina e tigeciclina, de *S. aureus* avaliados pelo Sistema Vitek2® (bioMérieux- Brasil) utilizando-se o painel 637 para microrganismos gram positivos, foram obtidos utilizando-se o sistema de gerenciamento de dados Observa®.

Para vancomicina, resultados das CIM, determinadas previamente por Etest® (bioMérieux-Durham, NC, USA), para amostras de *S. aureus*, foram

selecionadas do banco de dados do Sistema de Informação AGTA *Healthcare*, módulo LABHOS® do laboratório do hospital.

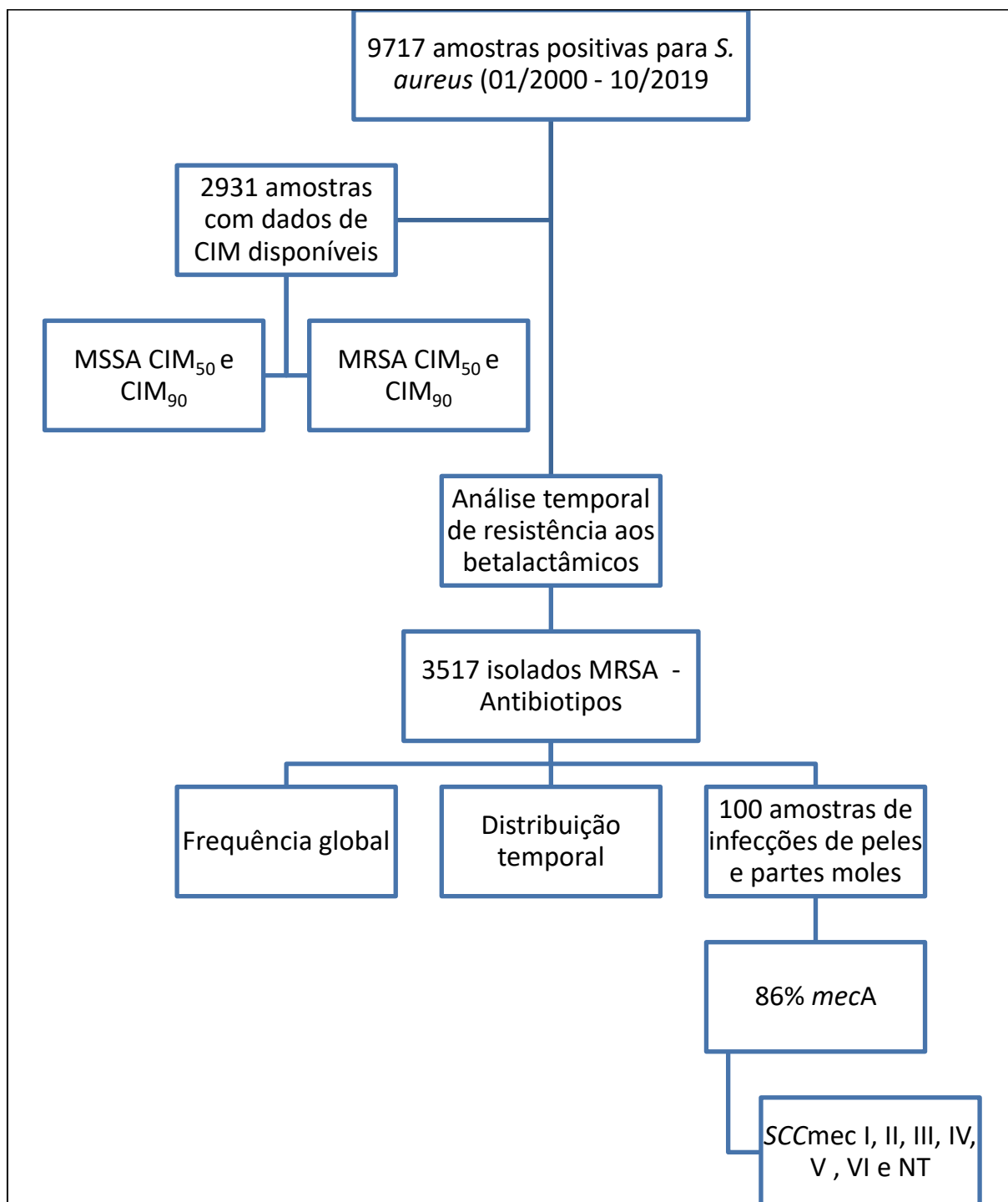


Figura 2 Fluxograma do delineamento do estudo

Tabela 1 - Relação dos antibiótipos verificados para MRSA, de acordo com o perfil de resistência aos antimicrobianos.

Antibiótipo	OX	PN	E	CLI	CIP	GN	SXT	RIF	TIG	LZD
A	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
B	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
C	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
D	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
E	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
F	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
G	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
H	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S
I	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S
J	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S
K	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S
L	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S
M	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
N	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S
O	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S
P	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S
Q	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S
S	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S
T	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S
U	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S
V	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S
W	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S

Legenda: R – resistente, S – sensível, OX - oxacilina, PN - benzilpenicilina, E - eritromicina, CLI – clindamicina, CIP - ciprofloxacina, GN – gentamicina, SXT - sulfametoxazol-trimetoprim, RIF – rifampicina, LZD – linezolide, TIG - tigeciclina

3.4 MÉTODOS GENOTÍPICOS

3.4.1 Reativação das Amostras

Foram selecionadas 100 amostras de *S. aureus* obtidas de culturas de pele e partes moles, estocadas no Banco de Bactérias do setor de microbiologia, para realização de testes moleculares. Os isolados foram recultivados em caldo de soja e tripticaseína (TSB) e posteriormente em ágar manitol salgado (Oxoid®, Hampshire, UK), sob condições aeróbicas, a 35 ° C, por 24 h. Colônias fermentadoras do manitol, sugestivas de *S. aureus* foram submetidas ao teste de

DNase. A resistência a betalactâmicos foi avaliada por disco-difusão, conforme preconizado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI -2018).

3.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A identificação de *S. aureus* foi confirmada por PCR, utilizando-se o gene da coagulase (*coa*), de acordo com Tiwari, Sapkota e Sen (2008) e o de termonuclease (*nuc*), de acordo com Hirotsuki et al. (2011). O DNA total foi extraído de acordo com Sambrook, Fritsch e Maniatis (1990).

O gene *mecA* também foi investigado para determinação genotípica de resistência a meticilina. As amostras positivas foram submetidas à tipagem *SCCmec* por multiplex PCR, conforme proposto por Milheiriço, Oliveira e Lencastre (2007). Foram investigados seis tipos de *SCCmec*: I, II, III, IV, V e VI. Os isolados que não se enquadraram em nenhum desses tipos foram categorizados como não-tipáveis (NT).

Como controle de qualidade foram utilizadas cepas de MRSA tipo I (NCTC10442), tipo II (N315), tipo III (85/2082), tipo IV (JCSC4744), e tipo V (WIS).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS – IBM Corp., Nova York, EUA), versão 20 para Windows para análise estatística. A tendência annual da prevalência de MRSA, assim como de MSSA, foi estudada por regressão linear usando GraphPad Prism v.6.01 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA). O teste χ^2 test foi usado para variáveis categóricas e o teste Exato de Fisher para variáveis contínuas, quando apropriado. Valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo

4 LOCAIS DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

Os testes descritos nesse trabalho foram realizados no setor de microbiologia do laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário de Londrina e no laboratório de biologia molecular de microrganismos (NIP5) localizado na Universidade Estadual de Londrina (UEL), Centro de Ciências Biológicas (CCB). O HUL é um hospital escola terciário e um centro de referência para cuidados de saúde no norte do Paraná. Utilizando o Sistema Único de Saúde, trata-se de um hospital exclusivamente de atendimento público. Conta com 313 leitos que atende pacientes oriundos de todo o Paraná e região.

5. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Os resultados obtidos neste trabalho foram apresentados e discutidos no artigo abaixo:

DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E RELAÇÃO COM A TIPAGEM SCCmec DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS DE PELE E PARTES MOLES, EM UM HOSPITAL NA REGIÃO SUL DO BRASIL DE 2000 A 2019.

RESUMO

Staphylococcus aureus resistentes a meticilina [*Methicillin-resistant S. aureus* – (MRSA)] é um patógeno altamente prevalente ao redor do mundo e responsável por causar diferentes infecções ao homem. Este estudo teve como objetivo avaliar a distribuição temporal de *S. aureus* nos últimos 20 anos, de acordo com o padrão de resistência a antimicrobianos, bem como sua relação com os tipos de SCCmec que circulam em hospital da região sul do Brasil. Entre os anos 2000 e 2002, a frequência de MRSA era maior (58,5%) do que a de MSSA (36,5%). No entanto, a partir de 2003 ocorreu uma inversão das taxas. MRSA reduziu para 29% em 2019 e MSSA aumentou para 59,9% em 2019. Surpreendentemente, *S. aureus* sensíveis a penicilinas [*Penicillin-susceptible S. aureus* – (PSSA)], apresentaram uma tendência de aumento ao longo do tempo. Além disso, a análise de diferentes antibiótipos permitiu a observação da ocorrência de isolados com SCCmec tipo II com perfis de resistência a um menor número de antimicrobianos, ao passo que também se observou a presença de isolados SCCmec tipo IV com perfis de resistência a um maior número de classes de antimicrobianos.

ABSTRACT

O *Staphylococcus aureus* resiste à meticilina [*S. aureus* resistente à meticilina - (MRSA)] é um patógeno altamente prevalente no mundo e responsável por causar diferentes danos ao homem. Este estudo teve como objetivo avaliar a distribuição temporal do *S. aureus* nos últimos 20 anos, de acordo com o padrão de resistência a antimicrobianos, bem como sua relação com os tipos de SCCmec que circulam no hospital da região sul do Brasil. Entre os anos 2000 e 2002, a frequência de MRSA era maior (58,5%) do que a MSSA (36,5%). No entanto, a partir de 2003, ocorreu uma inversão das taxas. MRSA reduziu para 29% em 2019 e MSSA aumentou para 59,9% em 2019. Surpreendentemente, o *S. aureus* utilizou penicilinas [*S. aureus* suscetível à penicilina - (PSSA)], apresentou uma tendência de aumento ao longo do tempo. Além disso, uma análise de diferentes antibióticos permitiu a observação da ocorrência de SCCmec tipo II com registros de resistência e um número menor de antimicrobianos, ao passo que também teve a presença de SCCmec tipo IV com testes de resistência a um maior número de classes de antimicrobianos.

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é um patógeno altamente prevalente ao redor do mundo. A partir dos anos 80, isolados resistentes a meticilina (*Methicillin-resistant S. aureus* – MRSA) surgiram nos anos 60, inicialmente em hospitais com poucos clones multirresistentes dominantes. Nas últimas três décadas, no entanto, foram identificados em infecções adquiridas na comunidade (*Community-acquired Methicillin-resistant S. aureus* – CA-MRSA).

A resistência a meticilina deriva primariamente da aquisição do gene *mecA*, o qual codifica uma proteína ligadora de penicilina (*Penicillin-binding protein- PBP2a*) com baixa afinidade por betalactâmicos. Este gene está inserido em um elemento genético móvel, o cassete cromossômico estafilocócico (*Staphylococcal cassette chromosome mec* – SCC*mec*).

MRSA relacionados a infecções hospitalares (*Hospital-acquired Methicillin-resistant S. aureus* – HA-MRSA) têm sido descritos como multirresistentes, ou seja, além da resistência a betalactâmicos, são resistentes a diversas classes de antimicrobianos como macrolídeos, lincosaminas, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos, e apresentam SCC*mec* dos tipos I, II ou III. Por outro lado CA-MRSA pdescritos como sensíveis aos antimicrobianos não betalactâmicos e portadores dos SCC*mec* tipo IV e V (ITO et al., 2015;....., MIGUEL et al., 2019).

