

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:

CIÊNCIAS MÉDICAS

Epidemiologia clínica e molecular de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina carreadores de cassete cromossômico estafilocócico *mec* tipo IV de pacientes atendidos em hospital universitário de Porto Alegre

Autor: Leticia Vale Scribel da Silva

Orientador: Alexandre P. Zavascki

Dissertação de mestrado

2009

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a meus pais, pelo amor, carinho, amizade e principalmente pelo incentivo e exemplo de perseverança e ética profissional. A vocês que sempre me incentivaram a investir no aprimoramento profissional e que nunca deixaram de acreditar no meu sucesso, muito obrigada.

Agradeço ao professor Afonso Luís Barth, um grande ídolo desde a época da graduação, por acreditar em mim e me dar a oportunidade de desenvolver este projeto junto ao PPG-CM, na área que me desperta maior interesse: a microbiologia. Obrigada pelo incentivo e por me apresentar ao professor Alexandre Zavascki, a quem sou grata por me acolher e me orientar com habilidade e competência. A este grande orientador devo agradecer pelos conhecimentos transmitidos, incentivo, apoio e confiança e por me direcionar na execução deste projeto. É um privilégio estar perto de pessoas que admiro tanto.

Agradeço à minha irmã, que prontamente envolveu-se no desenvolvimento do nosso projeto inicial e convocou uma pessoa também muito especial, o Dinho, para ajudar-nos em nossas tarefas.

Aos amigos Carlos Kivitko, pelo envolvimento na coleta de dados e pela ajuda durante o curso das disciplinas do programa, e Silvana Superti, pela colaboração com os testes realizados no Laboratório de Microbiologia do Hospital São Lucas da PUC-RS para a execução desta pesquisa.

Ao grupo de pesquisa do Instituto de Pesquisa Professor Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, onde fui recebida com muito carinho e atenção por todos os pesquisadores, mas em especial agradeço à professora Agnes

Figueiredo, à Maria Cícera Silva-Carvalho e Raquel Rodrigues Souza pela disponibilidade, envolvimento, pelo conhecimento transmitido e simpatia de todas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas (PPG-CM) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, aos professores e colegas que fizeram parte dessa trajetória.

Ao diretor do Hospital da Aeronáutica de Canoas, Coronel Azeredo, ao chefe da Divisão Farmacêutica do Hospital da Aeronáutica de Canoas, Tenente Coronel Petry e, agora, Tenente Coronel Ralf Wagner, ao chefe da Seção de Farmácia, Cap Ott e ao chefe da Seção de Análises Clínicas, Tenente Richard pelo apoio e incentivo ao aperfeiçoamento profissional, às amigas Tenente Darliza e Tenente Mari, sempre disponíveis, também pelo apoio, incentivo e amizade, foram fundamentais para a conclusão desta etapa da minha carreira profissional. Enfim, ao Tenente Alexsandro e Tenente Adriano, aos graduados e soldados da seção, obrigada.

Agradeço também aos amigos, que acompanharam com interesse o desenvolvimento deste trabalho, por estarem sempre ao meu lado e desejarem meu sucesso.

“Aqueles que passam por nós
não vão sós,
não nos deixam sós.
Deixam um pouco de si,
levam um pouco de nós”

Antoine de Saint-Exupery

Sumário

1. Resumo.....	05
2. Introdução.....	07
3. Revisão da literatura.....	10
3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	10
3.1.1. Microbiologia.....	10
3.1.2. Manifestações clínicas.....	11
3.1.3. Opções terapêuticas.....	13
3.1.4. Resistência aos β -lactâmicos.....	14
3.1.4.1. Resistência às penicilinas.....	14
3.1.4.2. Resistência às penicilinas semi-sintéticas resistentes a penicilinases	15
3.2. MRSA.....	17
3.2.1. Microbiologia.....	17
3.2.2. Epidemiologia.....	21
3.2.3. Tratamento.....	26
3.2.4. CA-MRSA e SCCmec IV.....	29
3.2.5. CA-MRSA e SCCmec IV no Brasil e em Porto Alegre.....	33
4. Justificativa.....	39
5. Objetivos.....	40
5.1 Geral.....	40
5.2 Específicos.....	40
6. Referências.....	41
7. Artigo científico.....	49
8. Considerações finais.....	65
9. Anexos.....	67

1. Resumo

Staphylococcus aureus é um patógeno humano comum, causador principalmente de infecções de pele na comunidade e infecções em diversos sítios em ambiente hospitalar. Desde a última década, tornou-se motivo de preocupação devido ao aumento na incidência de infecções por cepas resistentes a meticilina (*methicillin-resistant S. aureus* [MRSA]) na comunidade sem os clássicos fatores de risco associados. O cassete cromossômico SCCmec (*staphylococcal cassette chromosome*) tipo IV, carreador do gene *mecA* (responsável pela resistência à meticilina/oxacilina), está associado predominantemente ao MRSA comunitário e ao denominado clone pediátrico do MRSA, causador de infecções hospitalares. Isolados de MRSA comunitário normalmente produzem uma toxina chamada Panton-Valentine *leukocidin* (PVL), associada à destruição dos leucócitos e à necrose tecidual. MRSA carreadores de SCCmecIV do clone *Oceania Southwest Pacific* (OSPC), foram relatados no Brasil causando principalmente infecções de pele e tecidos moles em pacientes de Porto Alegre. Entretanto, pouco se conhece sobre as características clínicas dos casos ocorridos no Brasil. Este estudo objetivou descrever a epidemiologia clínica e molecular associada ao MRSA carreador de SCCmecIV em pacientes atendidos em hospital universitário de Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

De julho de 2006 a junho de 2008 foram selecionados isolados de MRSA isolados de pacientes provenientes do Hospital São Lucas da PUC-RS, que apresentaram resistência à oxacilina e a não mais que três antibióticos não β -lactâmicos. Foi realizada análise molecular por Reação em Cadeia Polimerase (*Polimerase Chain Reaction* [PCR]) para detecção dos genes *mecA* e *lukF-pv* (que

codifica a toxina PVL), teste de restrição modificado (RM) para identificar o complexo clonal a que as amostras pertencem e eletroforese em campo pulsado (*Pulse Field Gel Electrophoresis* -PFGE) para a identificação dos clones de MRSA isolados. As características clínicas foram revisadas nos prontuários médicos dos pacientes.

Vinte um isolados de 13 pacientes preencheram critérios de inclusão. Somente o primeiro foi considerado para análise molecular. Os 13 isolados foram carreadores de *SCCmecIV* e pertenciam a duas linhagens diferentes: complexo clonal (CC) 30 (relacionado ao clone OSPC, 11 isolados) e CC5 (relacionado ao clone pediátrico, 2 isolados). Seis isolados apresentaram PFGE padrão A₁; outros 5 isolados foram relacionados ao clone A₁ (A₂ ao A₄). Outros dois isolados apresentaram PFGE padrão B (os dois do CC5). Todas os isolados CC30 eram produtoras de PVL. Cinco pacientes apresentaram infecção associada a cuidados de saúde (IACS), com início hospitalar; cinco apresentaram IACS com início comunitário; e apenas três associadas à comunidade (CA) sem fatores de risco para MRSA.

Este estudo apresentou o perfil genotípico e fenotípico de isolados de MRSA carreadores de *SCCmecIV* presentes em Porto Alegre e demonstrou que isolados do clone OSPC não causam apenas infecções comunitárias no Brasil, mas também podem causar IACS.

2. Introdução

O *Staphylococcus aureus* foi descoberto na década de 1880¹. É uma bactéria comum em diversos ambientes, podendo fazer parte da microbiota da pele humana e, desde a sua descoberta, mostrou-se ser um dos patógenos facultativos mais importantes. É capaz de causar infecções de diferentes níveis de gravidade, como abscessos e feridas na pele, osteomielite, endocardite, pneumonia, meningite, bacteremia e síndrome do choque tóxico².

Desde o seu surgimento na década de 1960, os *S. aureus* resistentes a meticilina (*methicillin-resistant S. aureus* [MRSA]) adquiriram prevalência expressiva nas populações adulta e pediátrica em ambiente hospitalar, sendo um desafio para a terapia antimicrobiana devido a seu perfil de multi-resistência^{3,4,5}. Os fatores de risco associados à colonização ou infecção por MRSA são: consulta médica em hospital, hospitalização ou cirurgia recente (1 ano antes da identificação do MRSA), convivência com profissionais da saúde, tratamento com antibiótico (nos últimos 12 meses), doenças crônicas (doença renal grave, diabetes, etc), diálise, presença de cateter percutâneo no momento da coleta da amostra, ventilação mecânica, tubo endotraqueal, nasogástrico ou traqueostomia, nutrição parenteral total ou nutrição enteral, imunossupressão, isolamento prévio de MRSA, uso de drogas lícitas e ilícitas e contato com pessoas que tenham fatores de risco para colonização ou infecção por MRSA^{5,7,8}. Infecções por MRSA na ausência de fatores de risco têm sido relatadas na comunidade, sendo referidas como infecções por MRSA associados à comunidade (*community-associated-MRSA* [CA-MRSA])⁶.

A partir da década de noventa, a prevalência de infecções por CA-MRSA em diferentes países do mundo vem crescendo, incluindo infecções de pele e tecidos moles, bacteremias e infecções músculo-esqueléticas^{4,5,6}. O aumento na frequência e a conseqüente morbidade e mortalidade associadas às infecções causadas por este microorganismo indicam que estas infecções podem vir a se tornar um problema de saúde pública⁹.

Devido a pressões seletivas diferentes, existem diferenças entre isolados de MRSA adquiridos em hospitais (*hospital-acquired* MRSA [HA-MRSA]) e na comunidade (CA-MRSA), como características moleculares e perfil de sensibilidade a antibióticos^{8,9,10}. Apesar da resistência comum a antibióticos β -lactâmicos entre as cepas de HA-MRSA e CA-MRSA, isolados comunitários têm patogênese, epidemiologia e manifestações clínicas diferentes dos hospitalares. Os CA-MRSA apresentam maior sensibilidade aos antibióticos não β -lactâmicos quando comparados com isolados de HA-MRSA, normalmente multi-resistentes¹¹.

A resistência à meticilina pelo *Staphylococcus spp.* é determinada pelo gene *mecA*, o qual é carregado em um cassete cromossômico (*staphylococcal cassette chromosome - SCCmec*) tipos I a VII. Os SCCmec tipos I, II e III estão presentes na maioria dos isolados hospitalares. Cepas de MRSA comunitário estão normalmente associadas ao SCCmec tipo IV e, menos frequentemente, aos tipos V e VII¹². Apesar do SCCmec tipo IV estar associado predominantemente ao MRSA comunitário, existe o denominado clone pediátrico do MRSA, também chamado USA800, causador de infecções hospitalares que também tem o *mecA* carregado pelo SCCmecIV¹³. Além do SCCmecIV, Oliveira *et al* descrevem em estudo realizado em Portugal, a presença do SCCmec tipo VI em cepas do clone pediátrico¹³. As cepas carreadoras de SCCmecIV normalmente produzem uma toxina chamada Pantón-Valentine *leukocidin* (PVL),

associada à destruição dos leucócitos e necrose tecidual¹⁴, com exceção dos isolados pertencentes ao clone pediátrico.