Estudos multicêntricos têm mostrado que a frequência e a epidemiologia de *S. aureus* tem mudado na atualidade, em diversas áreas geográficas do mundo (ECDC et al., 2018; SASAI et al., 2019). Clones de MRSA originados na comunidade têm entrado nos hospitais, assim como isolados de HA-MRSA tem se disseminado para a comunidade. A emergência de infecções por estes novos tipos de MRSA tem alterado significativamente as opções terapêuticas (BOTELHO et al., 2019; KATEETE et al., 2019; MIGUEL et al., 2019).

No Brasil, porém, existem poucos dados acerca da epidemiologia molecular e sua relação com a sensibilidade a antimicrobianos de *S. aureus*, especialmente em isolados obtidos de infecções de pele e partes moles. Assim, neste estudo, foi examinada a distribuição temporal de *S. aureus* nos últimos 20

anos, de acordo padrão de resistência a antimicrobianos, bem como sua relação com os tipos de SCCmec, que circulam em um hospital na região sul do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

DELINEAMENTO DO ESTUDO E COLETA DE DADOS

Foi realizado um estudo retrospectivo, observacional, transversal, com pacientes de um hospital da região sul do Brasil, no período de 2010 a 2019. Trata-se de um hospital terciário da Rede Sentinela que possui 290 leitos.

Dados demográficos dos pacientes, resultados das culturas e de testes de sensibilidade a antimicrobianos foram obtidos do banco de dados do Sistema de Informação AGTA *Healthcare*, módulo LABHOS®, do laboratório de análises clínicas do hospital.

S. aureus foram isolados de culturas de sangue, pele e partes moles, fragmentos ósseos, secreções respiratórias, líquidos cavitários, urina, *swabs* de vigilância, entre outros. As hemoculturas foram realizadas utilizando-se Sistemas automatizados, BacT/ALERT® (bioMérieux, Durham, NC, USA) ou BD Bactec™ (Becton Dickinson). As demais culturas foram realizadas por metodologia manual, padronizada por Jorgensen et al. (2015).

A identificação das amostras assim como a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) a antimicrobianos foram realizadas pelos sistemas automatizados MicroScan WalkAway® (Beckman Coulter), Phoenix® (Becton, Dickinson) ou Vitek2® (bioMérieux- Durham, NC, USA), de acordo com o período de estudo, seguindo orientações dos fabricantes.

A CIM de vancomicina para *S. aureus* foi determinada pelo método de Etest® (bioMeriéux-Durham, NC, USA), utilizando-se fitas plásticas contendo o antimicrobiano em gradiente de concentração, de 0,16 a 256 µg/mL, de acordo com recomendações do fabricante.

Isolados que apresentaram CIM para oxacilina \geq a 4 µg/mL foram designados MRSA, enquanto os que apresentaram CIM para oxacilina menor a $<$ 4 µg/mL e para benzilpenicilina \geq 0,25 µg/mL foram considerados *S. aureus* sensíveis a meticilina (*Methicillin-susceptible S. aureus* – MSSA). Aqueles isolados que apresentaram CIM para benzilpenicilina \leq 0,12 µg/mL foram

categorizados como *S. aureus* sensíveis a penicilina (*Penicillin-susceptible S. aureus* – PSSA).

CLASSIFICAÇÃO DE MRSA EM ANTIBIOTIPOS

S. aureus foram categorizados em antibiotipos, de A a W, de acordo com as classes de antimicrobianos (macrolídeos, lincosaminas, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, sulfonamidas, rifampicina, oxazolidinona e glicilciclina), às quais apresentavam resistência.

O antibiotipo A apresentavam resistência a seis classes, exceto a oxazolidinona e glicilciclina. O B era resistente aos mesmos antimicrobianos, com exceção de rifampicina. O antibiotipo C apresentava resistência a betalactâmicos e a mais outras quatro classes, com exceção das sulfonamidas e rifampicinas. Já os MRSA que apresentavam antibiotipo D eram resistentes a macrolídeos, lincosaminas e fluoroquinolonas, e assim sucessivamente, como pode ser visualizado na tabela 1.

AValiação DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Foram calculadas as CIM₅₀ e CIM₉₀, correspondem às CIM para antimicrobianos que correspondem a 50 e 90% dos isolados e comparadas entre isolados de MRSA e MSSA.

Resultados das CIM para oxacilina, benzilpenicilina, ceftaroline, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacina, daptomicina, levofloxacina, prulifloxacina, gentamicina, sulfametoxazol-trimetoprim, rifampicina, linezolide, ácido fusídico, teicoplanina e tigeciclina, de *S. aureus* avaliados pelo Sistema Vitek2® (bioMérieux- Brasil) utilizando-se o painel 637 para microrganismos gram positivos, foram obtidos utilizando-se o sistema de gerenciamento de dados Observa®.

Tabela 1- Relação dos antibiótipos verificados para MRSA, de acordo com o perfil de resistência aos antimicrobianos.

Antibiótipo	OX	PN	E	CLI	CIP	GN	SXT	RIF	TIG	LZD
A	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
B	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
C	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
D	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
E	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
F	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
G	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
H	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S
I	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S
J	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S
K	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S
L	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S
M	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
N	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S
O	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S
P	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S
Q	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S
S	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S
T	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S
U	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S
V	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S
W	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S

Legenda: R – resistente, S – sensível, OX - oxacilina, PN - benzilpenicilina, E - eritromicina, CLI – clindamicina, CIP - ciprofloxacina, GN – gentamicina, SXT - sulfametoxazol-trimetoprim, RIF – rifampicina, LZD – linezolide, TIG - tigeciclina

Para vancomicina, resultados das CIM, determinadas previamente por Etest® (bioMérieux-Durham, NC, USA), para amostras de *S. aureus*, foram selecionadas do banco de dados do Sistema de Informação AGTA *Healthcare*, módulo LABHOS® do laboratório do hospital.

MÉTODOS GENOTÍPICOS

Reativação das Amostras

Foram selecionadas 100 amostras de *S. aureus* obtidas de culturas de pele e partes moles, estocadas no Banco de Bactérias do setor de microbiologia, para realização de testes moleculares. Os isolados foram recultivados em caldo de soja e tripticaseína (TSB) e posteriormente em ágar manitol salgado (Oxoid®),

Hampshire, UK), sob condições aeróbicas, a 35 ° C, por 24 h. Colônias fermentadoras do manitol, sugestivas de *S. aureus* foram submetidas ao teste de DNase. A resistência a betalactâmicos foi avaliada por disco-difusão, conforme preconizado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI -2018)*.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A identificação de *S. aureus* foi confirmada por PCR, utilizando-se o gene da coagulase (*coa*), de acordo com Tiwari, Sapkota e Sen (2008) e o de termonuclease (*nuc*), de acordo com Hirotaki et al. (2011). O DNA total foi extraído de acordo com Sambrook, Fritsch e Maniatis (1990).

O gene *mecA* também foi investigado para determinação genotípica de resistência a meticilina. As amostras positivas foram submetidas à tipagem *SCCmec* por multiplex PCR, conforme proposto por Milheiro, Oliveira e Lencastre (2007). Foram investigados seis tipos de *SCCmec*: I, II, III, IV, V e VI. Os isolados que não se enquadraram em nenhum desses tipos foram categorizados como não-tipáveis (NT).

Como controle de qualidade foram utilizadas cepas de MRSA tipo I (NCTC10442), tipo II (N315), tipo III (85/2082), tipo IV (JCSC4744), e tipo V (WIS).

Aspectos éticos

O estudo foi submetido ao comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Estadual de Londrina (CEP/UEL) sob o número CAAE: 78657317.0.0000.523.

Análise Estatística

Foi utilizado o software *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS – IBM Corp., Nova York, EUA)*, versão 20 para Windows para análise estatística. A tendência anual da prevalência de MRSA, assim como de MSSA, foi estudada por regressão linear usando GraphPad Prism v.6.01 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA). O teste χ^2 test foi usado para variáveis categóricas e o teste Exato de Fisher para variáveis contínuas, quando apropriado. Valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Foram analisados os resultados de 9.717 culturas positivas para *S. aureus*, realizadas no período de janeiro de 2000 a outubro de 2019. Verificou-se que a frequência de *S. aureus* foi maior em pacientes do sexo masculino (62%) e a média de idade foi 45 anos, variando de zero a 98 (noventa e oito) anos.

S. aureus foi isolado, mais frequentemente, de pele e partes moles (3.392 – 35%), de secreções respiratórias (1.698 – 17%) e de sangue (1.575 – 16%). A maioria dos pacientes 6.696 (67%) estava internada, sendo que 2.308 estavam em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Quanto ao desfecho, pode-se constatar que 79% dos pacientes receberam alta, enquanto 21% foram a óbito.

As CIM_{50/90} e os percentuais de resistência aos antimicrobianos para 2.931 *S. aureus* avaliados pelo Sistema Vitek2®, e para 303 amostras por Etest® para vancomicina e compara os dados obtidos entre isolados MRSA e MSSA (tabela 2).

A resistência global a oxacilina foi de 45% com CIM₅₀ e CIM₉₀ de 0,5 e 4 µg/mL. Já para ceftaroline, embora 100% dos isolados MSSA fossem sensíveis, verificou-se que 5% dos MRSA apresentaram resistência (CIM_{50/90}, 1/1 µg/mL).

O fenótipo de resistência a macrolídeos, lincosaminas e estreptograminas B (MLS_B) foi maior (85%) para MRSA (CIM_{50/90}, 8/8 µg/mL) do que para MSSA (30% -CIM_{50/90}, 0,25/0,25 µg/mL).

Por outro lado, índices variados de resistência para fluoroquinolonas foram encontrados. MSSA apresentaram 4% de resistência a ciprofloxacina e 3% a levofloxacina, enquanto para MRSA os índices foram de 85% e 89% respectivamente. Ao contrário, para prulifloxacina, uma nova fluoroquinololona ainda não. A resistência global a oxacilina foi de 45% com CIM₅₀ e CIM₉₀ de 0,5 e 4 µg/mL. Já para ceftaroline, embora 100% dos isolados MSSA fossem sensíveis, verificou-se que 5% dos MRSA apresentaram resistência (CIM_{50/90}, 1/1 µg/mL).

O fenótipo de resistência a macrolídeos, lincosaminas e estreptograminas B (MLS_B) foi mais frequente para MRSA (85% - CIM_{50/90}, 8/8 µg/mL) do que para MSSA (30% -CIM_{50/90}, 0,25/0,25 µg/mL).

Tabela 2 – Concentração Inibitória Mínima (CIM₅₀ e CIM₉₀) e percentual de resistência a diversos antimicrobianos de 2.931 *S. aureus* e a vancomicina de 303 amostras identificadas em um hospital da região sul do Brasil, no período de março de 2012 a outubro de 2019.