Nos hospitais brasileiros, estima-se que isolados de MRSA sejam responsáveis por aproximadamente 37% das infecções por *S. aureus*¹⁵. O clone responsável pela maioria das infecções por MRSA no Brasil chama-se clone endêmico brasileiro (*Brazilian endemic clone - BEC*). Entretanto, estudos têm relatado a ocorrência de infecções por CA-MRSA no sul do Brasil que apresentam outros clones CA-MRSA carreadores de *SCCmecIV* descritos em outros países¹⁵.

Isolados de MRSA carreadores de *SCCmecIV* do clone *Oceania Southwest Pacific* (OSPC), também chamado USA100, foram relatados no Brasil causando principalmente infecções de pele e tecidos moles em pacientes de Porto Alegre, RS¹⁶. A presença de outros clones de MRSA carreadores de *SCCmecIV* foram relatados no Brasil, principalmente em Porto Alegre e Rio de Janeiro, como o USA300 e Western-Australian (WA)-1/USA400^{4,17} e o clone pediátrico, também conhecido como USA800 e normalmente encontrado em infecções nosocomiais¹⁸. Entretanto, as características clínicas destas infecções têm sido pobremente descritas, e algumas manifestações clássicas de MRSA carreadores de *SCCmecIV*, como pneumonia necrotizante, ainda não foram relatadas no Brasil até agora.

Portanto, nosso objetivo é avaliar as características clínicas e epidemiológicas de pacientes que apresentaram infecção por MRSA carreadores de *SCCmecIV* atendidos em hospital universitário de Porto Alegre, bem como determinar a epidemiologia molecular desses isolados.

3. Revisão da literatura

3.1. *Staphylococcus aureus*

3.1.1 Microbiologia

Os *Staphylococcus* spp. fazem parte da família Micrococcaceae e aparecem na forma de cocos gram-positivos em aglomerados, em pares ou isolados. São microorganismos imóveis, não-esporulados e catalase positivo. Os *S. aureus* se diferenciam das outras espécies de *Staphylococcus* spp. pela pigmentação dourada de suas colônias e por ser a única espécie a produzir a enzima coagulase. O teste mais amplamente utilizado e aceito para sua identificação laboratorial está baseado na atividade desta enzima¹⁹.

Os *S. aureus* são bactérias ubíquas, altamente resistentes às condições adversas ambientais e resistem a ambientes secos e também a altas concentrações de NaCl, o que permite a colonização temporária ou permanente da pele ou de mucosas²⁰. É um microrganismo que pode fazer parte da microbiota humana, colonizando pele e mucosas, sendo as narinas o sítio de colonização mais freqüente. Outros sítios de colonização incluem períneo, faringe, axilas, região inguinal e, com menor freqüência, o trato gastrointestinal^{19,21}.

Os *S. aureus* são patógenos oportunistas e, dependendo das circunstâncias, podem causar infecções sérias. Queimaduras e feridas operatórias são comumente invadidas por este microrganismo, onde a produção de toxinas pode, por exemplo, resultar em Síndrome do choque tóxico²². Entretanto, a produção de diversos fatores de

virulência permite que algumas cepas causem infecções graves em pacientes sem nenhuma condição clínica debilitante.

3.1.2 Manifestações Clínicas

Os *S. aureus* podem causar doenças através de dois mecanismos: invasão tecidual e produção de toxina. A formação de abscesso é característica da infecção pela espécie. Doenças mediadas por toxinas incluem intoxicação alimentar e síndrome do choque tóxico. A invasão tecidual do microrganismo provoca lesões cutâneas como impetigo, furúnculos e ferimentos e infecções de tecidos moles, como fascite necrozante^{23,24}. A quebra da barreira da pele e mucosas permite a disseminação do *S. aureus* pela corrente sangüínea e tecidos adjacentes, resultando em bacteremia, endocardite, pneumonia, osteomielite e artrite séptica¹⁹.

Desde a época em que surgiram, cepas de MRSA disseminaram-se por hospitais em todo o mundo, causando bacteremia, pneumonia, infecções de sítio cirúrgico e outras infecções nosocomiais. Infecções hospitalares ocasionadas por MRSA representam uma preocupação tanto para o paciente como para os sistemas de saúde, devido à sua associação com alta morbidade e mortalidade e aumento nos custos de hospitalização²⁵.

O espectro clínico das infecções por MRSA na comunidade são similares ao das infecções por MSSA (*S. aureus* sensíveis a meticilina), incluindo colonização assintomática, infecção de pele e tecidos moles e, com menor frequência, infecções invasivas²⁴. As manifestações clínicas mais comuns de CA-MRSA entre crianças e

adultos são infecções de pele, como abscessos, furúnculos, e foliculites, e tecidos moles – músculos, fáscia, e as três camadas da pele (derme, epiderme e hipoderme), atingindo cerca de 85% a 95% das infecções causadas por este microorganismo. As lesões de pele podem apresentar necrose e serem confundidas com picadas de aranha ou outros insetos^{11,24,26}. Embora controverso, as lesões necróticas podem estar relacionadas à produção de da citotoxina PVL, leucocidina comumente associada a isolados de CA-MRSA^{11,24}.

Os isolados de CA-MRSA também são responsáveis por infecções graves. Existem relatos de casos de fascite necrotizante, piomiosite, tromboflebite séptica das extremidades, pneumonia necrotizante, artrite séptica, osteomielite pélvica, abscesso pélvico, síndrome de Waterhouse-Friderichsen, e púrpura fulminante com síndrome do choque tóxico, apesar do *S. aureus* não ser patógeno comum em algumas destas doenças²⁷.

Infecções músculo-esqueléticas são as infecções invasivas mais comuns em crianças e adultos ocasionadas por CA-MRSA, incluindo osteomielite hematogênica aguda. Os sítios de infecção mais comuns em crianças são ossos longos como tíbia e fêmur, e em adultos são as vértebras. As complicações associadas são embolia séptica e fraturas patológicas. Tromboflebite venosa evoluindo para embolia pulmonar séptica e outros sítios de disseminação foram relatados, bem como fascite necrotizante tem sido associada a CA-MRSA^{11,23}.

Pneumonias complicadas com empiema, e infecções graves invasivas e disseminadas são encontradas em crianças desde quando isolados de CA-MRSA tornaram-se mais frequentes^{11,24}. Alguns estudos citam casos de pneumonia necrotizante por CA-MRSA²⁸, manifestação não relatada no Brasil até então.

Também tem sido associado a isolados de CA-MRSA a apresentação de púrpura fulminante em adultos e crianças, similar a meningococemia. Os sinais clínicos em crianças são leucopenia, neutropenia, taquicardia profunda e acidose láctica não responsiva. *S. aureus* é a causa de endocardite infecciosa em adultos de todo o mundo, especialmente endocardite infecciosa relacionada a cuidados de saúde. Trombose venosa é um achado comum em pacientes com bacteremia por *S. aureus* associada a cateter central. Apesar do aumento de infecções por CA-MRSA, não foi relatado aumento no número de crianças com endocardite infecciosa ocasionada por este microrganismo^{11,24}.

3.1.3 Opções terapêuticas

Os antimicrobianos de escolha para o tratamento de infecções por *S. aureus* são as penicilinas semi-sintéticas, penicilinase-resistente, como a metilina (não comercializada no Brasil) e a oxacilina, esta última utilizada no Brasil. Cefalosporinas e combinações de β -lactâmicos com inibidores de β -lactamase são utilizados como alternativa^{5,29}. Antibióticos β -lactâmicos, incluindo as penicilinas semi-sintéticas como a oxacilina, têm ação bactericida mais rápida e possuem maior eficácia contra MSSA quando comparados com a vancomicina. Este último antibiótico é o medicamento mais amplamente utilizado no tratamento de cepas resistentes à oxacilina, conhecidas como MRSA⁵. Outros agentes com atividade contra MRSA são a linezolida, daptomicina, quinupristina-dalfopristina, teicoplanina e tigeciclina^{5,29}. Segundo o *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, *S. aureus* resistentes a oxacilina, podem

parecer sensíveis *in vitro* a outros β -lactâmicos, combinações de β -lactâmicos e inibidores de β -lactamase, carbapenêmicos e cefalosporinas, mas são ineficazes *in vivo*.

Devido ao problema do desenvolvimento de resistência aos antibióticos pelo *S. aureus*, a vacinação pode ter papel importante no controle deste microrganismo no futuro. Foster *et al.* comentam que alguns laboratórios estão desenvolvendo produtos para imunização ativa e passiva na prevenção de infecções por *S. aureus*, incluindo vacina de polissacarídeo capsular, submetida a ensaios clínicos em pacientes em hemodiálise, anticorpos monoclonais e imunoglobulinas com anticorpos que reconhecem o fator A³⁰.

3.1.4 Resistência aos β -lactâmicos

3.1.4.1 Resistência à penicilina

No início da década de 1940, antes da introdução do primeiro antibiótico no tratamento das infecções ocasionadas por *S. aureus*, a mortalidade dos pacientes infectados por esta bactéria chegou a atingir aproximadamente 80%¹. A alta mortalidade relacionada a infecções por *S. aureus* diminuiu apenas após a introdução da penicilina no tratamento de infecções estafilocócicas. Entretanto, logo no final dos anos 40 surgiu a resistência à penicilina e cepas multi-resistentes, quando hospitais da Inglaterra e Estados Unidos chegaram a relatar até 50% de isolados de *S. aureus* resistentes a penicilina²⁰. A responsável pela resistência dos *S. aureus* à penicilina é uma β -lactamase, chamada penicilinase, enzima que hidrolisa o anel β -lactâmico

presente na estrutura deste antibiótico^{20,31}. Esta enzima é codificada pelo gene *blaZ*, normalmente carregado por um plasmídeo³². Essa β -lactamase foi primeiramente descoberta na bactéria *Escherichia coli* em 1940, e pouco tempo depois foram isoladas cepas de *S. aureus* expressando esta enzima. Pensava-se que o surgimento da β -lactamase era um evento evolutivo, entretanto, foi identificada sua ampla distribuição entre várias espécies de bactérias devido à pressão do uso de antibióticos, tornando-se preocupante³¹.

Os antibióticos β -lactâmicos agem ligando-se a uma proteína transpeptidase presente na membrana celular dos *S. aureus*, chamada proteína de ligação a penicilina (*penicillin-binding proteins* – PBPs), que regula os estágios finais da biossíntese de peptideoglicano que faz parte da parede celular desta bactéria. Desta forma, inibem sua atividade impedindo o crescimento bacteriano ao intervir na síntese da parede celular^{31,32}. Existem quatro tipos de PBPs: três transpeptidases monofuncionais, PBP1, 3 e 4, e a PBP2, bifuncional, com atividade transglicosidase e transpeptidase.

A maior limitação das penicilinas era sua susceptibilidade à hidrólise pela β -lactamase, característica da maioria dos MSSA e MRSA. Então, combinando β -lactâmicos com inibidores de β -lactamase, como clavulanato ou sulbactam foi possível restabelecer o sucesso terapêutico contra cepas produtoras de penicilinas³².