	MSSA (1.638)		MRSA (1.266)		p-valor
	CIM ₅₀ /CIM ₉₀	R	CIM ₅₀ /CIM ₉₀	R	
	µg/MI	%	µg/mL	%	
Benzilpenicilina	0.5/0.5	83	0.5/0.5	100	-
Oxacilina	0.25/0.5	00	4/4	100	< 0,05
Ceftaroline	0.25/0.25	00	1/1	05	< 0,05
Eritromicina	0.25/8	37	8/8	89	< 0,05
Clindamicina	0.25/0.25	30	8/8	85	< 0,05
Ciprofloxacina	0.5/0.5	04	8/8	85	< 0,05
Daptomicina	0.25/1	00	0.25/1	00	-
Levofloxacina	0.25/0.25	03	8/8	89	< 0,05
Prulifloxacina	0.5/1	00	0.5/0.5	00	-
Gentamicina	0.5/0.5	01	0.5/16	14	< 0,05
Rifampicina	0.5/0.5	01	0.5/0.5	08	< 0,05
Linezolida	2/2	00	2/2	00	-
Tigeciclina	0.12/0.12	00	0.12/0.12	00	-
Ácido fusídico	0.5/0.5	01	0.5/0.5	02	-
Teicoplanina	0.5/0.5	03	0.5/0.5	08	< 0,05
Sulfametoxazol/trimetoprim	0.5/0.5	03	0.5/1	10	< 0,05
Vancomicina** (303)	1.5/2	7,5	1.5/3	05	-

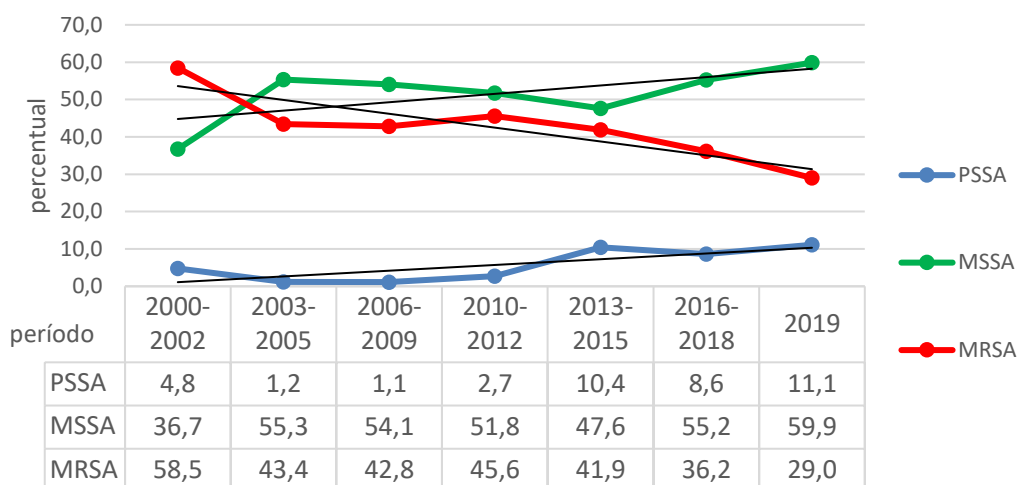
** Concentração inibitória mínima avaliada por Etest® para 303 isolados.

A resistência a gentamicina, sulfametoxazol-trimetoprim e rifampicina foi baixa, tanto para MSSA quanto para MRSA.

Quanto à vancomicina foi verificada resistência intermediária de 7,5% para MSSA (CIM_{50/90} 1,5/2 µg/mL) e de 5% para MRSA (5% - CIM_{50/90}, 1,5/3 µg/mL). Todos os isolados foram sensíveis a linezolid (CIM_{50/90}, 2/2 µg/mL), daptomicina (CIM_{50/90}, 0,25/1,0 µg/mL) e tigeciclina (CIM_{50/90}, 0,12/0,12 µg/mL).

A figura 1 mostra a distribuição de 9.717 *S. aureus*, de janeiro de 2000 a outubro de 2019, de acordo com a sensibilidade a betalactâmicos.

Figura 1 - Distribuição temporal de resistência a betalactâmicos para 9.717 *S. aureus* identificados em culturas de materiais clínicos, em um hospital da região sul do Brasil, no período de janeiro de 2000 a outubro de 2019.



Legenda: PSSA – *Penicillin-susceptible S. aureus*; MSSA – *Methicillin-susceptible S. aureus*; MRSA – *Methicillin-resistant S. aureus*

Entre os anos 2000 e 2002, a frequência de MRSA era maior (58,5%) do que a de MSSA (36,5%). No entanto, a partir de 2003 ocorreu uma inversão das taxas. MRSA reduziu para 29% em 2019 e MSSA aumentou para 59,9% em 2019. Surpreendentemente, *S. aureus* sensíveis a penicilinas (*Penicillin-susceptible S. aureus* – PSSA), apresentaram uma tendência de aumento ao longo do tempo.

Entre 3.517 amostras de MRSA avaliadas, verificou-se que 3.231 (92%) pertenciam aos antibiotipos A, B, C, D e G. O antibiotipo D foi o mais frequentemente identificado (1.092 – 31%), seguido pelos antibiotipos B (940 – 27%) e A (684 – 19%) (tabela 3).

Tabela 3 – Frequência global dos antibiotipos identificados entre 3.517 isolados clínicos de MRSA, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2018.

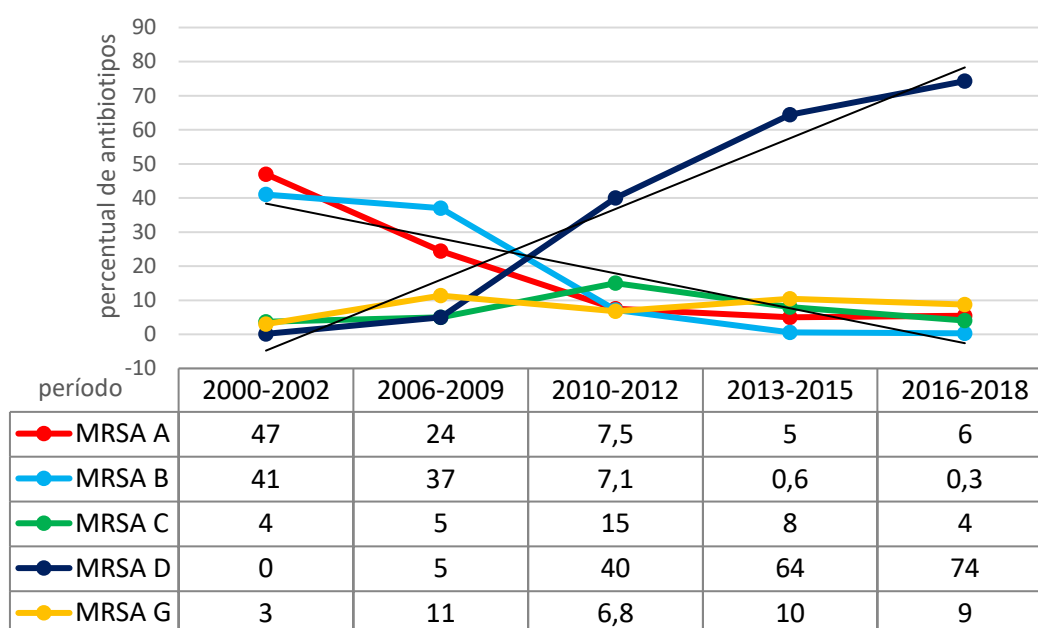
Antibiotipo	OX	PN	E	CLI	CIP	GN	SXT	RIF	TIG	LZD	no.	%
A	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	0684	19
B	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	0940	27
C	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	0264	8
D	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	1.092	31
G	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	0251	7
Outros											0286	8
Total											3.517	

Legenda: R – resistente, S – sensível, OX - oxacilina, PN - benzilpenicilina, E - eritromicina, CLI – clindamicina, CIP - ciprofloxacina, GN – gentamicina, SXT - sulfametoxazol-trimetoprim, RIF – rifampicina, LZD – linezolide, TIG – tigeciclina

A distribuição temporal dos antibiotipos mais frequentes é mostrada no gráfico1. Verifica-se que ocorreu uma inversão na distribuição dos antibiotipos ao longo do tempo.

Entre 2000 e 2002, os antibiotipos A e B eram responsáveis por 88% dos isolados. A partir de 2006 a 2009, no entanto, ocorreu uma redução significativa, de 61% para 1,2% em 2019. Por outro lado, o antibiotipo D, que não havia sido identificado antes de 2005, aumentou gradativamente a partir de 2006 de 5% para 74%, de 2016 a 2018, sendo atualmente o antibiotipo predominante. Já os antibiotipos C e G foram identificados em índices mais baixos, de 3 a 15%, apresentando pouca variação durante o período de estudo.

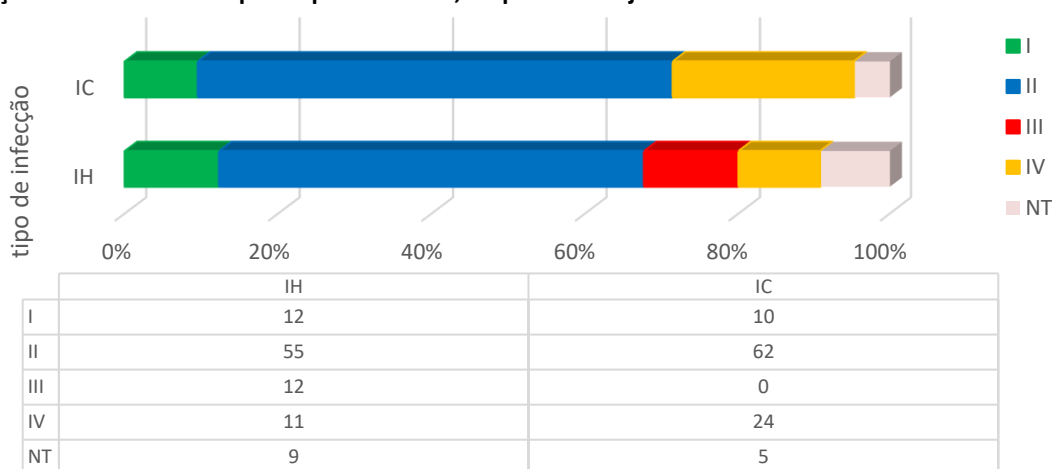
Figura 2 - Distribuição temporal dos antibiotipos mais frequentes para 3.517 isolados clínicos de MRSA, no período de janeiro de 2010 a outubro de 2019.



Foram selecionadas 100 amostras de *S. aureus* obtidas de pele e partes moles, no período de janeiro de 2010 a maio de 2018, para análise molecular. O gene *mecA* foi identificado em 86% das amostras. A tipagem *SCCmec* revelou que o *SCCmec* tipo II foi o mais frequente com 49% das amostras positivas. O tipo IV foi identificado em 14% enquanto o tipo I e as amostras não tipáveis foram positivos para 11,6 e 8,1% dos isolados, respectivamente.

Comparando-se os tipos de SCCmec identificados entre MRSA relacionados a infecções hospitalares e comunitárias, verifica-se que o tipo II foi o mais frequente nos dois grupos com 55 e 62%, respectivamente. O percentual de isolados portadores do SCCmec tipo IV foi maior no grupo de infecções comunitárias (24%) do que no de infecções hospitalares (11%). Por outro lado, os do tipo I foram verificados em proporção similar em ambos os tipos de infecção e os do tipo III só foram detectados nas amostras de pacientes com infecções hospitalares (12%).

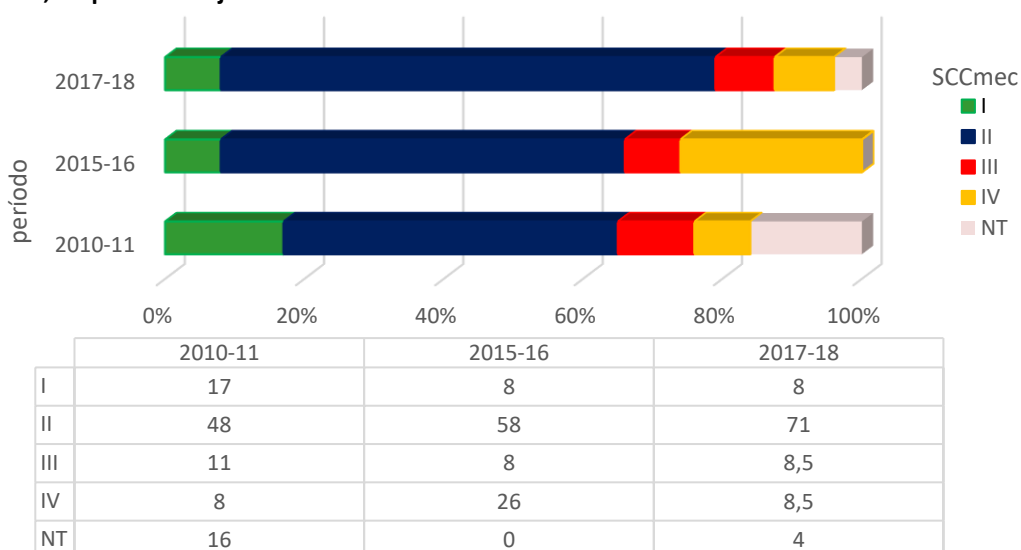
Figura 3 – Tipos de SCCmec identificados entre 65 MRSA relacionados a infecções hospitalares e 21 a infecções comunitárias de pele e partes moles, no período de janeiro de 2010 a maio de 2018.