3.1.4.2 Resistência as penicilinas semi-sintéticas resistentes a penicilinases: oxacilina e meticilina

A redução da incidência de *S. aureus* resistentes a penicilinas aconteceu apenas nos anos 60, quando foi desenvolvida a primeira penicilina semi-sintética resistente a penicilinase, a meticilina. Mas os estafilococos desenvolveram resistência a este novo antimicrobiano apenas 6 meses após sua introdução, surgindo então os primeiros isolados de *S. aureus* resistentes a meticilina²⁰. A resistência às penicilinas semi-sintéticas não ocorre devido à produção de β -lactamase, mas pela expressão de uma forma alterada da proteína ligadora de penicilina PBP2, então chamada PBP2a, adquirida de outras espécies²². A PBP2a não tem origem na espécie de *S. aureus*, uma vez que não há nenhum alelo equivalente do gene *mecA* em cepas de MSSA. A identificação de um gene homólogo ao *mecA*, presente em grande número de isolados de *Staphylococcus sciuri*, indica a origem extra-espécie deste gene. O gene *mecA* do *S. sciuri* e do *S. aureus* apresentam 88% de similaridade entre os aminoácidos. Apesar da similaridade, isolados de *S. sciuri* carreadores do gene homólogo ao *mecA* não apresentaram resistência intrínseca a meticilina, presumindo-se que este gene, nativo do *S. sciuri*, tem função biológica não relacionada a resistência a antibióticos, apesar de apresentar resistência sob pressão seletiva – diminuindo drasticamente a sensibilidade ao antimicrobiano com o aumento crescente de sua concentração. Entretanto, a diferença entre as seqüências é suficiente para indicar que os *S. aureus* não adquiriram o gene *mecA* diretamente das cepas de *S. sciuri*³³. Como os β -lactâmicos têm ação através da ligação com as PBPs, o desenvolvimento de novos antibióticos que atuem sobre a PBP2a especificamente tornou-se necessário para inibir cepas de MRSA³².

O uso de diferentes tipos de antimicrobianos com o passar dos anos levou ao surgimento de cepas de MRSA multi-resistentes, como resultado de mutações nos genes que codificam proteínas ligação e através da aquisição e acúmulo de genes de resistência aos antibióticos²². Foi então que surgiram cepas de MRSA resistentes a

outros antimicrobianos e a ocorrência de MRSA multi-resistentes foi relatada em diversos países da Europa, na Inglaterra, Austrália e Índia. Durante a década de 1980, foram reportados casos de cepas de MRSA resistentes a gentamicina em países da Europa, e também nos Estados Unidos²⁰.

A vancomicina, um antibiótico glicopeptídeo, embora surgida antes mesmo das penicilinas semi-sintéticas penicilinase-resistentes, foi por muito tempo a única opção de terapia antimicrobiana contra MRSA²². A vancomicina foi aprovada pelo FDA (Food and Drug Administration) em 1958, e em 1996 surgiu no Japão o primeiro isolado de *S. aureus* com susceptibilidade intermediária a vancomicina (VISA). Em 2002, foi relatado o caso de um paciente dos Estados Unidos com *S. aureus* totalmente resistente a vacomicina (VRSA)²⁰. Atualmente, outras drogas com ação anti-MRSA foram recentemente lançadas no mercado, conforme brevemente descrito acima.

3.2. MRSA

3.2.1 Microbiologia

A resistência à meticilina surgiu devido a uma alteração na proteína de ligação à penicilina, a PBP. A nova proteína, a PBP2a, tem menor afinidade pela maioria dos antibióticos beta-lactâmicos, e é pré-requisito para o alto nível de resistência aos β -lactâmicos em isolados de MRSA³². O gene *mecA*, que codifica esta proteína, é carregado por um elemento genético móvel, o SCC*mec*. Até o momento, sete tipos

diferentes de *SCCmec* (I-VII) já foram descritos, os quais se diferem em tamanho e estrutura^{1,2,3,12}.

O primeiro isolado de MRSA for reportado no Reino Unido em 1960 e era carreadora do *SCCmec* tipo I. Este clone é agora conhecido como o clone Arcaico e foi disseminado ao redor do mundo na década de 60. Em 1982, um MRSA carreador do *SCCmec* tipo II foi isolado no Japão, sendo chamada de clone New York/Japan e também disseminada em diversos países. Três anos depois, em 1985, foi isolado o MRSA carreador de *SCCmec* tipo III na Nova Zelândia. Desde o início dos anos 90, vários clones de MRSA carreadores de *SCCmec* tipo IV foram relatados no mundo. Em 2004, *SCCmec* tipo V foi descrito na cepa de MRSA chamada WIS, isolada na Austrália. O *SCCmec* tipo VI foi observado entre isolados de MRSA de Portugal e a cepa foi chamada de HDE288. O *SCCmec* tipo VII tem sido observado em cepas isoladas em Taiwan¹.

Os tipos I, II e III estão geralmente associados ao HA-MRSA, enquanto que os isolados de CA-MRSA estão associados ao tipo IV e, menos frequentemente, ao tipo V e VII^{1,8,9,12,14,34,35}. Apesar do *SCCmec* tipo IV estar associado predominantemente ao MRSA comunitário, existe o denominado clone pediátrico do MRSA, também chamado USA800, causador de infecções hospitalares que também tem o *mecA* carreado pelo *SCCmecIV* e, como relatado em estudo realizado em Portugal, também carreado pelo *SCCmecVI*¹³.

Os *SCCmec* tipos I, IV, V, VI e VII contém o gene *mecA* como o único determinante de resistência, causando resistência apenas a antibióticos β -lactâmicos, enquanto que os tipos II e III contém múltiplos determinantes para a resistência, como plasmídeos integrados e transposons, e são responsáveis pela multi-resistência normalmente encontrada em cepas de HA-MRSA^{1,9,14}. Entretanto, devido ao seu maior

tamanho, a transferência horizontal dos SCC*mec* tipo II e III é mais difícil quando comparados com o tipo IV, e a disseminação destes elementos ocorre principalmente como resultado da pressão seletiva da exposição a antibióticos^{9,14}. Devido ao seu menor tamanho e ausência de outros genes de resistência, as cepas SCC*mec* tipo IV são provavelmente mais móveis, conferindo vantagem fora da pressão relacionada a antibióticos em ambiente hospitalar, possibilitando sua rápida disseminação na comunidade⁵.

Os cassetes SCC*mec* são carreadores de algumas seqüências de inserção, como os genes responsáveis pela transcrição do *mecA*, como Δ *mecR1* (SCC*mec* tipo I, IV, V, VI e VII) ou *mecR1* e *mecI* (SCC*mec* tipo II e III). Ainda existem os genes *ccr* (*cassette chromosome recombinases*), localizados em todos os elementos SCC*mec*. Sua função é a integração do SCC*mec* e sua excisão no genoma do *S. aureus* no sítio específico. Os genes *ccr* são designados *ccrA1* e *ccrB1* para o SCC*mec* tipo I, *ccrA2* e *ccrB2* para o SCC*mec* tipo II e IV, *ccrA3* e *ccrB3* para o SCC*mec* tipo III, *ccrA4* e *ccrB4* para o SCC*mec* tipo VI, e *ccrC* para o ScCC*mec* tipos V e VII. O tipo de SCC*mec* é determinado pelo complexo *mec* e pelos genes *ccr*.¹

A patogenicidade e virulência dos *S. aureus* está associada com a capacidade desse microrganismo de produzir alguns fatores de virulência incluindo enterotoxinas sorotipos A a Q (SEA-SEQ), toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1), toxinas citolíticas (α e β hemolisinas), toxinas esfoliativas, a leucocidina PVL, a proteína A e diversas enzimas. As enterotoxinas e a TSST-1 causam choque tóxico e doenças relacionadas através da indução da liberação maciça de citocina pelos macrófagos e células T. Isolados de CA-MRSA têm demonstrado aumento na virulência resultando no aumento da prevalência de casos de choque tóxico e infecções de pele e tecidos moles mais graves, aumentando a mortalidade em muitos casos²⁵. A toxina PVL ataca

a membrana das células de defesa do hospedeiro devido à atividade sinérgica de duas proteínas, LukS e LukF, resultando em necrose tecidual. Cepas de CA-MRSA tem sido associadas a pneumonia necrotizante e infecções cutâneas necrotizantes devido a esta toxina²⁵.

Um resumo dos SCC*mec* e suas principais características é demonstrado na tabela 1.

Tabela 1. Características principais dos SCC*mec* tipos I a VII^a.

SCC <i>mec</i>	Presença de outros genes de resistência	Origem dos Isolados	Presença do gene da PVL	Subtipos de SCC <i>mec</i> , que se diferenciam por pequenas variações na estrutura
I	Não	Hospital	Infrequente	IA
II	Sim	Hospital	Infrequente	IIA, IIB, IIC, IID, IIE, IIb
III	Sim	Hospital	Infrequente	IIIA, IIIB
IV	Não	Comunidade	Frequente	IVa/IVb, IVc, IVd, IVA, IVE, IVF, IVg, IVh
V	Não	Comunidade	Desconhecido	Desconhecido
VI	Não	Hospital	Desconhecido	Desconhecido
VII	Não	Comunidade	Desconhecido	Desconhecido

^aAdaptado de 1 e 8.

3.2.2 Epidemiologia

A maioria dos estudos em pacientes hospitalizados baseia-se no tempo de infecção para definir entre MRSA comunitário ou hospitalar. A infecção presente no momento da admissão hospitalar ou diagnosticada até 48 a 72 horas após a internação é considerada comunitária. Entretanto, no caso de infecção por estafilococos, esta definição é limitada, uma vez que a colonização por MRSA pode persistir por meses ou até anos^{7,9}. Por este motivo, uma infecção pode desenvolver-se em ambiente diferente daquele onde o microorganismo foi adquirido, tornando-se difícil estabelecer o verdadeiro local e momento de aquisição. Desta forma, a distinção entre cepas de MRSA comunitário e hospitalar deveria ser baseada na avaliação genotípica do isolado^{9,6}.

O Centro para Prevenção e Controle de Doenças (*Center for Disease Control and Prevention* – CDC) define CA-MRSA como cepas de MRSA isoladas de pacientes fora do ambiente hospitalar ou com menos de 48 horas de internação em hospital, e que não apresentem história de infecção ou colonização por MRSA, internação ou procedimento cirúrgico no último ano, admissão em casas de saúde, diálise ou ainda ter dispositivos intravenosos. O CA-MRSA também pode ser definido baseado em marcadores genéticos, como a presença de *SCCmec* tipo IV, V ou VII e pela presença da toxina PVL, uma vez que, em geral, 40 a 90% dos isolados de MRSA carreadores de *SCCmecIV* produzem PVL e apenas aproximadamente 5% dos isolados produtores de PVL carregam *SCCmec* tipos I a III. [Durenberg *et al*, 2008]. Entretanto, deve-se considerar que o clone pediátrico, ou USA800, também é carreador de *SCCmecIV*, apesar de tratar-se de uma cepa hospitalar¹³. Segundo Dietrich *et al*, casos de MRSA

são considerados comunitários se preencherem os seguintes critérios: microrganismos isolados em menos de 48 horas de internação hospitalar ou pacientes não internados e sem identificação de critérios para HA-MRSA. Os critérios utilizados por Dietrich *et al* para HA-MRSA são microrganismos isolados com mais de 48 horas de internação hospitalar, história de isolamento prévio de MRSA, hospitalização ou cirurgia no ano anterior à cultura positiva para MRSA, ou dispositivos intravasculares no momento da coleta do material para cultura³⁶.