Legenda: IH: Infecção Hospitalar; IC: Infecção Comunitária; I, II, III, IV, NT: Tipos de SCCmec

A figura 4 apresenta a distribuição temporal de 86 MRSA isolados de infecções de pele e partes moles e submetidos a tipagem SCCmec .

Figura 4 – Distribuição temporal dos tipos de SCCmec identificados entre 86 MRSA isolados de pele e partes moles, no período de janeiro de 2010 a maio de 2018



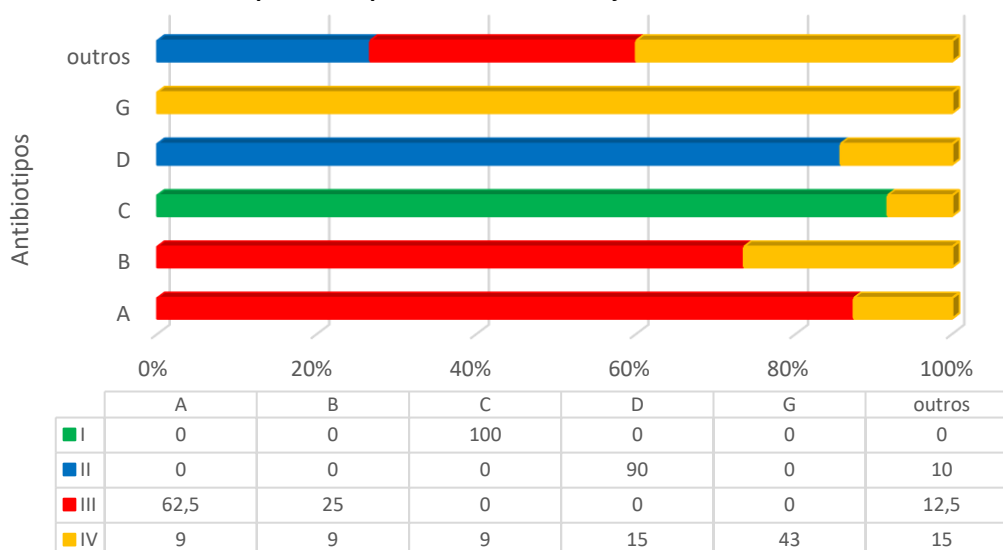
Legenda: I, II, III, IV, NT: Tipos de SCCmec

Avaliando-se a distribuição dos tipos de SCCmec identificados em MRSA ao longo do tempo, verificou-se que do tipo II aumentou de 48%, no primeiro período (2010-2011), para 58%, no segundo (2015-2016), e para 71% no terceiro (2017-2018). Ao contrário, ocorreu uma redução do SCCmec do tipo I de 17% entre 2010 e 2011 para 8% de 2015 a 2018. Por sua vez, isolados de MRSA contendo SCCmec tipo III se mantiveram em níveis baixos durante todo período (8 a 11%). Quanto a *S. aureus* portadores do tipo IV, verificou-se um que a frequência de 8%, no primeiro período (2010-2011), aumentou para 26% no segundo (2015-2016), e voltou aos níveis anteriores (8%), no terceiro período avaliado (2017 a 2018).

Uma análise da relação entre o padrão de resistência fenotípica a antimicrobianos e a tipagem SCCmec de *S. aureus*, obtidos de infecções de pele e partes moles, evidenciou que existe relação entre MRSA categorizados como pertencentes aos antibiotipos A, B, C, D e G como os tipos de SCCmec que apresentam.

Isolados de MRSA que possuíam o SCCmec do tipo I foram caracterizados como antibiotipo C em todas as amostras analisadas (100%). De forma similar, 90 % dos *S. aureus* portadores do SCCmec tipo II pertenciam ao antibiotipo D, e 87,5% dos portadores do tipo III, aos antibiotipos que apresentavam resistência à maior parte das classes de antimicrobianos avaliadas, A e B.

Figura 5 - Relação entre resistência a antimicrobianos (antibiotipos) e tipos de SCCmec para 86 isolados de MRSA, obtidos de pele e partes moles de janeiro de 2010 a maio de 2018.



Legenda: I, II, III, IV, NT: Tipos de SCCmec, A, B, C, D, G: Antibiotipos.

Já entre MRSA contendo SCCmec tipo IV, esta relação não foi tão evidente. A maior parte das amostras foi associada ao antibiótipo G (43%), caracteristicamente sensível a não betalactâmicos, no entanto, este genótipo também foi identificado em isolados mais resistentes, como os antibiótipos A, B e C em 8% cada e ao D em 15% das amostras analisadas.

DISCUSSÃO

Neste estudo, verificou-se uma mudança na epidemiologia de *S. aureus* ao longo de um período de 20 anos. Nossos dados indicam declínio na frequência de MRSA e um correspondente aumento de MSSA, bem como de PSSA. Aliado a este fato evidenciou-se modificação nos tipos de SCCmec de MRSA isolados em infecções de pele e partes moles, bem como uma relação entre a mudança do padrão de resistência e as características moleculares de *S. aureus* ao longo dos anos.

Diversos estudos têm apontado mudança na epidemiologia de *S. aureus* nos últimos anos (Karlowsky, Hoban, Hackel, Lob, & Sahm, 2017; Sader, Mendes, Streit, 2017; Tian, Zhang, & Sun, 2019, Diekema et al, 2019, Walter et al., 2017). Da mesma forma, no nosso estudo verificou-se declínio na proporção de MRSA e consequente aumento de MSSA.

Na publicação do Programa multicêntrico de vigilância a antimicrobianos, SENTRY, realizado por Diekema, et al. (2019), foram avaliados 191.460 *S. aureus* obtidos num período de 20 anos. A frequência global de MRSA foi de 77.146 (40,3%), tendo variado de 26,8% na Europa e 47,0% na América do Norte. Uma análise da tendência de resistência a metilina ao longo do tempo, evidenciou que a proporção de MRSA entre isolados de *S. aureus* aumentou de 33,1% de 1997–2000 para 44,2% em 2005–2008, e então diminuiu para 42,3% de 2009–2012 e 39,0% de 2013–2016. Da mesma forma, ocorreu redução na resistência dos isolados de MRSA a vários outros antimicrobianos entre 2010 e 2015. Resistência a antimicrobianos de última linha, incluindo ceftaroline, daptomicina, linezolida, tigeciclina, vancomicina e teicoplanina, permaneceram raras. Nossos dados concordam com os apresentados por Diekeman et al.,

(2019) com relação à tendência temporal de MRSA. Por outro lado, verificamos índices de resistência maiores para clindamicina, ceftaroline e vancomicina.

Schulte & Munson, (2019) avaliaram 309 isolados clínicos de *S. aureus* coletados em Wisconsin, como parte de outro estudo multicêntrico de vigilância, o *Surveillance of Wisconsin Organisms for Trends in Antimicrobial Resistance and Epidemiology Program* (SWOTARE). Foi observado resistência a penicilina para 86% dos isolados, a meticilina para 56,8%, a levofloxacina para 25%, clindamicina para 20,5%. Além disto, foi constatado que MRSA apresentaram taxas de resistência mais elevadas para clindamicina, eritromicina e levofloxacina quando comparados aos isolados MSSA. Quase todos *S. aureus* demonstraram sensibilidade a ceftaroline, dalbavancina, telavancina e vancomicina (CIM₉₀ de 1 µg/mL). A proporção de MRSA diminuiu continuamente de 16% em 2010 para 10% em 2015. Interessantemente tem sido verificado, também redução da resistência a penicilina em isolados MSSA por este e outros autores (Cheng, René, Cheng, & Lee, 2016; Jokinen et al., 2017; SaderHS, MendesRE, StreitJM, 2017)

Recentemente, a disseminação de *S. aureus* resistentes à meticilina portadores do elemento SCCmec tipo IV, adquiridos na comunidade (CA-MRSA) tem sido frequentemente relatados em hospitais do mundo todo. *S. aureus* tem sido apontado como um agente frequente de em pacientes ambulatoriais, no entanto tem sido apontado que a epidemiologia destas infecções tem se modificado nos últimos anos. Kaku et al. (2019) avaliaram a frequência e epidemiologia molecular de *S. aureus* de infecções de pele e tecidos moles coletados pelo Programa Nacional de vigilância japonesa (Japanese nationwide surveillance) entre janeiro e outubro de 2013. Neste estudo, 141 amostras de *S. aureus*, cerca de 25% dos isolados eram resistentes à meticilina e foram submetidas à tipagem SCCmec. A porcentagem de SCCmec encontrados foi de 1,4% para o tipo I, 52,5% para o tipo II, 5,7% para o tipo III e 40,4% para o tipo IV. Inicialmente, cepas de MRSA adquiridas no hospital (HA-MRSA) exibiam resistência de alto nível a múltiplos agentes antimicrobianos, enquanto as cepas de CA-MRSA geralmente eram sensíveis a antimicrobianos não betalactâmicos. Dessa forma poderia-se prever que o antibiograma da população HA-MRSA mudasse junto com o genótipo de MRSA.

Harada et al (2019) investigaram as alterações na população de MRSA e sua relação com o antibiograma, em isolados de infecções da corrente sanguínea, em um hospital, entre 2010 e 2016. Os autores verificaram que os isolados portadores do SCCmec tipo II, característicos de HA-MRSA, e que eram prevalentes em 2010, foram substituídos por MRSA SCCmec tipo IV, principal tipo de CA-MRSA. A alteração do genótipo foi seguida pela alteração no antibiograma.

Para caracterizar isolados de MRSA em um hospital de ensino superior brasileiro, entre 2005 e 2010, foram recuperados 45 isolados de pacientes internados na unidade de terapia intensiva de um hospital público da região sudeste brasileira. Foi verificado que 100% dos isolados avaliados eram resistentes para clindamicina, eritromicina e levofloxacina, 88,8% para rifampicina e 86,6% para gentamicina. Os isolados apresentavam elementos SCCmec dos tipo III (66,7%), II (17,8%), IV (4,4%) e I (2,2%). Quatro (8,9%) isolados carregavam cassetes não tipificáveis. A maioria (66,7%) dos isolados estava relacionada ao clone endêmico brasileiro, CC8/SCCmecIII, que foi predominante (89,3%) entre 2005 e 2007, enquanto a linhagem USA100/CC5/SCCmec II, que surgiu em 2007 foi mais frequente nos últimos anos (Nascimento et al., 2018). Embora tenha sido realizado em um hospital brasileiro, nossos resultados diferem dos apresentados pelos autores. Os percentuais de resistência a antimicrobianos verificados no nosso estudo foram inferiores aos apresentados, especialmente para gentamicina e rifampicina. O clone prevalente foi o que possuía o SCCmec tipo II, seguido pelo tipo IV e não o tipo III. Este estudo ressalta a importância da vigilância regional, uma vez que o conhecimento da epidemiologia é fundamental no estabelecimento de terapia adequada.

No estudo realizado por Nicholaras et al. (2019) avaliaram MRSA obtidos de infecções de corrente sanguínea no período de 2000 a 2015 e verificaram uma baixa prevalência do clone de HA-MRSA multirresistente, provavelmente o clone pandêmico portador do SCCmec tipo III, e uma frequência crescente do SCCmec tipo II e CA-MRSA tipo IV. Em 2001 raros casos de clones USA300 e USA400 haviam sido observados.

Os fatores que contribuíram para essas profundas mudanças em nosso ambiente não são claros. O declínio das infecções por MRSA, observada também por outros pesquisadores precedeu o intenso programa de controle de infecções implementado na década anterior e, assim, parece não estar relacionado a intervenções de controle de infecção (See et al., 2019; Walter et al., 2017).

Chambers & DeLeo, (2009) tem relatado que eventos semelhantes, isto é, emergência, expansão e declínio de um clone de MRSA com substituição por outro clone tem ocorrido repetidamente no processo evolutivo de MRSA. D'Agata et al., (2009) reportaram que, provavelmente, clones de CA-MRSA se tornarão dominantes em hospitais, devido ao fato de haver um reservatório em expansão de MRSA na comunidade e seu influxo contínuo no hospital.

Durante o último período do estudo (2014–2015) de Nicholaras et al., (2019), 27% das infecções da corrente sanguínea por *S. aureus* eram causadas por isolados portadores do elemento SCCmec IV, relacionado ao clone comunitário ST80, que indicam que os clones de origem comunitária quando dentro do hospital se comportam mais como HA-MRSA e pode causar não apenas infecções de pele e tecidos moles, mas também infecções invasivas graves com perfis semelhantes de doenças (Moore et al., 2009). O potencial destes isolados se tornarem multirresistentes em ambientes de saúde é um fator preocupante. De fato, os autores identificaram um isolado ST80-IV resistente a sete classes diferentes de antimicrobianos como fluoroquinolonas, macrolídeos, clindamicina, tetraciclina, ácido fusídico, rifampicina e gentamicina.

No presente estudo também foi verificado que a resistência a antimicrobianos está relacionada ao padrão molecular dos MRSA.

CONCLUSÕES

O declínio na proporção de MRSA ao longo de 20 anos e, conseqüentemente, o aumento de MSSA, alerta para a constante necessidade de acompanhamento e revisão dos perfis de resistência e sensibilidade nas instituições de saúde.

MRSA e MSSA apresentaram diferentes padrões de resistência, sendo MRSA significativamente mais resistente a eritromicina, clindamicina e ciprofloxacina. Para antimicrobianos de última escolha, como tigeciclina, linezolid e daptomicina, tanto MRSA quanto MSSA permanecem com baixas taxas de resistência.

Ocorreu uma inversão na frequência dos isolados pertencentes aos antibiótipos A e B com o D. A frequência dos antibiótipos A e B eram superiores no primeiro período (2000 a 2002) mas tiveram redução significativa até 2010, por outro lado o antibiótipo D emergiu a partir de 2006 e aumentou gradativamente até 2019.

Foram identificados 4 tipos de SCCmec entre MRSA isolados de pele e partes moles. Os tipos de SCCmec mais frequentes foram o tipo II e o tipo IV. MRSA portadores do SCCmec tipo II aumentaram ao longo do tempo, enquanto do tipo I diminuiu, já os do tipo IV apresentaram um pico no segundo período, mas voltaram a cair no final. Isso mostra uma forte relação entre padrão de resistência bacteriana e tipo SCCmec.

REFERÊNCIAS

BOTELHO, Ana Maria Nunes et al. Local Diversification of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST239 in South America After Its Rapid Worldwide Dissemination. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 10, p.12-27, 27 fev. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00082>.

CALFEE, David P. Trends in Community Versus Health Care-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. **Curr Infect Dis Rep**. 19:48. 03 Nov 2017

CHAMBERS, Henry F.; DELEO, Frank R.. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 7, n. 9, p.629-641, set. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2200>.

CHENG, Matthew P. et al. Back to the Future: Penicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*. **The American Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 129, n. 12, p.1331-1333, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2016.01.048>

D'AGATA, Erica m. c. et al. Modeling the Invasion of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* into Hospitals. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 48, n. 3, p.274-284, fev. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/595844>.

DAYAN, G. H. et al. *Staphylococcus aureus* : the current state of disease, pathophysiology and strategies for prevention. **Expert Review of Vaccines**, v. 15, n. 11, p. 1373–1392, 9 nov. 2016.

DIEKEMA, Daniel J et al. Twenty-Year Trends in Antimicrobial Susceptibilities Among *Staphylococcus aureus* From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Open Forum Infectious Diseases**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.47-53, mar. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/ofid/ofy270>.

EVANS, Glen A.. Molecular cloning: A laboratory manual. Second edition. Volumes 1, 2, and 3. Current protocols in molecular biology. Volumes 1 and 2. **Cell**, [s.l.], v. 61, n. 1, p.17-18, abr. 1990. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90210-6](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(90)90210-6).

HARTMAN BJ, TOMASZ A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. **J Bacteriol**, v. 158, p.513–516, 1984.
HAYDEN, M. K. et al. Development of Daptomycin Resistance In Vivo in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 43, n. 10, p.5285-5287, 1 out. 2005. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.43.10.5285-5287.2005>

HIROTAKI, S. et al. Rapid and Accurate Identification of Human-Associated *Staphylococci* by Use of Multiplex PCR. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 49, n. 10, p.3627-3631, 10 ago. 2011. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.00488-11>

ITO, Ayumu et al. Increase in SCCmec type IV strains affects trends in antibiograms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a tertiary-care hospital. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 64, n. 7, p.745-751, 1 jul. 2015. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.000080>.

JOKINEN, Elina et al. Trends in incidence and resistance patterns of *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Infectious Diseases**, [s.l.], v. 50, n. 1, p.52-58, 21 nov. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/23744235.2017.1405276>.

KANJILAL, Sanjat et al. Trends in Antibiotic Susceptibility in *Staphylococcus aureus* in Boston, Massachusetts, from 2000 to 2014. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 56, n. 1, p.1-10, 1 nov. 2017. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.01160-17>.

KARLOWSKY, James A. et al. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative ESKAPE pathogens isolated from hospitalized patients with intra-abdominal and urinary tract infections in Asia–Pacific countries: SMART 2013–2015. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 66, n. 1, p.61-69, 1 jan. 2017. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.000421>.

KATEETE, David Patrick et al. Nasopharyngeal carriage, spa types and antibiotic susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* from healthy children less than 5 years in Eastern Uganda. **Bmc Infectious Diseases**, [s.l.], v. 19, n. 1, p.1-10, dez. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-019-4652-5>.

LAUPLAND, K.b. et al. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: a multinational population-based surveillance study. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 19, n. 5, p.465-471, maio 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03903.x>.

LEE, Andie S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Disease Primers**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.1-23, 31 maio 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>.

LÉVESQUE, S. et al. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood culture isolates: results of the Quebec Provincial Surveillance Programme. **Epidemiology And Infection**, [s.l.], v. 143, n. 7, p.1511-1518, 20 ago. 2014. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s095026881400209x>.

MIGUEL, Claudia P. Vicetti et al. A decade of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*: A single center experience. **Plos One**, [s.l.], v. 14, n. 2, p.21-29, 12 fev. 2019. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0212029>.

MOORE, Carol L. et al. Comparative evaluation of epidemiology and outcomes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) USA300 infections causing community- and healthcare-associated infections. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, [s.l.], v. 34, n. 2, p.148-155, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.03.004>.

NASCIMENTO, Thiago C. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from an intensive care unit in Minas Gerais, Brazil, over a six-year period. **The Brazilian Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.55-59, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2017.10.004>.

ROSENTHAL, Víctor Daniel et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 43 countries for 2007-2012. Device-associated module. **American Journal Of Infection Control**, [s.l.], v. 42, n. 9, p.942-956, set. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2014.05.029>.

SADER, Helio S. et al. Antimicrobial Susceptibility Trends among *Staphylococcus aureus* Isolates from U.S. Hospitals: Results from 7 Years of the Ceftaroline (AWARE) Surveillance Program, 2010 to 2016. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 61, n. 9, p.1-7, 19 jun. 2017. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01043-17>.

SCHULTE, Rebecca H.; MUNSON, Erik. *Staphylococcus aureus* Resistance Patterns in Wisconsin. **Clinical Medicine & Research**, [s.l.], v. 17, n. 3-4, p.72-81, 3 out. 2019. Marshfield Clinic Research Foundation. <http://dx.doi.org/10.3121/cm.2019.1503>.

SEE, Isaac et al. Trends in Incidence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections Differ by Strain Type and Healthcare Exposure, United States, 2005–2013. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], p.1-10, 25 fev. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciz158>.

TIAN, Lei; ZHANG, Zhen; SUN, Ziyong. Antimicrobial resistance trends in bloodstream infections at a large teaching hospital in China: a 20-year surveillance study (1998-2017). **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.3-12, 28 maio 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13756-019-0545-z>.

TIWARI, H. K., SAPKOTA, D., & Sen, M. R. (2008). Evaluation of different tests for detection of *Staphylococcus aureus* using coagulase (*coa*) gene PCR as the gold standard. **Nepal Medical College Journal**, 10(2), 129–131

TONG, Steven Y. C. et al. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.603-661, 27 maio 2015. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00134-14>.

WALTER, Jan et al. Decline in the proportion of methicillin resistance among *Staphylococcus aureus* isolates from non-invasive samples and in outpatient settings, and changes in the co-resistance profiles: an analysis of data collected within the Antimicrobial Resistance Surveillance Network, Germany 2010 to 2015. **Bmc Infectious Diseases**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.12-20, 23 fev. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-017-2271-6>.

WEINER, Lindsey M. et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, [s.l.], v. 37, n. 11, p.1288-1301, 30 ago. 2016. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/ice.2016.174>.

6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação constante dos perfis de resistência de MRSA é de grande importância para que condutas clínicas e terapêuticas sejam revisadas e atualizadas frequentemente, a fim de otimizar o cuidado ao paciente. A avaliação temporal de isolados MRSA, MSSA e PSSA, tal qual a análise das mudanças de padrão SCC-*mec* e de antibiotipos durante o período do estudo, permite a compreensão de que a ocorrência de achados laboratoriais diferentes daqueles anteriormente observados mostra que há a necessidade de atenção constante ao manejo do paciente e terapias farmacológicas adaptadas à realidade atual.

Perfis de resistência que outrora foram definidos como clones hospitalares ou clones comunitários deixam de ter essa classificação de forma clara, pois a transferência gênica de informações, assim como a disseminação de diferentes cepas no hospital e na comunidade, tornam essa definição mais ampla e difícil de ser determinada.

REFERÊNCIAS

ABDULGADER, Shima M. et al. Molecular epidemiology of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Africa: a systematic review. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 6, p.1-21, 30 abr. 2015. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.00348>

ANDERSEN, Bjørg Marit; RASCH, Mette; SYVERSEN, Gaute. Is an increase of MRSA in Oslo, Norway, associated with changed infection control policy? **Journal Of Infection**, [s.l.], v. 55, n. 6, p.531-538, dez. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2007.09.008>.

ANDRADE-FIGUEIREDO, M.; LEAL-BALBINO, T. C. Clonal diversity and epidemiological characteristics of Staphylococcus aureus: high prevalence of oxacillinsusceptible mecA-positive Staphylococcus aureus (OS-MRSA) associated with clinical isolates in Brazil. **BMC Microbiology**, v. 16, p. 115, dez. 2016.

ANTONANZAS, Fernando; LOZANO, Carmen; TORRES, Carmen. Economic Features of Antibiotic Resistance: The Case of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. **Pharmacoeconomics**, [s.l.], v. 33, n. 4, p.285-325, 2 dez. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40273-014-0242-y>.

ARIAS, Cesar A. et al. A Prospective Cohort Multicenter Study of Molecular Epidemiology and Phylogenomics of Staphylococcus aureus Bacteremia in Nine Latin American Countries. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 61, n. 10, p.1-29, 31 jul. 2017. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00816-17>

AYKAC, K.; OZSUREKCI, Y.; BASARANOGLU, S. T. Future Directions and Molecular Basis of Ventilator Associated Pneumonia. **Can Respir J.**, v. 2017, n. i, 2017.

BABA, T. et al. Complete Genome Sequence of *Staphylococcus aureus* Strain JSCS5402, Reflecting the Ancestral Genome of the Human-Pathogenic Staphylococci. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 191, n. 4, p.1180-1190, 12 dez. 2008. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.01058-08>.