A disponibilização de técnicas moleculares em investigações epidemiológicas pode demonstrar que alguns isolados de infecções comunitárias apresentam genótipo diferente de isolados hospitalares. Pode revelar também a presença de cepas de *S. aureus*, na comunidade, genotipicamente relacionados com cepas hospitalares, sugerindo a difusão de HA-MRSA fora do ambiente hospitalar⁹.

A tipagem molecular é um pré-requisito no estudo da epidemiologia do *S. aureus*, sendo útil aos serviços de controle de infecção hospitalar, uma vez que o monitoramento da emergência e disseminação de CA-MRSA na comunidade pode ajudar a prevenir a introdução deste microrganismo no ambiente hospitalar³⁷. Qualquer estratégia para conter a transmissão do MRSA, na comunidade ou no hospital, requer conhecimento sobre a natureza e número de clones disseminados¹. As metodologias normalmente utilizadas para caracterizar as cepas de MRSA incluem eletroforese de campo pulsado (ou *pulse-field gel eletroforesis* - PFGE), tipagem sequencial multilocus (ou *multilocus sequence typing* - MLST), tipagem do locus *spa* (que determina a variação da sequência da região X polimórfica do locus da proteína A – *spa* do *S. aureus*) e tipagem do SCCmec por amplificação por PCR (reação em cadeia polimerase)^{1,38,25}. Os clones são nomeados de acordo com sua distribuição geográfica³⁹. Estes métodos permitem a investigação do padrão genético das cepas de

MRSA e proporcionam o conhecimento da sua relação epidemiológica e evolução clonal⁴⁰. Em laboratórios onde as técnicas de PFGE e PCR não estão disponíveis, as cepas de CA-MRSA podem ser identificadas pela sensibilidade a eritromicina, clindamicina, ciprofloxacino e gentamicina²³.

Cepas de CA-MRSA e HA-MRSA diferem fenotipicamente e genotipicamente entre elas. Ao contrário dos isolados de HA-MRSA, a maioria dos isolados de CA-MRSA são sensíveis a antibióticos não β -lactâmicos. Análises moleculares por PFGE ou MLST têm demonstrado que as linhagens de CA-MRSA e HA-MRSA não são relacionadas. Além do mais, a maior diversidade clonal do CA-MRSA comparado ao HA-MRSA sugere que mais linhagens de *S. aureus* adquiram a habilidade de se tornar CA-MRSA¹. As principais características dos HA-MRSA e CA-MRSA estão descritas na tabela 2.

Tabela 2. Principais características das cepas de HA-MRSA e CA-MRSA^a

Característica	HA-MRSA	CA-MRSA
Clínica	Infecções de sítio operatório, Bacteremia; invasivo	Infecções de pele e tecidos moles, picadas de insetos, em casos graves: choque séptico, bacteremia, pneumonia necrotizante, raramente invasivo, múltiplo, recorrente
Epidemiologia	Idosos, neonatos prematuros, imunocomprometidos, associado a cuidados médicos	Jovens saudáveis, atletas, usuários de drogas, militares, indivíduos sem fatores de risco associados,
Fatores de risco	Dispositivos intravasculares, hemodiálise, hospitalização prolongada, uso de antimicrobiano por período longo	Contato físico, lesões de pele, higiene precária
Resistência a antibióticos	Multi-resistente (β -lactâmicos, quinolonas, aminoglicosídeos, eritromicina, clindamicina)	Resistente a β -lactâmicos
Marcadores moleculares	PVL em < 5%, SCC <i>mec</i> I, II e III predominantes	PVL em > 95%, SCC <i>mec</i> IV (subtipos a – h) e V

^a Adaptado de 20 e 41.

O primeiro MRSA foi isolado pouco depois da introdução da meticilina na prática clínica na década de 60. Durante os anos seguintes, MRSA espalharam-se por países europeus e, na década de 70, estava disseminado em diversos países do mundo

como Austrália, Japão e Estados Unidos. Atualmente, MRSA é uma das maiores causas de infecções nosocomiais em todo o mundo. Entre 1997 e 1999, o SENTRY Antimicrobial Surveillance Program estudou a prevalência de infecções por MRSA em hospitais pelo mundo e observou uma prevalência de 23% na Austrália, 67% no Japão, 35% na América Latina, 40% na América do Sul, 32% nos Estados Unidos e 26% na Europa^{42,43}. No Brasil, foi encontrada prevalência de 43,8% de MRSA em estudo realizado pelo SENTRY em amostras coletadas de diversas cidades do país, como São Paulo, Rio de Janeiro, Florianópolis, Porto Alegre e Brasília no período de 1997 a 2001⁴⁴. Em outros países onde são relatadas infecções por MRSA, observa-se um número limitado de clones disseminados, cada um com sua base genética e tipos de SCC*mec* específicos¹.

Dados mais recentes do CDC mostraram que 59,5% de todas as infecções por *S. aureus* associadas a cuidados de saúde nos Estados Unidos são causadas por MRSA²⁵. Outro estudo realizado nos Estados Unidos sobre infecções sangüíneas demonstrou que o segundo agente mais comum causador dessas infecções foi o *S. aureus* e que a proporção de isolados de MRSA aumentou de 22% em 1995 a 57% em 2001⁴⁵. Dados do SENTRY Antimicrobial Surveillance Program demonstraram aumento nos índices de MRSA entre os *S. aureus* isolados de pacientes internados em unidades de terapia intensiva em todo o mundo²⁵. No Brasil, Brites e colaboradores revisaram os registros de isolados bacterianos do Hospital Espanhol em Salvador, Bahia. Foi analisada a frequência de culturas positivas para *S. aureus* durante o período de 1996 e 2004. O total de 710 culturas eram positivas para *S. aureus* e a prevalência de MRSA era de 28%, sendo 59% na unidade de terapia intensiva, 43% na unidade de hemodiálise e 34% na unidade de doenças infecciosas⁴⁶.

Atualmente, isolados de CA-MRSA também têm sido responsáveis por infecções associadas a cuidados de saúde (IACS) em alguns países como Estados Unidos, Canadá e Austrália⁴⁷. Existem estudos que sugerem que cepas de CA-MRSA estão infiltrando-se no ambiente hospitalar e substituindo as infecções por HA-MRSA. Um dos motivos para que esta substituição aconteça é a crescente reserva de CA-MRSA na comunidade. As consequências da invasão de CA-MRSA nos hospitais são preocupantes, uma vez que estará atingindo pacientes debilitados e imunocomprometidos e que as infecções causadas por este microrganismo podem ser graves⁴⁸.

D'Agata e colaboradores sugerem um modelo matemático que pode prever a substituição das cepas de HA-MRSA por CA-MRSA em hospitais baseado nos fatores epidemiológicos que contribuem para a dominância de CA-MRSA⁴⁸. A expansão da reserva de CA-MRSA na comunidade e nos hospitais, as características particulares da bactéria que conferem vantagens sobre cepas de HA-MRSA, incluindo uma versão menor do *SCCmec*, o tipo IV, maior velocidade de multiplicação bacteriana e potencial *fitness* biológico maior reforçam esta teoria. Os autores relatam ainda que o controle efetivo seria possível com a descolonização e lavagem das mãos, mas para isso é necessário adesão dos indivíduos envolvidos⁴⁸.

3.2.3 Tratamento

Em casos em que as infecções cutâneas por CA-MRSA apresentam-se na forma de abscesso, incisão e drenagem são componentes importantes na terapia. Como as

infecções por CA-MRSA são contagiosas e freqüentemente associadas com infecções em outros membros da família e pessoas próximas, tratamento com antibiótico somado à intervenção cirúrgica apropriada pode ser útil para limitar a disseminação da infecção. Entretanto, depois da incisão e drenagem de abscesso com suspeita ou confirmação de CA-MRSA, iniciar terapia sistêmica empírica ou baseada nos resultados da cultura é uma conduta terapêutica conservadora apropriada. A cultura bacteriana é recomendada antes do início da terapia, especialmente se houve necessidade de intervenção cirúrgica (como incisão e drenagem de abscesso)^{5,34}.

Em regiões onde o MSSA ainda são mais prevalentes que MRSA, quando o paciente é jovem, clinicamente bem, e apresenta lesão cutânea sugestiva de infecção de pele ou tecidos moles por *S. aureus*, recomenda-se iniciar a terapia oral com penicilinas penicilinas-resistentes (dicloxacilina, não disponível no Brasil), cefalosporinas ou β -lactâmicos associados a inibidores de β -lactamase. Subseqüentemente, a terapia sistêmica pode ser alterada baseada no perfil de susceptibilidade resultante dos exames de cultura. A duração da terapia oral depende da gravidade da infecção e da resposta terapêutica, entretanto, o mínimo de 10 a 14 dias normalmente é necessário sendo que 2 a 3 semanas pode ser recomendado em casos graves^{5,34}.

Em áreas onde há altos índices de infecções por MRSA carreadores de *SCCmec* tipo IV, fora do ambiente hospitalar, sugere-se administração oral de antibióticos não β -lactâmicos, aos quais a maioria dessas cepas de MRSA são sensíveis (como sulfametoxazol-trimetoprima, clindamicina ou tetraciclina), devem ser inicialmente utilizados para o tratamento empírico de infecções de pele e tecidos moles não complicadas. Entretanto, alterações na terapia antimicrobiana, se necessárias, devem

ser baseadas na susceptibilidade antimicrobiana apresentada pela cultura do material da lesão coletado antes de iniciar a terapia^{5,34}.

Sulfametoxazol-trimetoprima 800/160 mg a cada 12 horas em adultos tem sido recomendado como monoterapia ou combinado com rifampicina 600 mg por dia em adultos no tratamento presuntivo ou confirmado de infecções por CA-MRSA. Particularmente, quando a incidência de resistência induzida a clindamicina é alta na comunidade, recomenda-se o uso de sulfametoxazol-trimetoprima para tratamento empírico de CA-MRSA. Clindamicina 300-450 mg a cada 6 horas em adultos como monoterapia ou combinado com rifampicina 600 mg por dia também pode ser indicado⁵. Diferente do sulfametoxazol-trimetoprima, a clindamicina é normalmente ativa também contra estreptococos β -hemolíticos, outro microrganismo comumente causador de infecções cutâneas na comunidade. Cepas de CA-MRSA resistentes à eritromicina que são inicialmente sensíveis à clindamicina, podem desenvolver resistência à clindamicina durante a terapia. Por este motivo, é realizado o teste D no laboratório, para determinar se os isolados de CA-MRSA sensíveis a clindamicina possuem resistência induzida a este antimicrobiano^{5,34}.