BARRETT, Fred F.; MCGEHEE, Read F.; FINLAND, Maxwell. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus at Boston City Hospital. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 279, n. 9, p.441-448, 29 ago. 1968. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejm196808292790901>

BECKER, Karsten et al. Plasmid-Encoded Transferable mecB-Mediated Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 24, n. 2, p.242-248, fev. 2018. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid2402.171074>

BENGUALID, V.; BERGER, J.. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 37, n. 3, p.466-466, 1 ago. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/376647>.

BENOIT, Stephen R. et al. Community Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Potential Cause of Healthcare-associated Infections, Uruguay, 2002–2004. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 14, n. 8, p.1216-1223, ago. 2008. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1408.071183>.

BENS, C. C. P. M.; VOSS, A.; KLAASSEN, C. H. W.. Presence of a Novel DNA Methylation Enzyme in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Associated with Pig Farming Leads to Uninterpretable Results in Standard Pulsed-Field Gel Electrophoresis Analysis. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 44, n. 5, p.1875-1876, 1 maio 2006. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.44.5.1875-1876.2006>

BLUMBERG H, RIMLAND D, CARROLL D, TERRY P, WACHSMUTH I : Rapid development of ciprofloxacin resistance in methicillin susceptible - and resistant - *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 163, p. 1279-1285, jun. 1991.

BOBIN-DUBREUX S, REVERDY M E, NERVI C, et. al.: Clinical isolate of vancomycin heterointermediate *Staphylococcus aureus* susceptible to methicillin na in vitro selection of a vancomycin resistant derivative. **Antimicrob. Agents Chemother**, v.45, p.349-352, 2001.

BONDI, A.; DIETZ, C. C.. Penicillin Resistant Staphylococci. **Experimental Biology And Medicine**, [s.l.], v. 60, n. 1, p.55-58, 1 out. 1945. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.3181/00379727-60-15089>.

BOYLE-VAVRA, Susan; DAUM, Robert S. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Pantone–Valentine leukocidin. **Laboratory Investigation**, [s.l.], v. 87, n. 1, p.3-9, 4 dez. 2006. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.3700501>.

BUKHARIE, Huda. A review of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* for primary care physicians. **Journal Of Family And Community Medicine**, [s.l.], v. 17, n. 3, p.117-121, 2010. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/1319-1683.74320>.

BURIAN, Marc et al. Temporal Expression of Adhesion Factors and Activity of Global Regulators during Establishment of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization. **The Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 201, n. 9, p.1414-1421, maio 2010. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/651619>.

BYNOE, E. T.; ELDER, R. H.; COMTOIS, R. D.. PHAGE-TYPING AND ANTIBIOTIC-RESISTANCE OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED IN A GENERAL HOSPITAL. **Canadian Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 2, n. 3, p.346-358, maio 1956. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/m56-041>.

CABOCLO, Roberta Mello Ferreira et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Rio de Janeiro hospitals: Dissemination of the USA400/ST1 and USA800/ST5 SCCmec type IV and USA100/ST5 SCCmec type II lineages in a public institution and polyclonal presence in a private one. **American Journal Of Infection Control**, [s.l.], v. 41, n. 3, p.21-26, mar. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2012.08.008>.

CAIAFFA-FILHO H H, at. al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying SCCmec type II was more frequent than the Brazilian endemic clone as a cause of nosocomial bacteremia. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.76, p.518-520, jan. 2013.

CALFEE, David P. Trends in Community Versus Health Care-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. **Curr Infect Dis Rep**. 19:48. 03 Nov 2017.

CDC; STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTANT TO VANCOMYCIN???UNITED STATES, 2002. **Infectious Diseases In Clinical Practice**, [s.l.], v. 11, n. 3, p.163-168, mar. 2002. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/00019048-200203000-00016>

CERCENADO E, Ruiz de Gopegui E Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Enferm Infecc Microbiol Clin** v.26 p.19–24, 2008.

CHAMBERS, Henry F.; DELEO, Frank R.. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 7, n. 9, p.629-641, set. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2200>

CHAMON, R. C. et al. Complete substitution of the Brazilian endemic clone by other methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages in two public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 21, p. 185–189, mar. 2017.

CHEN, C.-j.; HUANG, Y.-c.. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 20, n. 7, p.605-623, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12705>.

CHUNG, Marilyn et al. Heterogeneous oxacillin-resistant phenotypes and production of PBP2A by oxacillin-susceptible/mecA-positive MRSA strains from Africa. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 71, n. 10, p.2804-2809, 7 jun. 2016. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkw209>.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. **CLSI supplement M100** (ISBN 1-56238-838-X [Print]; ISBN 1-56238-839-8 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2018.

COOKSON, B. D. et al. Evaluation of Molecular Typing Methods in Characterizing a European Collection of Epidemic Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Strains: the HARMONY Collection. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 45, n. 6, p.1830-1837, 11 abr. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.02402-06>

COURVALIN, Patrice. Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 42, n. 1, p.25-34, 1 jan. 2006. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/491711>.

COWAN, S. T.. Classification of staphylococci by slide agglutination. **The Journal Of Pathology And Bacteriology**, [s.l.], v. 48, n. 1, p.169-173, jan. 1939. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/path.1700480117>.

COWAN, S. T.; SHAW, C.; WILLIAMS, R. E. O.. Type Strain for Staphylococcus aureus Rosenbach. **Journal Of General Microbiology**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.174-176, 1 fev. 1954. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/00221287-10-1-174>.

CRUM, Nancy F. et al. Fifteen-Year Study of the Changing Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. **The American Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 119, n. 11, p.943-951, nov. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.01.004>.

CUI, L. et al. Correlation between Reduced Daptomycin Susceptibility and Vancomycin Resistance in Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 50, n. 3, p.1079-1082, 21 fev. 2006. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.50.3.1079-1082.2006>.

DAUWALDER, O. et al. Epidemiology of Invasive Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Clones Collected in France in 2006 and 2007. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 46, n. 10, p.3454-3458, 30 jul. 2008. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.01050-08>

DAVID, M. Z.; DAUM, R. S.. Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.616-687, 1 jul. 2010. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00081-09>.

DAVID, Michael Z. et al. Pediatric Staphylococcus aureus Isolate Genotypes and Infections from the Dawn of the Community-Associated Methicillin-Resistant S. aureus Epidemic Era in Chicago, 1994 to 1997. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 53, n. 8, p.2486-2491, 27 maio 2015. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.00096-15>.

DAVIES, T. A. et al. Binding of Ceftobiprole and Comparators to the Penicillin-Binding Proteins of Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, and Streptococcus pneumoniae. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 51, n. 7, p.2621-2624, 30 abr. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00029-07>.

DAYAN, G. H. et al. Staphylococcus aureus : the current state of disease, pathophysiology and strategies for prevention. **Expert Review of Vaccines**, v. 15, n. 11, p. 1373–1392, 9 nov. 2016.

DELEO, Frank R et al. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **The Lancet**, [s.l.], v. 375, n. 9725, p.1557-1568, maio 2010. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61999-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61999-1).

DEURENBERG, Ruud H.; STOBBERINGH, Ellen E.. The evolution of Staphylococcus aureus. **Infection, Genetics And Evolution**, [s.l.], v. 8, n. 6, p.747-763, dez. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2008.07.007>

DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M.. Exotoxins of Staphylococcus aureus. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.16-34, 1 jan. 2000. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.13.1.16-34.2000>.

EGEA, Ana L. et al. New patterns of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) clones, community-associated MRSA genotypes behave like healthcare-associated MRSA genotypes within hospitals, Argentina. **International Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 304, n. 8, p.1086-1099, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.08.002>.

EGEA, Ana L. et al. New patterns of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) clones, community-associated MRSA genotypes behave like healthcare-associated MRSA genotypes within hospitals, Argentina. **International Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 304, n. 8, p.1086-1099, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.08.002>

ELLINGTON, M. J. et al. Clinical and molecular epidemiology of ciprofloxacin-susceptible MRSA encoding PVL in England and Wales. **European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, [s.l.], v. 28, n. 9, p.1113-1121, 30

maio 2009. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10096-009-0757-x>.

ENDIMIANI, Andrea et al. Emergence of Linezolid-Resistant *Staphylococcus aureus* after Prolonged Treatment of Cystic Fibrosis Patients in Cleveland, Ohio. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 55, n. 4, p.1684-1692, 24 jan. 2011. American Society for Microbiology.
<http://dx.doi.org/10.1128/aac.01308-10>

ENRIGHT, M. C. et al. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 99, n. 11, p.7687-7692, 21 maio 2002. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.122108599>

ENRIGHT, M. C. et al. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 99, n. 11, p.7687-7692, 21 maio 2002. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.122108599>

FARBER, J. M.. An Introduction to the Hows and Whys of Molecular Typing. **Journal Of Food Protection**, [s.l.], v. 59, n. 10, p.1091-1101, out. 1996. International Association for Food Protection. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-59.10.1091>.

GALES, Ana C. et al. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria isolated in brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008). **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.13, Abr. 2009.

GARDETE, Susana et al. Genetic Pathway in Acquisition and Loss of Vancomycin Resistance in a Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strain of Clonal Type USA300. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.11-16, 2 fev. 2012. Public Library of Science (PLoS).
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002505>.

GILLESPIE, W.a.; ALDER, V.g.. CONTROL OF AN OUTBREAK OF STAPHYLOCOCCAL INFECTION IN A HOSPITAL. **The Lancet**, [s.l.], v. 269, n. 6969, p.632-634, mar. 1957. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(57\)91091-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(57)91091-7).

GIVNEY R, Vickery A, Holliday A, Pegler M, Benn R. 1998. Evolution of an endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* population in an Australian hospital from 1967 to 1996. *J Clin Microbiol* 36:552–556.

GOERING, Richard V.. Pulsed field gel electrophoresis: A review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. **Infection, Genetics And Evolution**, [s.l.], v. 10, n. 7, p.866-875, out. 2010. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2010.07.023>.

GREMA, Hafsat Ali. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): A Review. **Advances In Animal And Veterinary Sciences**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.79-98, 2015. ResearchersLinks Ltd. <http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.2.79.98>

GRIFFITHS C, et al., 2004. Trends in MRSA in England and Wales: analysis of morbidity and mortality data for 1993-2002. **Health Stat Q** 2004:15–22

GRUNDMANN, H et al. The dynamic changes of dominant clones of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections in the European region: Results of a second structured survey. **Eurosurveillance**, [s.l.], v. 19, n. 49, p.1-10, 11 dez. 2014. European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC). <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.49.20987>

GRUNDMANN, Hajo et al. Geographic Distribution of *Staphylococcus aureus* Causing Invasive Infections in Europe: A Molecular-Epidemiological Analysis. **Plos Medicine**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.1-15, 12 jan. 2010. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000215>.

HAMBERS, Henry F.; DELEO, Frank R.. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 7, n. 9, p.629-641, set. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2200>.

HARMSSEN, D. et al. Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a University Hospital Setting by Using Novel Software for spa Repeat Determination and Database Management. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 41, n. 12, p.5442-5448, 1 dez. 2003. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.41.12.5442-5448.2003>.

HARTMAN BJ, TOMASZ A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. **J Bacteriol**, v. 158, p.513–516, 1984.

HAYDEN, M. K. et al. Development of Daptomycin Resistance In Vivo in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 43, n. 10, p.5285-5287, 1 out. 2005. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.43.10.5285-5287.2005>.

HEROLD, Betsy C.. Community-Acquired Methicillin-Resistant. **Jama**, [s.l.], v. 279, n. 8, p.593-598, 25 fev. 1998. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.279.8.593>

HIRAMATSU, K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.135-136, 1 jul. 1997. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/40.1.135>.

HIRAMATSU, K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.135-136, 1 jul. 1997. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/40.1.135>.

HOLDEN, M. T. G. et al. A genomic portrait of the emergence, evolution, and global spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pandemic. **Genome Research**, [s.l.], v. 23, n. 4, p.653-664, 8 jan. 2013. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/gr.147710.112>

HOOPER D C: Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p.530-538, set. 2002.

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. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 23, n. 1, p.99-139, 1 jan. 2010. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00042-09>.