Cepas de CA-MRSA também podem ser sensíveis a tetraciclinas; minociclina 100 mg a cada 12 horas em adultos e doxiciclina 100 mg a cada 12 horas são bem toleradas, de longa duração, com biodisponibilidade oral excelente e possuem melhor atividade anti-estafilocócica do que a tetraciclina, além de não apresentarem atividade contra estreptococos β -hemolíticos. A susceptibilidade do CA-MRSA a fluorquinolonas é variável; entretanto isolados de MRSA logo desenvolvem resistência às fluorquinolonas mais antigas (como ciprofloxacino e levofloxacino) quando utilizadas como monoterapia. Entretanto, as fluorquinolonas mais recentes, como moxifloxacino e gatifloxacino, especialmente se utilizadas em associação com outros

antibióticos, podem não ser tão susceptíveis a desenvolver resistência pelo CA-MRSA⁵.

Para pacientes com infecções graves de pele e tecidos moles, suspeitas de serem causadas por CA-MRSA, recomenda-se o uso de vancomicina intravenosa. Entretanto sugere-se a confirmação por exame de cultura, uma vez que β -lactâmicos como a cefazolina, e penicilinas penicilinase-resistentes como a oxacilina, são bactericidas mais rápidas e mais eficazes que a vancomicina contra MSSA. Outros agentes anti-estafilocócicos como linezolida, daptomicina, quinopristina-dalfopristina, teicoplanina e tigeciclina são disponíveis, além de outros agentes que estão sendo avaliados para o tratamento de CA-MRSA, como ceftobiprole, dalbavancina, oritavancina e telavancina⁵.

O tratamento tópico para lesões infecciosas e para potenciais sítios de colonização bacteriana, como as narinas, pode ser incluído no manejo de infecções cutâneas por CA-MRSA. O mais efetivo na descolonização de CA-MRSA intra-nasal é a aplicação de mupirocina 2% no local. Banho com agente antimicrobiano como sabonete líquido de iodo-povidona 10% ou 7,5%, clorexidina 4%, ou triclosan 2% ou 0,3%, geralmente em conjunto com a aplicação intra-nasal de mupirocina, mostrou-se efetivo no tratamento de pacientes infectados ou colonizados por MRSA^{5,34}.

3.2.4 CA-MRSA e SCCmecIV

Em 1982, foi relatado o primeiro surto de MRSA adquirido na comunidade (CA-MRSA), em usuários de drogas de Detroit, Michigan⁴⁹. Em 1993, foi relatado casos de

CA-MRSA em aborígenes na Austrália, tratando-se de indivíduos saudáveis com infecção de pele e tecidos moles. Durante os anos 90, outros surtos de infecções por CA-MRSA foram surgindo em diversos países do mundo^{1,5}.

Recentemente, muitos estudos têm relatado aumento na frequência de infecções comunitárias causadas por MRSA, patógeno de alta relevância em ambiente hospitalar^{7,8,9,10}. O aumento na prevalência de CA-MRSA e a conseqüente morbidade e mortalidade associadas às infecções causadas por este microorganismo indicam que estas infecções podem vir a se tornar um problema de saúde pública⁹.

Atualmente, a prevalência de infecção e colonização por CA-MRSA está sendo estudada em diferentes regiões do mundo, mapeando assim a disseminação deste germe. Na Espanha, Vindel *et al.* estudaram 463 isolados de *S. aureus* coletados em 145 hospitais em um único dia. Entre eles, 135 (29.2%) eram MRSA, 6.7% dos isolados eram SCCmec type IV, e SCCmec type I e SCCmec type II eram 7.4% e 5.2% dos isolados, respectivamente. Apenas um isolado era produtor de PVL⁵⁰.

Em Atlanta, Estados Unidos, King *et al.* avaliaram 389 episódios de infecção de pele e tecidos moles por *S. aureus* em pacientes da comunidade, sendo 279 (72%) MRSA. Entre os MRSA, 244 (87%) eram CA-MRSA, sendo a maioria do clone USA 300⁵¹. Programas de vigilância antimicrobiana realizados na Austrália registraram aumento significativo no percentual de MRSA de 10,3% em 2000 para 16% em 2006. Os autores atribuíram este aumento à emergência dos clones de CA-MRSA, entretanto HA-MRSA ainda são predominantes na região. Em 2006, foi encontrada prevalência de 8,8% de CA-MRSA entre as infecções comunitárias na capital da Austrália e, embora múltiplos clones de CA-MRSA tenham sido identificados, o clone predominante foi o chamado Queensland (Qld) MRSA (ST93-MRSA-IV), PVL

positivo. Outros clones de CA-MRSA PVL positivos também foram identificados, incluindo USA 300 (ST8-MRSA-IV)⁵².

Salgado *et al*, realizou uma metanálise de vários estudos de prevalência de CA-MRSA, incluindo pacientes hospitalares e indivíduos da comunidade. Os autores observaram que a maioria dos indivíduos tinha pelo menos um fator de risco para CA-MRSA, e que a prevalência de colonização por CA-MRSA entre indivíduos sem fatores de risco para MRSA foi de 0,24%⁷.

Embora as cepas de CA-MRSA sejam mais suscetíveis a antibióticos não β -lactâmicos (como clindamicina, sulfametoxazol/trimetoprima e doxicilina) quando comparadas com cepas de HA-MRSA, tendem a apresentar maior virulência¹⁴. A capacidade das cepas de CA-MRSA colonizarem hospedeiros na comunidade e causarem infecções se deve a uma combinação de fatores de virulência. As cepas de *S. aureus* produzem enzimas extracelulares, como a coagulase, hialuronidase (fator de disseminação), penicilinase, entre outras, e também toxinas, como hemolisinas, super antígenos estafilocócicos e leucocidinas, que funcionam como fatores de virulência²⁰. Alguns estudos evidenciam a associação entre o alto potencial de virulência do CA-MRSA e uma toxina capaz de lisar leucócitos, chamada PVL. Esta toxina também está associada à presença do SCCmec tipo IV e V, e não aos tipos I, II e III¹⁴. Isolados produtores de PVL possuem os genes *lukS-lukF* que codificam as subunidades S e F. Estes componentes foram identificados a partir da sua velocidade de difusão por cromatografia como ‘slow’ (S) e ‘fast’ (F). Esta toxina está associada à destruição dos leucócitos e necrose tecidual^{14,20,53}. Cepas produtoras de PVL podem causar infecções de pele e tecidos moles recorrentes, crônicas e particularmente graves, inclusive pneumonia necrotizante adquirida na comunidade, as quais se apresentam em indivíduos previamente saudáveis e imunocompetentes^{9,20,53}. Entretanto, é importante

notar que cepas de CA-MRSA negativas para PVL também podem ocorrer. Alguns autores afirmam que o papel específico da toxina PVL nas características epidemiológicas e patogênese das infecções por CA-MRSA tem se mostrado indefinido e controverso²⁰.

Para investigar a evolução dos patógenos, é importante estudar seus clones epidêmicos e suas características. A diferenciação molecular dos *S. aureus* tem sido realizada por algumas técnicas, entre elas o MLST é um método essencial para determinar a clonalidade dos isolados. Nesta análise, as seqüências de DNA de 07 genes permitem a classificação em tipos seqüenciais (*sequence types* – STs), onde STs relacionados são agrupados em complexos clonais (CCs)⁵⁴. Inúmeros CCs ou linhagens já foram identificados, cada um com proteínas de superfície variáveis e estruturas diferentes demonstradas por técnicas de genotipagem como a MLST. Os CCs mais freqüentes entre os isolados de MRSA pertencem a 6 destas linhagens (CC1, CC5, CC8, CC22, CC30 e CC45), onde cada uma adquiriu independentemente o *SCCmec*, elementos genéticos móveis carreadores de resistência a meticilina^{55,56}. A distribuição geográfica dos HA-MRSA evolui continuamente, embora cada local apresente número limitado de clones, normalmente de linhagens diferentes, tornando-os facilmente discrimináveis através de testes genéticos. É importante que os serviços de controle de infecção hospitalar possam detectar a introdução de novas cepas ou surtos de infecção, o que inclui cepas mais patogênicas ou CA-MRSA nos hospitais⁵⁶.

Estudos de epidemiologia molecular têm permitido a identificação de CCs de MRSA e MSSA. Em pesquisa realizada na Espanha, foi encontrado 32,1% de MRSA entre 81 isolados de *S. aureus* testados. A maioria (88,5%) era carreador do *SCCmec* tipo IVc e pertenciam ao CC5 e com MLST ST125, ST5 e ST228⁵⁷. A Dinamarca tem apresentado baixos índices de prevalência de MRSA desde a década de 1970, mas

recentemente apresenta número crescente de casos de infecção por CA-MRSA. Em estudo realizado em 1790 amostras de MRSA coletadas entre 1999 e 2006, os autores observaram 29,4% de casos de CA-MRSA entre todas as infecções por MRSA. A tipagem molecular demonstrou mais de 60 clones diferentes, onde 89,4% dos isolados pertenciam a 5 CCs - CC80, CC8, CC30, CC5 e CC22, 81,2% eram carreadores de SCCmec IV e 69,4% eram positivos para PVL³⁹.

Outros países também relatam aumento na incidência de infecções por MRSA na última década, como afirmam pesquisadores da Finlândia, por exemplo, onde foi realizado estudo que demonstrou que, entre 44 amostras avaliadas provenientes de diversos laboratórios do país, o CC8 mostrou-se mais prevalente, o SCCmec predominante era o tipo IV e 48% não apresentou multi-resistência a antibióticos. Vinte tipos diferentes de STs foram encontrados, pertencendo a 12 CCs conhecidos - CC8, CC5, CC45, CC59, CC30, CC80, CC22, CC12, CC1, CC72, CC228 e CC9⁵⁸.

3.2.5 CA-MRSA e SCCmecIV no Brasil e em Porto Alegre

Em estudo publicado em 2005, Ribeiro *et al* descrevem os primeiros casos de infecção por CA-MRSA na América do Sul¹⁶. Os isolados de MRSA foram obtidos de dois pacientes que apresentavam infecção de pele e tecidos moles, e de outro paciente que apresentava artrite séptica. Os três pacientes eram provenientes da comunidade, sem fatores de risco associados como isolamento prévio de MRSA, hospitalização ou cirurgia no ano anterior ao isolamento de MRSA ou presença de dispositivos percutâneos no momento da cultura. Estes três casos foram classificados como

infecções comunitárias segundo os critérios de Dietrich *et al* . As amostras foram obtidas entre junho de 2002 e setembro de 2003 no ambulatório de dois hospitais diferentes localizados na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Todos os isolados eram carreadores de SCC*mec*IV e apresentaram padrões idênticos aos do clone OSPC¹⁶.

Durante um período de 7 meses, Trindade *et al* avaliaram 151 amostras de MRSA isolados de amostras de hemoculturas no Hospital das Clínicas de São Paulo, Brasil. Vinte (13%) não apresentavam perfil de multiresistência aos antimicrobianos testados, sendo sensíveis a 4 ou mais antibióticos. Entre estes, 95% foi identificado o SCC*mec* tipo IV que, embora normalmente seja associado com infecções comunitárias, neste estudo foi associado a infecções nosocomiais em 18 casos e a cuidados de saúde nos outros 2 casos⁵⁹. Nesse estudo não foram avaliados a quais CC pertenciam os isolados.

Nos hospitais brasileiros, cerca de 37% das cepas de *S. aureus* causadoras de infecção são resistentes à metilicina. A maioria das infecções ocorre devido a um único clone de MRSA, chamado BEC, que foi caracterizado pela técnica de MLST como ST239⁶⁰. Os primeiros casos de infecção por CA-MRSA no Brasil, relatados por Ribeiro *et al*, foram identificados como ST30. Este tipo seqüencial, o ST30, tem sido associado ao CA-MRSA em diferentes países, apresentando também a toxina PVL, e o SCC*mec* tipo IV¹⁶. No período de setembro de 1999 a Junho de 2000, Vivoni *et al* selecionaram 87 pacientes admitidos em hospital universitário do Rio de Janeiro, Brasil, que apresentaram infecção por *S. aureus* na admissão ou durante a internação hospitalar. Entre estes, 74 (85%) pacientes apresentaram infecção adquirida em hospital e 13 (15%) apresentaram infecção adquirida na comunidade. Trinta e dois

(37%) pacientes tinham infecção por MRSA, sendo todos eles infecções hospitalares. A maioria pertencia ao BEC (CC8), e 2 casos pertenciam ao clone pediátrico (CC5)⁶⁰.

Em novo estudo, publicado em 2007, Ribeiro e colaboradores caracterizaram isolados de CA-MRSA provenientes das cidades do Rio de Janeiro e Porto Alegre⁴. Os resultados indicaram a presença de clones internacionais nestas duas cidades brasileiras, como o clone OSPC, previamente identificado pelo mesmo grupo na cidade de Porto Alegre¹⁶, e os clones USA300 e USA400. Este resultado indica que o clone OSPC ainda circula em Porto Alegre causando infecções comunitárias em pacientes sem os clássicos fatores de risco para MRSA. Os 13 isolados estudados apresentavam SCC*mec* tipo IV. Os 5 isolados pertencentes ao clone OSPC (ST30) eram carreadores da toxina PVL. Os clones de CA-MRSA estudados estavam envolvidos em infecções comunitárias (nos casos de isolados relacionados ao clone OSPC), na presença ou ausência de fatores de risco clássicos para colonização ou infecção por MRSA, e em infecções nosocomiais (nos casos relacionados aos clones USA300 e USA400)⁴.

Outro estudo realizado em duas cidades brasileiras por Miranda *et al* avaliou isolados de MRSA não multi-resistentes, a fim de investigar o aumento dos isolados USA800 como patógenos hospitalares de duas cidades do Brasil, Recife e Rio de Janeiro¹⁸. Os 81 isolados apresentaram padrões de PFGE similares aos padrões de USA100 (ST5, SCC*mec* II) e USA800 (ST5, SCC*mec* IV), relacionados aos clones New York/Japan e pediátrico, respectivamente. O carreamento do SCC*mec* IV e a classificação por MLST em CC5 confirma a relação genética dos isolados brasileiros com o USA800. Os isolados brasileiros relacionados aos USA800 foram responsáveis por infecções nosocomiais graves em adultos comprometidos e pacientes idosos no Brasil. Os dados demonstraram que o clone de MRSA mais comum entre os pacientes do hospital universitário de Recife foi o BEC, representado 70% dos MRSA

analisados. Entretanto, 14% (6/43) dos MRSA isolados de Recife eram relacionados aos USA800, como 5,9% (2/34) entre os isolados do Rio de Janeiro. Recentemente, isolados relacionados ao USA800 foram detectados colonizando narinas de profissionais da saúde no Rio de Janeiro²⁷. Os isolados relacionados ao USA800, ou clone pediátrico, foi detectado primeiramente por Sa-Leão *et al* em hospital de Lisboa, Portugal, porém também é responsável por infecções hospitalares em outros países como Estados Unidos, Polônia, Argentina, Colômbia, Espanha e França¹⁸.

Reinert e colaboradores estudaram a prevalência dos tipos de *SCCmec* em 50 cepas de MRSA adquiridas em hospitais de diferentes cidades do Brasil entre 1995 e 1999³. Foram encontrados 3 isolados carreadores do *SCCmec* tipo IV, todos com perfis de PFGE e MLST diferentes (ST3, ST5 e ST88). As cepas carreadoras do *SCCmec* tipo III pertenciam ao MLST ST 239, relacionado ao *Brazilian/Iberian clone*. Apenas a cepa ST5 apresentou o gene para a toxina PVL. Os autores comentam que o fato de encontrar cepas *SCCmec* IV na década passada indica que estes clones deviam estar presentes no Brasil há algum tempo, não sendo detectados³.

No período de abril de 1995 a dezembro de 2005, foi realizado estudo retrospectivo em pacientes menores de 20 anos em hospital pediátrico de Salvador⁶¹. Foram revisadas 185 cepas de *S. aureus*, entre as quais 125 (67,6%) e 55 (29,7%) apresentaram infecções comunitárias e infecções hospitalares, respectivamente, e 5 foram definidas como colonização. Entre as infecções comunitárias, 9 isolados eram MRSA, mas 3 foram excluídas da análise devido à hospitalização no ano anterior. A resistência à meticilina foi mais frequente entre infecções hospitalares (30,9%), sendo 4,9% entre infecções comunitárias⁶¹.

O primeiro caso de endocardite por CA-MRSA não associado a cuidados de saúde foi descrito por Fortes *et al* em 2008⁶². Paciente previamente saudável

apresentou história de endocardite após apresentar infecção em ferida traumática, com múltiplas hemoculturas positivas em 72 horas de internação. O isolado apresentou SCC*mec* tipo IV e teste positivo para PVL. O paciente foi tratado com vancomicina e teve recuperação completa em 3 meses. Os autores comentam o desafio no aumento da incidência de endocardite por CA-MRSA para escolha da melhor terapia empírica, onde alguns autores sugerem associação de β -lactâmico com agente anti-MRSA para infecção grave por *S. aureus*⁶².

Schuenck e colaboradores realizaram análise molecular e caracterização clínica de 20 isolados de MRSA não multiresistentes entre fevereiro de 2005 a março de 2006. Todos, exceto 1 dos 20 isolados, apresentaram SCC*mec* IV e os genes da toxina PVL foram observados em apenas 3 cepas. Os MRSA SCC*mec* IV não multi-resistentes isolados eram policlonais, uma vez que a análise por PFGE agrupou os isolados em 9 genótipos diferentes (A ao I) os quais pertenciam às linhagens ST1 (CC1) e ST5 (CC5) causadoras de infecções comunitárias e hospitalares, e ST72 (CC8) e ST97 (CC97) causadoras de infecções hospitalares, e ST8 (CC8) e 2 STs *singletons* SVL5 e SVL30 causadoras de infecções comunitárias¹⁷.

Desde o último ano, estão surgindo maior número de casos de infecções graves por CA-MRSA no Brasil, como descreveram Rozenbaum e colaboradores, em artigo publicado em 2009²⁷. O estudo descreve o caso de uma criança de 10 anos imunocompetente que apresentava algumas complicações, incluindo osteomielite hematogênica, envolvendo múltiplos sítios requerendo drenagem de abscessos de tecidos moles, e empiema pleural e pericárdico. Os isolados bacterianos eram relacionados à linhagem SCC*mec* IV ST30 (clone OSPC), PVL positivos e susceptíveis a todos os antibióticos não β -lactâmicos testados. Os autores ainda caracterizaram mais 2 casos de infecção comunitária grave associados ao SCC*mec* IV ST30 produtor de

PVL em crianças na cidade do Rio de Janeiro. No Brasil ainda não há dados de prevalência de CA-MRSA atuais pelo país, microrganismo em crescimento como agente potencial de infecções graves²⁷.

4. Justificativa:

Estudos realizados em diferentes continentes demonstram aumento preocupante na incidência de infecções por MRSA, carreadores de SCCmec IV, tanto na comunidade como no ambiente hospitalar. Alguns aspectos relacionados às infecções por *S. aureus* são importantes como o surgimento de novas cepas, sua disseminação nos hospitais e comunidade, o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos e a necessidade de vigilância epidemiológica. A epidemiologia do *S. aureus* está mudando; cepas geralmente associadas a infecções comunitárias, como USA300, têm sido isoladas de pacientes internados em hospitais, assim como cepas relacionadas a cuidados de saúde estão começando a surgir na comunidade. Esta mudança torna-se um desafio no diagnóstico e na inicialização de terapia efetiva na redução da morbidade e mortalidade ocasionada por esta doença.

No Brasil, crescentemente têm sido descritos casos de infecções comunitárias por MRSA carreadores de SCCmecIV, porém pouco se conhece sobre as características clínicas dessas infecções e, aparentemente, a prevalência de clones inicialmente comunitários em ambiente hospitalar parece ser menos comuns em comparação com outros países. Devido a constante mudança na epidemiologia de infecções por MRSA, sobretudo com a crescente prevalência de carreadores de SCCmecIV, a contínua avaliação da epidemiologia molecular em diversas regiões é muito importante, assim como a adequada avaliação das características clínicas de pacientes infectados ou colonizados por esses isolados.

5. Objetivos

5.1 Geral:

Avaliar a epidemiologia clínica e molecular de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina carreadores de cassete cromossômico estafilocócico tipo IV.

5.2 Específicos:

1. Avaliar as características clínicas de infecções causadas por MRSA SCCmec IV em pacientes atendidos em hospital universitário de Porto Alegre.
2. Avaliar a epidemiologia molecular de isolados MRSA SCCmec IV causadores de infecções em pacientes atendidos em hospital universitário de Porto Alegre.

6. Referências

1. Deurenberg R H, Stobberingh E E. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Cur Molec Med* 2009; 9, 100-115.
2. Sousa M A, Conceição T, Simas C, Lencastre H. Comparison of genetic backgrounds of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Portuguese hospitals and the community. *J Clin Microbiol* 2005, 5150–5157.
3. Reinert C, McCulloch J A, Watanabe S, Ito T, Hiramatsu K, Mamizuka E M. Type IV SCCmec found in decade old Brazilian MRSA isolates. *The Braz J Infect Dis* 2008;12(3):213-216.
4. Ribeiro A, Coronado AZ, Silva-Carvalho C *et al.* Detection and characterization of international community-acquired infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Rio de Janeiro and Porto Alegre cities causing both community- and hospital-associated diseases. *Diag Microbiol Infect Dis* 2007; 59: 339-45.
5. Cohen P R. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections: a review of epidemiology, clinical features, management, and prevention. *Int J Derm* 2007; 46: 1-11.
6. Sdougkos G, Chini V, Papanastasiou D A, Christodoulou G, Stamatakis E, Vris A, Christodoulidi I, Protopapadakis G, Spiliopoulou I. Community-associated *Staphylococcus aureus* infections and nasal carriage among children: molecular microbial data and clinical characteristics. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 995–1001.
7. Salgado C D, Farr B M, Calfee D P. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clin Infect Dis*

2003; 36: 131-139.