HRYNIEWICZ, Maria M.; GARBACZ, Katarzyna. Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) – a more common problem than expected? **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 66, n. 10, p.1367-1373, 1 out. 2017. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.000585>.

ITO, Takashi et al. Pediatric Pneumonia Death Caused by Community-acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Japan. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 14, n. 8, p.1312-1314, ago. 2008. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1408.070391>.

ITO, Teruyo et al. Guidelines for Reporting Novel mecA Gene Homologues. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 56, n. 10, p.4997-4999, 6 ago. 2012. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01199-1>

JESSEN, Ove et al. Changing *Staphylococci* and *Staphylococcal* Infections. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 281, n. 12, p.627-635, 18 set. 1969. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejm196909182811201>.

JEVONS MP. 1961. "Celbenin"-resistant staphylococci. *Br Med J* 1:124 –125.
JIMÉNEZ, J. Natalia et al. CC8 MRSA Strains Harboring SCCmec Type IVc are Predominant in Colombian Hospitals. **Plos One**, [s.l.], v. 7, n. 6, p.1-10, 20 jun. 2012. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0038576>.

JOHNSON, Alan P.; PEARSON, Andrew; DUCKWORTH, Georgia. Surveillance and epidemiology of MRSA bacteraemia in the UK. **Journal Of Antimicrobial**

Chemotherapy, [s.l.], v. 56, n. 3, p.455-462, 26 jul. 2005. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dki266>

JONES, T. et al. Failures in Clinical Treatment of *Staphylococcus aureus* Infection with Daptomycin Are Associated with Alterations in Surface Charge, Membrane Phospholipid Asymmetry, and Drug Binding. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 52, n. 1, p.269-278, 22 out. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00719-07>

JORGENSEN, James H.; PFALLER, Michael A.; CARROLL, Karen C.; FUNKE, Guido; LANDRY Marie Louise; RICHTER, Sandra S.;WARNOCK, David W. **Manual of Clinical Microbiology**. Eleventh Edition. Washington DC: ASM Press, 2015. p.2730.

JOSHI, S. et al. Novel Miniature Membrane Active Lipopeptidomimetics against Planktonic and Biofilm Embedded Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1021, 18 dez. 2018.

JULIAN, K. et al. Characterization of a Daptomycin-Nonsusceptible Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* Strain in a Patient with Endocarditis. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 51, n. 9, p.3445-3448, 9 jul. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00559-07>

[KAATZ G W, SEO S M, RUBLE C A:](#) Efflux-Mediated Fluoroquinolone Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 37, p.1086-1094, fev. 1993.

KAMBEROVIC, Farah et al. MecA-positive methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina. **Journal Of Chemotherapy**, [s.l.], v. 27, n. 6, p.330-336, 11 ago. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1179/1973947814y.0000000207>.

KAYABA, Hiroyuki et al. The Spread of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Rural community: Will It Become a Common Microorganism Colonizing among the General Population?. **Surgery Today**, [s.l.], v. 27, n. 3, p.217-219, 1997. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00941648>

KERR, D. L.; et al. Toxic shock in children with bone and joint infections: a review of seven years of patients admitted to one intensive care unit. **Journal of Children's Orthopaedics**, v. 11, n. 5, p. 387–392, out. 2017.

KERR, S. et al. A survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* affecting patients in England and Wales. **Journal Of Hospital Infection**, [s.l.], v. 16, n. 1, p.35-48, jul. 1990. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0195-6701\(90\)90047-r](http://dx.doi.org/10.1016/0195-6701(90)90047-r)

KERTTULA, Anne-marie et al. Nationwide trends in molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Finland, 1997–2004. **Bmc**

Infectious Diseases, [s.l.], v. 7, n. 1, p.1-9, 14 ago. 2007. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-7-94>.

KOLLEF, M. H.; MICEK, S. T. Staphylococcus Aureus Pneumonia. **Chest**, v. 128, p. 1093–1097, set. 2005.

KRISMER, Bernhard et al. Nutrient Limitation Governs Staphylococcus aureus Metabolism and Niche Adaptation in the Human Nose. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.1-17, 16 jan. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003862>.

KRISMER, Bernhard et al. The commensal lifestyle of Staphylococcus aureus and its interactions with the nasal microbiota. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 15, n. 11, p.675-687, 12 out. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2017.104>.

LAKHUNDI, Sahreena; ZHANG, Kunyan. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 31, n. 4, p.1-103, 12 set. 2018. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00020-18>.

LARSEN, A R et al. Emergence and dissemination of the methicillin resistant Staphylococcus aureus USA300 clone in Denmark (2000-2005). **Eurosurveillance**, [s.l.], v. 12, n. 2, p.3-4, 1 fev. 2007. European Centre for Disease Control and Prevention (ECDC). <http://dx.doi.org/10.2807/esm.12.02.00682-en>.

LEE, Andie S. et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Nature Reviews Disease Primers**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.1-23, 31 maio 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>.

LEE, K. et al. Stilbenes Reduce *Staphylococcus aureus* Hemolysis, Biofilm Formation, and Virulence. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11, n. 9, p. 710–717, set. 2014.

LEMON, Katherine. Comparative Analyses of the Bacterial Microbiota of the Human Nostril and Oropharynx. **Mbio**, [s.l.], p.19-25, 2010. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mbio.00129-10>

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**, [s.l.], v. 47, n. 10, p.3040-3045, 23 set. 2003. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.47.10.3040-3045.2003>.

LIU, Cindy M. et al. Staphylococcus aureus and the ecology of the nasal microbiome. **Science Advances**, [s.l.], v. 1, n. 5, p.16-30, jun. 2015. American

Association for the Advancement of Science (AAAS).
<http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.1400216>.

LOUGHREY A, MILLAR B C, GOLDSMITH C E, ROONEY P J, MOORE J E. Emergence of community-associated MRSA (CA-MRSA) in Northern Ireland. **Ulster Med J** v. 76, p.68 –71, 2007.

LOWY, Franklin D.. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Journal Of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 111, n. 9, p.1265-1273, 1 maio 2003. American Society for Clinical Investigation.
<http://dx.doi.org/10.1172/jci18535>.

MARIEM, Ben Jomàa-jemili et al. Molecular characterization of methicillin-resistant Pantón-valentine leukocidin positive *staphylococcus aureus* clones disseminating in Tunisian hospitals and in the community. **Bmc Microbiology**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.2-8, 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-13-2>.

MEDIAVILLA, José R et al. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). **Current Opinion In Microbiology**, [s.l.], v. 15, n. 5, p.588-595, out. 2012. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2012.08.003>

MILHEIRIÇO, Catarina; OLIVEIRA, Duarte C.; LENCASTRE, Hermínia de. Multiplex PCR strategy for subtyping the staphylococcal cassette chromosome mec type IV in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: 'SCCmec IV multiplex'. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 60, n. 1, p.42-48, 28 abr. 2007. Oxford University Press (OUP).
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm112>.

MOISAN, H.; PRUNEAU, M.; MALOUIN, F.. Binding of ceftaroline to penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 65, n. 4, p.713-716, 22 jan. 2010. Oxford University Press (OUP).
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkp503>.

MONACO, M. et al. Vancomycin-heteroresistant phenotype in invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates belonging to spa type 041. **European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, [s.l.], v. 29, n. 7, p.771-777, 18 abr. 2010. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10096-010-0922-2>

MONACO, M. et al. Worldwide Epidemiology and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus*. **Current Topics In Microbiology And Immunology**, [s.l.], p.21-56, 2016. Springer International Publishing.
http://dx.doi.org/10.1007/82_2016_3.

MONECKE, Stefan et al. A Field Guide to Pandemic, Epidemic and Sporadic Clones of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Plos One**, [s.l.], v. 6, n. 4, p.1-24, 6 abr. 2011. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0017936>.

MOON, Soo-youn; LEE, Hee-joo; LEE, Mi Suk. Molecular Characteristics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Blood Isolates: Clonal Spread of Staphylococcal Cassette Chromosome mec Type IVA Between the Community and the Hospital. **Microbial Drug Resistance**, [s.l.], v. 16, n. 3, p.217-222, set. 2010. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/mdr.2010.0010>.

MORATA, Laura; MENSA, Josep; SORIANO, Alex. New antibiotics against gram-positives: present and future indications. **Current Opinion In Pharmacology**, [s.l.], v. 24, p.45-51, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2015.07.004>.

MUNCKHOF, Wendy J. et al. Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in Queensland, Australia. **International Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.259-267, dez. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1201-9712\(03\)90104-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1201-9712(03)90104-4).

MURCHAN, S. et al. Harmonization of Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocols for Epidemiological Typing of Strains of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a Single Approach Developed by Consensus in 10 European Laboratories and Its Application for Tracing the Spread of Related Strains. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 41, n. 4, p.1574-1585, 1 abr. 2003. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.41.4.1574-1585.2003>

MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A.; YOLKEN; R. H. *Staphylococcus*; *Micrococcus*; and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. In: *Manual of Clinical Microbiology*; 8th edition; ASM Press; Washington; D. C.; USA, v. 1, p. 384-404, 2003.

NICHOL, K. A. et al. Changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canada. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 68, n. 1, p.47-55, 14 abr. 2013. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkt026>.

NIMMO, G.r. et al. Changing epidemiology of methicillin-resistant *S. aureus* in Queensland, Australia, 2000–2006: use of passive surveillance of susceptibility phenotypes. **Journal Of Hospital Infection**, [s.l.], v. 70, n. 4, p.305-313, dez. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2008.07.003>

NIMMO, G.r.. USA300 abroad: global spread of a virulent strain of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 18, n. 8, p.725-734, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03822.x>

NIMMO, Graeme R.; COOMBS, Geoffrey W.. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Australia. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, [s.l.], v. 31, n. 5, p.401-410, maio 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.08.011>.

NÜBEL, Ulrich et al. From types to trees: Reconstructing the spatial spread of *Staphylococcus aureus* based on DNA variation. **International Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 301, n. 8, p.614-618, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2011.09.007>

NÜBEL, Ulrich et al. From types to trees: Reconstructing the spatial spread of *Staphylococcus aureus* based on DNA variation. **International Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 301, n. 8, p.614-618, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2011.09.007>.

O'BRIEN, Louise M. et al. *Staphylococcus aureus* clumping factor B (ClfB) promotes adherence to human type I cytokeratin 10: implications for nasal colonization. **Cellular Microbiology**, [s.l.], v. 4, n. 11, p.759-770, nov. 2002. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1462-5822.2002.00231.x>.

OGSTON A. 1881. Report upon micro-organisms in surgical diseases. **BrMed J** 1:369–375

OLIVEIRA, Duarte C; TOMASZ, Alexander; LENCASTRE, Hermínia de. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Lancet Infectious Diseases**, [s.l.], v. 2, n. 3, p.180-189, mar. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(02\)00227-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(02)00227-x)

PANLILIO, Adelisa L. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. Hospitals, 1975–1991. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, [s.l.], v. 13, n. 10, p.582-586, out. 1992. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1086/646432>.

PANTOSTI, Annalisa; SANCHINI, Andrea; MONACO, Monica. Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. **Future Microbiology**, [s.l.], v. 2, n. 3, p.323-334, jun. 2007. Future Medicine Ltd. <http://dx.doi.org/10.2217/17460913.2.3.323>.

PARK K H, et. al. Comparasion of the clinical features, bacterial genotypes and outcomes of patients with bacteraemia due to heteroresistantvancomycon-intermediate *Staphylococcus aureus* and vancomyconsusceptible S. aureus. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, p.1843- 1840, 2012.

PARTE, Aidan C.. LPSN – List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (bacterio.net), 20 years on. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, [s.l.], v. 68, n. 6, p.1825-1829, 1 jun. 2018. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.002786>.

PEDINOTTI ZUMA, A. V. et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from blood in Rio de Janeiro displaying susceptibility profiles to non-beta-lactam antibiotics. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, p. 237–241, 2017.