8. Kluytmans-VandenBergh M F Q, Kluytmans J A J. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: current perspectives. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(1): 9-15.
9. Zetola N, Francis J S, Nuermberger E L, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 275-286.
10. Kuehnert M J, Kruszon-Moran D, Hill H A, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis* 2006; 193: 172-179.
11. Miller, L G; Kaplan, S L. *Staphylococcus aureus*: a community pathogen. *Infect Dis Clin N Am* 2009; 23:35–52.
12. Higuchi W, Takano T, Teng LJ, Yamamoto T. Structure and specific detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type VII. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008; 19: 752-6.
13. Oliveira DC, Milheirico C, de Lencastre H. Redefining a structural variant of staphylococcal cassette chromosome *mec*, SCC*mec* type VI. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 3457-9
14. Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Pantone-Valentine leukocidin. *Lab Invest* 2007; 87: 3-9.
15. Perez, L R R; D’Azevedo, P A. Clonal types and antimicrobial resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitals in South Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 2008; 50(3):135-137.
16. Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho C *et al.* First report of infection with

community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1985-8.

17. Schuenck RP, Nouér SA, Winter Cde O, Cavalcante FS, Scotti TD, Ferreira AL, Giambiagi-de Marval M, dos Santos KR. Polyclonal presence of non-multiresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying SCCmec IV in health care-associated infections in a hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Diag Microbiol Infect Dis*. 2009; 64(4):434-41.

18. Miranda O P, Silva-Carvalho M C, Ribeiro A, Portela F, Cordeiro R P, Caetano N, Vidal C F L, Figueiredo A M S. Emergence in Brazil of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying SCCmecIV that are related genetically to the USA800 clone. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 1165–1172.

19. Lowy F D. *Staphylococcus aureus* infection. *N Engl J Med* 1998; 339:520-532.

20. Matouskova, I; Janout, V. Current knowledge of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2008, 152(2):191–202.

21. Wertheim H F L, Melles D C, Vos M C, Leeuwen W, Belkum A, Verbrugh H A, Nouwen J L. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 751–62.

22. Stapleton, P D; Taylor, P W. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. *Sci Prog*. 2002; 85(1): 57–72.

23. Young, L M; Connie S P. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* emerging as an important cause of necrotizing fasciitis. *Surg Infect* 2008; 9(4).

24. Gorwitz, R J. A Review of Community-associated methicillin-resistant

- Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 1–7.
25. Palavecino, E. Clinical, epidemiological, and laboratory aspects of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. *Methods in molec biol* 2007; 391: 1-19.
26. Gabillot-Carré, M; Roujeau J C. Acute bacterial skin infections and cellulitis. *Cur Op Infect Dis* 2007, 20:118–123.
27. Rozenbaum R, Sampaio MG, Batista GS, Garibaldi AM, Terra GM, Souza MJ, Vieira EN, Silva-Carvalho MC, Teixeira LA, Figueiredo AM. The first report in Brazil of severe infection caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Braz J Med Biol Res.* 2009; 42(8):756-60.
28. Martino J L, McMillian W D, Polish L B, Dixon A E. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Resp Med* 2008; 102, 932–934.
29. Bamberger D M, Boyd S E. Management of *Staphylococcus aureus* infection. *Am Fam Physician* 2005; 72(12): 2474-2481.
30. Foster T J. The *Staphylococcus aureus* “superbug”. *The J Clin Invest* 2004; 114(12): 1693-6.
31. Murphy, J; Walshe, R; Devocelle, M. A computational model of antibiotic-resistance mechanisms in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Theor Biol* 2008; 254: 284– 293.
32. Guignard, B; Entenza, J M; Moreillon, P. b-lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Cur Op in Pharmacol* 2005, 5:479–489.
33. Couto I, Wu S W, Tomasz A, Lencastre H. Development of methicillin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus sciuri* by transcriptional activation of

the *mecA* homologue native to the species. *J Bacteriol* 2003; 185(2): 645–653.

34. Elston D M. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56(1): 1-16.
35. Frazee B W, Lynn J, Charlebois E D, et al. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in emergency department skin and soft tissue infections. *Ann Emerg Med* 2005; 45:311-320.
36. Dietrich DW, Auld DB, Mermel LA. (2004) Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in southern New England children. *Pediatrics* 2004; 113:347-352.
37. Strommenger B, Bräulke C, Pasemann B, Schmidt C, Witte W. Multiplex PCR for rapid detection of *Staphylococcus aureus* isolates suspected to represent community-acquired strains. *J Clin Microbiol*, 2008; 46(2): 582–587.
38. Bonnstetter K K, Wolter D J, Tenover F C, McDougal L K, Goering R V. Rapid multiplex PCR assay for identification of USA300 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 2007; 45(1): 141–146.
39. Larsen A R, Stegger M, Böcher S, Sørup M, Monnet D L, Skov R L. Emergence and characterization of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Denmark, 1999 to 2006. *J Clin Microbiol* 2009; 73–78.
40. Nejma M B, Mastouri M, Bel Hadj Jrad B, Nour M. Characterization of ST80 Panton-Valentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in Tunisia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 Apr 2.
41. Millar B C, Loughrey A, Elborn J S, Moore J E. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *J Hosp*

Infect 2007; 67: 109-113.

42. Bell JM, Turnidge JD. High prevalence of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitalized patients in Asia-Pacific and South Africa: results from SENTRY antimicrobial surveillance program, 1998-1999. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(3):879-81.

43. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, Beach M. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis.* 2001; 32(2):114-32.

44. Sader H S, Jones R N, Gales N C, Silva J B, Pignatari A C. SENTRY antimicrobial surveillance program report: latin american and brazilian results for 1997 through 2001. *Braz J Infect Dis.* 2004; 8(1).

45. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent S M, Seifert H, Wenzel R P, Edmond M B. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39:309–317.

46. Brites C, Silva N, Sampaio-Sá M. Temporal evolution of the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary hospital in Bahia, Brazil: a nine-year evaluation study. *Braz J Infect Dis.* 2006 Aug; 10(4):235-8.

47. Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2008 Jun 1; 46 Suppl 5: S344-9.

48. D'Agata E M C, Webb G F, Horn M A, Moellering Jr. R C, Ruan S. Modeling the invasion of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* into hospitals. *Clin Infect Dis.* 2009 February 1; 48(3): 274–284.

49. Saravolatz LD, Markowitz N, Arking L, *et al.* Methicillin-resistant

Staphylococcus aureus: epidemiologic observations during a community-acquired outbreak. *Ann Intern Med* 1982; 96: 11–16.

50. Vindel A, Cuevas O, Cercenado E, Marcos C, Bautista V, Castellares C, Trincado P, Boquete T, Pérez-Vázquez M, Marín M, Bouza E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: molecular epidemiology and utility of different typing methods. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(6):1620-7.

51. King M, Humphrey B J, Wang Y F, Kourbatova E V, Ray S M, Blumberg H M. Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA 300 Clone as the predominant cause of skin and soft-tissue infections. *Ann Intern Med.* 2006; 144: 309-317.

52. Coombs GW, Nimmo GR, Pearson JC, Christiansen KJ, Bell JM, Collignon PJ, McLaws ML. Prevalence of MRSA strains among *Staphylococcus aureus* isolated from outpatients, 2006. *Commun Dis Intell.* 2009 Mar;33(1):10-20.

53. Nathwani D, Morgan M, Masterton RGM *et al.* Guidelines for UK practice for the diagnosis and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections presenting in the community. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 976-94.

54. Suzuki M, Matsumoto M, Takahashi M, Hayakawa Y, Minagawa H. Identification of the clonal complexes of *Staphylococcus aureus* strains by determination of the conservation patterns of small genomic islets. *J Appl Microbiol.* 2009; Apr 22.

55. Feng Y, Chen CJ, Su LH, Hu S, Yu J, Chiu CH. Evolution and pathogenesis of *Staphylococcus aureus*: lessons learned from genotyping and comparative genomics. *FEMS Microbiol Rev.* 2008; 32(1):23-37.

56. Cockfield J, Pathak S, Edgeworth J D, Lindsay J A. Rapid determination of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. *Journal of*

Medical Microbiology 2007; 56: 614–619.

57. Argudín MA, Mendoza MC, Méndez FJ, Martín MC, Guerra B, Rodicio MR. Clonal complexes and diversity of exotoxin gene profiles in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from patients in a Spanish hospital. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(7): 2097-105.

58. Vainio A, Kardén-Lilja M, Ibrahim S, Kerttula AM, Salmenlinna S, Virolainen A, Vuopio-Varkila J. Clonality of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Finland as defined by several molecular methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008 Jul;27(7):545-55.

59. Trindade P A, Pacheco RL, Costa SF, Rossi F, Barone AA, Mamizuka EM, Levin AS. Prevalence of SCCmec type IV in nosocomial bloodstream isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2005 Jul; 43(7):3435-7.

60. Vivoni AM, Diep BA, de Gouveia Magalhães AC, Santos KR, Riley LW, Sensabaugh GF, Moreira BM. Clonal composition of *Staphylococcus aureus* isolates at a Brazilian university hospital: identification of international circulating lineages. *J Clin Microbiol.* 2006 May; 44(5):1686-91.

61. Nascimento-Carvalho CM, Lyra TG, Alves NN, Caldas RM, Barberino MG. Resistance to methicillin and other antimicrobials among community-acquired and nosocomial *Staphylococcus aureus* strains in a pediatric teaching hospital in Salvador, Northeast Brazil. *Microb Drug Resist.* 2008; 14(2):129-31.

62. Fortes CQ, Espanha CA, Bustorff FP, Zappa BC, Ferreira AL, Moreira RB, Pereira NG, Fowler VG Jr, Deshmukh H. First reported case of infective endocarditis caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* not associated with healthcare contact in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2008; 12(6): 541-3.

7. Artigo

Publicado on-line no periódico *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* em setembro de 2009.

**Clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant
Staphylococcus aureus carrying SCCmecIV in a University Hospital in Porto
Alegre, Brazil**

Letícia V. Scribel,^a Maria C. Silva-Carvalho,^b Raquel Rodrigues Souza,^b Silvana V. Superti,^c Carlos H. C. Kvitko,^a Agnes M. S. Figueiredo,^{a,†} Alexandre P. Zavascki^{d,e,†,*}

^a *Medical Sciences Post-graduate Program, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;*

^b *Paulo de Góes Microbiology Institute, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil;*

^c *Microbiology Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;*

^d *Infectious Diseases Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos Street, 90035-903, Porto Alegre, Brazil;*

^e *Infectious Diseases Service, Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.*

Running title: Epidemiology of MRSA carrying SCCmecIV

Institution at which the work was performed: Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 6690 Ipiranga Avenue. 90610-000. Porto Alegre, Brazil.

Fone/Fax: +55 (51) 33203145.

† Both senior authors.

*Corresponding author: Alexandre P. Zavascki. Infectious Diseases Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil. 2350 Ramiro Barcelos St, Porto Alegre – Rio Grande do Sul, Brazil. Zip-code 90.035-903. Phone/FAX: +55 51 21018152. E-mail address:

azavascki@hcpa.ufrgs.br

Abstract

We evaluated clinical outcomes and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carrying SCC*mecIV* recovered from patients attended at a teaching hospital from Porto Alegre, Brazil. All PVL-producer isolates belonged to clonal complex (CC) 30 (11 isolates, related to Oceania Southwest Pacific clone - OSPC) and the PVL-negative isolates were typed as CC5 (2 isolates, related to the pediatric clone). Five patients had health-care associated infections (HCAI) with hospital onset, five HCAI with community-onset and three community-acquired infections without risks. A high overall mortality (30.8%) was found. This study show that OSPC isolates are not only causing community-associated infections but are also involved in HCAI in our country.