PEREZ-VAZQUEZ, M. et al. Spread of invasive Spanish *Staphylococcus aureus* spa-type t067 associated with a high prevalence of the aminoglycoside-modifying enzyme gene ant(4')-Ia and the efflux pump genes msrA/msrB. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 63, n. 1, p.21-31, 18 out. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkn430>

POURNARAS, S. et al. Driving Forces of Mechanisms Regulating Oxacillin-Resistance Phenotypes of MRSA: Truly Oxacillin-Susceptible mecA-Positive *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates also Exist. **Current Pharmaceutical Design**, v. 21, p. 2048-2053, 2015.

RAJI, Adeola et al. High genetic diversity of *Staphylococcus aureus* in a tertiary care hospital in Southwest Nigeria. **Diagnostic Microbiology And Infectious Disease**, [s.l.], v. 77, n. 4, p.367-369, dez. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.08.030>.

RAMMELKAMP, C. H.; MAXON, T.. Resistance of *Staphylococcus aureus* to the Action of Penicillin. **Experimental Biology And Medicine**, [s.l.], v. 51, n. 3, p.386-389, 1 dez. 1942. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.3181/00379727-51-13986>.

RECKER M, et. al. Clonal differences in *Staphylococcus aureus* bacteraemia-associated mortality. **Nature Microbiology**, v.2, p. 1381-1388, out. 2017.

REED, Kurt D.; STEMPER, Mary E.; SHUKLA, Sanjay K.. Pulsed-Field Gel Electrophoresis of MRSA. **Methods In Molecular Biology**, [s.l.], p.59-69, 2007. Humana Press. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-468-1_5.

REYES, Jinnethe et al. Dissemination of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* USA300 Sequence Type 8 Lineage in Latin America. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 49, n. 12, p.1861-1867, 15 dez. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/648426>.

RITCHIE, Stephen R.; THOMAS, Mark G.; RAINEY, Paul B.. The Genetic Structure of *Staphylococcus aureus* Populations from the Southwest Pacific. **Plos One**, [s.l.], v. 9, n. 7, p.1-10, 8 jul. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0100300>.

ROSSI, Flávia et al. Transferable Vancomycin Resistance in a Community-Associated MRSA Lineage. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 370, n. 16, p.1524-1531, 17 abr. 2014. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1303359>

ROSSNEY, A. S. et al. The Emergence and Importation of Diverse Genotypes of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Harboring the Panton-Valentine Leukocidin Gene (pvl) Reveal that pvl Is a Poor Marker for Community-Acquired MRSA Strains in Ireland. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 45, n. 8, p.2554-2563, 20 jun. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.00245-07>.

ROUNTREE, Phyllis M.; BEARD, Mary A.. HOSPITAL STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS , WITH PARTICULAR REFERENCE TO METHICILLIN-RESISTANT STRAINS. **Medical Journal Of Australia**, [s.l.], v. 2, n. 26, p.1163-1168, dez. 1968. AMPCo. <http://dx.doi.org/10.5694/j.1326-5377.1968.tb83502.x>.

SADER, Helio S. et al. Daptomycin activity tested against 164457 bacterial isolates from hospitalised patients: Summary of 8 years of a Worldwide Surveillance Programme (2005–2012). **International Journal Of Antimicrobial Agents**, [s.l.], v. 43, n. 5, p.465-469, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.01.018>.

SAEED, K. et al. Oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (OSMRSA), a hidden resistant mechanism among clinically significant isolates in the Wessex region/UK. **Infection**, v. 42, n. 5, p. 843–847, out. 2014.

SANCHEZ, C. J. et al. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 47, dez. 2013.

SANCHINI, A. et al. DNA microarray-based characterisation of Panton–Valentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Italy. **European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, [s.l.], v. 30, n. 11, p.1399-1408, 17 abr. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-011-1234-x>

SANCHINI, A. et al. Outbreak of skin and soft tissue infections in a hospital newborn nursery in Italy due to community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone. **Journal Of Hospital Infection**, [s.l.], v. 83, n. 1, p.36-40, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2012.09.017>.

SCHAUMBURG, F. et al. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Africa. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 20, n. 7, p.589-596, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12690>.

SCHMITZ, F.-j. et al. Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Dusseldorf by six genotypic methods. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 47, n. 4, p.341-351, 1 abr. 1998. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/00222615-47-4-341>.

SCHWARTZ, David C.; CANTOR, Charles R.. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. **Cell**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.67-75, maio 1984. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(84\)90301-5](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(84)90301-5).

SCHWENDENER, Sybille; COTTING, Kerstin; PERRETEN, Vincent. Novel methicillin resistance gene *mecD* in clinical *Staphylococcus caseolyticus* strains from bovine and canine sources. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.1-11, mar. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep43797>.

SHABIR, S. et al. Epidemiological typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Pakistan and India. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 59, n. 3, p.330-337, 19 nov. 2009. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.014910-0>.

SHABIR, S. et al. Epidemiological typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Pakistan and India. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 59, n. 3, p.330-337, 19 nov. 2009. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.014910-0>.

SHALLCROSS, Laura J et al. The role of the Panton-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.43-54, jan. 2013. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(12\)70238-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(12)70238-4).

SHRESTHA, L. et al. Inhibitory effects of antibiofilm compound 1 against *Staphylococcus aureus* biofilms. **Microbiology and Immunology**, v. 60, n. 3, p. 148–159, mar. 2016.

SILVA-CARVALHO, Maria Cícera et al. Emergence of multiresistant variants of the community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineage ST1-SCC*mecIV* in 2 hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **Diagnostic Microbiology And Infectious Disease**, [s.l.], v. 65, n. 3, p.300-305, nov. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.07.023>.

SINGH, A. et al. Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 19, n. 3, p.512-530, 1 jul. 2006. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00025-05>.

SMYTH, Davida S. et al. Population Structure of a Hybrid Clonal Group of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, ST239-MRSA-III. **Plos One**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.1-10, 5 jan. 2010. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0008582>

SONG, Jae-hoon et al. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: an ANSORP study. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 66, n. 5, p.1061-1069, 20 fev. 2011. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkr024>

SOWASH, Madeleine G.; UHLEMANN, Anne-catrin. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Case Studies. **Methods In Molecular Biology**, [s.l.], p.25-69, 30 ago. 2013. Humana Press. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-664-1_2.

SOWASH, Madeleine G.; UHLEMANN, Anne-catrin. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Case Studies. **Methods In Molecular Biology**, [s.l.], p.25-69, 30 ago. 2013. Humana Press. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-664-1_2.

SPAAN, András N. et al. Differential Interaction of the Staphylococcal Toxins Pantón–Valentine Leukocidin and γ -Hemolysin CB with Human C5a Receptors. **The Journal Of Immunology**, [s.l.], v. 195, n. 3, p.1034-1043, 19 jun. 2015. The American Association of Immunologists. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1500604>

STENHEM, Mikael et al. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Sweden 2000–2003, increasing incidence and regional differences. **Bmc Infectious Diseases**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.1-7, 21 fev. 2006. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-6-30>

STROMMENDER, B. et al. Spa Typing of *Staphylococcus aureus* as a Frontline Tool in Epidemiological Typing. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 46, n. 2, p.574-581, 21 nov. 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.01599-07>.

STRYJEWSKI, Martin e.; CHAMBERS, Henry f.. Skin and Soft-Tissue Infections Caused by Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 46, n. 5, p.368-377, jun. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/533593>

SYSTEM, A Report From The Nnis. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003. **American Journal Of Infection Control**, [s.l.], v. 31, n. 8, p.481-498, dez. 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2003.09.002>.

TAKIZAWA, Y. et al. A Pantón-Valentine Leucocidin (PVL)-Positive Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strain, Another Such Strain Carrying a Multiple-Drug Resistance Plasmid, and Other More-Typical PVL-Negative MRSA Strains Found in Japan. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 43, n. 7, p.3356-3363, 1 jul. 2005. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.43.7.3356-3363.2005>.

TIEMERSMA, Edine W. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999–2002. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 10, n. 9, p.1627-1634, set. 2004. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1009.040069>

TONG, Steven Y. C. et al. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.603-661, 27 maio 2015. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00134-14>.

TORRES, A. et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia. **European Respiratory Journal**, v. 50, n. 3, p. 1700582, set. 2017.

TORVALDSEN, Siranda; ROBERTS, Christine; RILEY, Thomas V.. The Continuing Evolution of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, [s.l.], v. 20, n. 02, p.133-135, fev. 1999. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1086/501594>.

TSAO, Shin-ming et al. Trend in vancomycin susceptibility and correlation with molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Taiwan: results from the Tigecycline in vitro Surveillance in Taiwan (TIST) study, 2006–2010. **Diagnostic Microbiology And Infectious Disease**, [s.l.], v. 80, n. 2, p.162-167, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.06.007>.

TSIODRAS, Sotirios et al. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. **The Lancet**, [s.l.], v. 358, n. 9277, p.207-208, jul. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(01\)05410-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(01)05410-1)

UDO, e. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. **Journal Of Hospital Infection**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.97-108, out. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0195-6701\(93\)90100-e](http://dx.doi.org/10.1016/0195-6701(93)90100-e).

VAN HAL, S. J. et al. Predictors of Mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, p. 362–386, 1 abr. 2012.

VANDENESCH, François et al. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carrying Panton-Valentine Leukocidin Genes: Worldwide Emergence. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 9, n. 8, p.978-984, ago. 2003. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid0908.030089>.

VANDENESCH, François; LINA, G.; HENRY, Thomas. *Staphylococcus aureus* Hemolysins, bi-component Leukocidins, and Cytolytic Peptides: A Redundant Arsenal of Membrane-Damaging Virulence Factors?. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [s.l.], v. 2, p.1-15, 16 fev. 2012. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2012.00012>.

WAN, Tsai-Wen et al. Genomic comparison between *Staphylococcus aureus* GN strains clinically isolated from a familial infection case: IS1272 transposition through a novel inverted repeat-replacing mechanism. **PLOSone**. p. 1–29, 2017.

WEIDENMAIER, Christopher et al. Differential roles of sortase-anchored surface proteins and wall teichoic acid in *Staphylococcus aureus* nasal colonization. **International Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 298, n. 5-6, p.505-513, jul. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.11.006>

WEIGEL, L. M.. Genetic Analysis of a High-Level Vancomycin-Resistant Isolate of *Staphylococcus aureus*. **Science**, [s.l.], v. 302, n. 5650, p.1569-1571, 28 nov. 2003. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1090956>.

WEINER, L. M. et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 37, p.1288–1301, nov. 2016.

WILLIAMSON, D.a.; COOMBS, G.w.; NIMMO, G.r.. *Staphylococcus aureus* 'Down Under': contemporary epidemiology of *S. aureus* in Australia, New Zealand, and the South West Pacific. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 20, n. 7, p.597-604, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12702>.

WITTE, W.. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: what do we need to know?. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 15, p.17-25, dez. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03097.x>.

YAMAGUCHI, T. et al. Identification of the *Staphylococcus aureus* *etd* Pathogenicity Island Which Encodes a Novel Exfoliative Toxin, ETD, and EDIN-B. **Infection And Immunity**, [s.l.], v. 70, n. 10, p.5835-5845, 1 out. 2002. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.70.10.5835-5845.2002>.

YU, Fangyou et al. Antimicrobial susceptibility, virulence determinant carriage and molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates associated with skin and soft tissue infections. **The Brazilian Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 19, n. 6, p.614-622, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2015.08.006>

ZHANG, Kunyan et al. Coexistence of Pantone-Valentine Leukocidin-Positive and -Negative Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* USA400 Sibling Strains in a Large Canadian Health-Care Region. **The Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 197, n. 2, p.195-204, 15 jan. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/523763>.

ZHU, W. et al. Dissemination of an Enterococcus Inc18-Like vanA Plasmid Associated with Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 54, n. 10, p.4314-4320, 26 jul. 2010. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00185-10>.

ZIPPERER, Alexander et al. Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. **Nature**, [s.l.], v. 535, n. 7613, p.511-516, jul. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nature18634>