Keywords: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, community-infection, SCC*mecIV*, CA-MRSA, MRSA

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been increasingly associated with community-associated (CA) infections (Zetola et al., 2005). Methicillin resistance in staphylococci is determined by the *mecA* gene carried by the staphylococcal chromosomal cassette *mec* (SCC*mec*) I to VII (Higuchi et al., 2008). Hospital-associated (HA)-MRSA isolates usually carry SCC*mec*I, II or III, while CA-MRSA strains carry SCC*mec*IV, and less frequently, SCC*mec*V or VII, which contain *mecA* as the only gene encoding antibiotic resistance (Higuchi et al., 2008). As CA-MRSA, the HA-MRSA called pediatric clone carries cassette *mec* types IV, but some isolates from Portugal display SCC*mec* VI (Oliveira et al., 2006) Currently, CA-MRSA isolates have also been responsible for healthcare-associated infections (HCAI) in many countries (Boucher and Corey, 2008).

CA-MRSA isolates belonging to the Oceania Southwest Pacific clone (OSPC) was first reported in Brazil in patients from Porto Alegre (Ribeiro et al., 2005). Other international clones carrying SCC*mec*IV has also been reported in different Brazilian cities (Ribeiro et al., 2007). Nonetheless, the clinical characteristics of these infections have been poorly described thus far. Therefore, we aimed to review the clinical and epidemiological characteristics of patients with SCC*mec*IV isolates attended at a teaching hospital in Porto Alegre and to assess the molecular epidemiology of these isolates.

The inclusion criteria in the case series were: 1) MRSA recovered from either out or inpatients at São Lucas Hospital, located in Porto Alegre city, from July 2006 to June 2008, and 2) antimicrobial susceptibility patterns suggestive of carrying SCC*mec*IV (resistance only to oxacillin or oxacillin plus no more than three non- β -lactam antibiotics). The medical charts of patients with proved SCC*mec*IV MRSA isolates were reviewed. HCAI were defined according to criteria proposed elsewhere (Dietrich et al.,

2004). HCAI were further classified in community-onset (CO), if MRSA was recovered <48 hours of hospital admission; and hospital-onset (HO), if MRSA was recovered \geq 48 hours of hospital admission. CA infections without risks were defined as those from which the isolate was recovered at an outpatient setting or <48 hours of hospital admission and the patient did not present any of the above referred criteria. Therapy was considered appropriate if the MRSA showed *in vitro* susceptibility to the antimicrobial administered. The study was approved by the local ethic committee.

Isolates were identified by Vitek system (bioMérieux) and confirmed as MRSA by amplification of an internal fragment of the *mecA* gene by PCR (Oliveira and de Lencastre, 2002) and free-coagulase test. The antimicrobial susceptibility profiles were determined by disk diffusion test as recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2007). The following antibiotics were tested: ciprofloxacin (5 μ g), clindamycin (2 μ g), chloramphenicol (30 μ g), erythromycin (15 μ g), gentamicin (10 μ g), linezolid (30 μ g), oxacillin (1 μ g), rifampicin (5 μ g), trimethoprim–sulphamethoxazole (125 μ g/23.75 μ g), tetracycline (30 μ g) and vancomycin (30 μ g). MLS_Bi phenotype (macrolide, lincosamide, streptogramin B-inducible resistance) was accessed by D test (Fiebelkon et al., 2003). Oxacillin MIC was determined by E-test (AB, Slona, Sweden). The *S. aureus* ATTC 25923 was used for controlling the disk susceptibility tests.

PFGE of *Sma*I-digested DNA was performed in a CHEF-DR III system (Bio-Rad, Richmond, CA, USA) as described previously (Soares et al., 2001). MRSA representatives of some international epidemic clones, USA100 (New York/Japan clone) and USA800 (pediatric clone), kindly obtained from Dr. Paul Dunman, Nebraska University, USA; and OSPC (WB56), from our collection (Ribeiro et al., 2005), were used for comparison of the PFGE patterns. The visual criteria described by Tenover et al

(1995) were the main standard used for interpreting the PFGE results. SCC*mec* typing was performed using the PCR multiplex methods previously described (Oliveira et al., 2006). To allocate the isolates recovered in the clonal complex (CC), they were additionally genotyped by the restriction-modification (RM) test described by Cockfield *et al* (Cockfield et al., 2007). The occurrence of the PVL-encoding gene *lukF* was tested by PCR as described elsewhere (Ribeiro et al., 2005).

During the study period, a total of 616 *S. aureus* has been isolated, 381 (61.8%) of them were MRSA. Twenty-one (5.5%) MRSA isolates from 13 patients met in the inclusion criteria. Only the first isolate of each patient was considered for this study. All the isolates analyzed carried SCC*mec*IV and belonged to two different lineages by RM test: CC30 (11 isolates) and CC5 (2 isolates). The 11 isolates classified as CC30 (from patients 1, 3-5, 7-13) had PFGE patterns called A (subtypes A₁₋₄), which were visually identical to that of the representative of the OSPC clone or displayed just two or three band-differences from this pattern. All these isolates showed amplification product for the fragment of *lukF* gene and were considered PVL positive. The remaining CC5 isolates (from patients 2 and 6) had more than six different bands from PFGE A and were assigned in a new pattern B. These last isolates belonged to CC5, did not show amplification for PVL, and had PFGE patterns similar to pediatric and New York clones (Figure 1). Thus, because they carried SCC*mec*IV they were considered related to the pediatric clone.

Antimicrobial resistance phenotypes and molecular characteristics of these 13 isolates are summarized in table 1. Clinical and epidemiological characteristics of the patients are described in Table 2. Seven (54%) patients were female and 6 (46%) male. The mean age was 55.4 years, ranging from 5 to 92 years. The length of hospital stay for these patients before MRSA isolation ranged from 7 days to 4 months.

We assessed the main clinical and molecular characteristics of 13 MRSA isolates carrying *SCCmecIV* from patients attended at a teaching hospital from Porto Alegre, a city where most cases of CA-MRSA have been reported in Brazil, thus far. Two international CC was detected among these isolates, the PVL-producer CC30 (related to OSPC), infecting patients with and without known risk factors for MRSA, and CC5 (related to pediatric clone) causing infections in hospitalized patients. The presence of other international clones, such as USA300 and WA-1/USA400, has also been reported in Porto Alegre (Ribeiro et al., 2007), but none of them was found in our study. Notably, 72.7% of CC30 isolates were actually involved in HCAI and only three of them were associated with true CA-MRSA infections. Thus, typical CA-MRSA isolates are also associated with HCAI in our country. The presence of OSPC strain causing HCAI has not been reported in Brazil, thus far. However, a recent study carried out in Uruguay showed that, in at least one hospital, CA-MRSA had replaced HA-MRSA. Most of those isolates were classified as USA100/OSPC (Benoit et al., 2008). In our study, the few infections occurring in patients without risk factors for MRSA were also due to OSPC isolates.

A relatively high overall mortality (30.8%; 4 of 13 patients) was found in our study, which was even higher (44.4%; 4 of 9 patients) if we exclude 4 patients with less invasive infections, such as furuncles and skin abscesses. Wang et al. (2008) have reported 30-day mortality of 10.0% among patients with CA-MRSA bacteraemia. However, in our study, one of the patients who died (case 2) was very old and presented severe comorbidities. Additionally, it was found that the *SCCmecIV* MRSA isolate from this patient was resistant to the prescribed drug (levofloxacin). Similarly, the patient 9, who also died, presented with bacteraemia and septic shock and received appropriate therapy only 7 days after MRSA was recovery from blood. The treatment was

unreported for another patient who died (case 6). In fact, excluding the patient whose treatment was not reported, 5 (46.7%) of 12 patients did not received appropriate MRSA therapy (cases 2, 3, 4, 10, 12) and 3 (25%) received the appropriate therapy only 6 to 8 days after MRSA isolation (cases 8, 11, 13). These findings might have contributed for both death and recurrence of infections observed.

Surgical drainage seemed to be sufficient to cure three patients with skin and soft-tissue infection since they were treated with drugs for which the isolates were not susceptible: case 4, erythromycin for furunculosis (the isolate was erythromycin-resistant and had a negative MLS_{Bi} phenotype); case 10, cefalexin for axillary abscess; and case 12, ceftriaxone and clindamycin for an abscess on the back (the isolate had a positive MLS_{Bi} phenotype).

To our knowledge, this study also presented the first description of necrotizing pneumonia due to CA-MRSA in Brazil. As expected, this isolate was PVL producer.

This patient presented a recurrent pneumonia during the hospitalization, but was cured after vancomycin and rifampicin combined therapy.

A limitation of our study was that it was performed in a single centre. However, it is one of the largest hospitals from Porto Alegre, attending a significant proportion of the city population. Additionally, although phenotypically indistinct from the first MRSA isolates, those recovered from recurrences were not submitted to molecular analysis. Concluding, our results showed that OSPC isolates are not only causing community-associated infections in Brazil but also HCAI. The presence of OSPC isolates sharing hospital environments with the highly multidrug-resistant isolates of the Brazilian epidemic clone arouses concerns about potential acquisitions of antibiotic resistant genes by this very susceptible and well-adapted community strain of MRSA and might be an

initial sign of a changing in the molecular epidemiology of MRSA infections in some Brazilian hospitals.

Acknowledgment

This study was supported in part by The National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Ministry of Science and Technology, Brazil, Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) and Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES). AMSF and RRS are recipients of fellowships from CNPq and MCSC from FAPERJ. A.P.Z. receives research fellow from CNPq (301829/2008-0).

References

Benoit SR, Estivariz C, Mogdasy C, Pedreira W, Galiana A, Galiana A, Bagnulo H, Gorwitz R, Fosheim GE, McDougal LK, Jernigan D (2008) Community strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as potential cause of healthcare-associated infections, Uruguay, 2002-2004. *Emerg Infect Dis* 14:1216-1223.

Boucher HW, Corey GR (2008) Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 46(Suppl 5):S344-349.

Clinical and Laboratory Standards Institute: *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Seventeenth Information Supplement M100-S17*. CLSI, Wayne, PA, USA, 2007.

Cockfield JD, Pathak S, Edgeworth JD, Lindsay JA (2007) Rapid determination of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. *J Med Microbiol* 56:614-619.

Dietrich DW, Auld DB, Mermel LA. (2004) Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in southern New England children. *Pediatrics* 113:347-352.

Fiebelkorn KR, Crawford SA, Mcelmeel ML, Jorgensen JH (2003) Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *J Clin Microbiol* 41:4740-4744.

Higuchi W, Takano T, Teng LJ, Yamamoto T (2008) Structure and specific detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type VII. *Biochem Biophys Res Commun*, 19:752-756.

Oliveira DC, de Lencastre H (2002) Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 46:2155-2161.

Oliveira DC, Milheirico C, de Lencastre H (2006) Redefining a structural variant of staphylococcal cassette chromosome *mec*, SCC*mec* type VI. *Antimicrob Agents Chemother* 50:3457-3459

Ribeiro A, Coronado AZ, Silva-Carvalho MC, Ferreira-Carvalho BT, Dias C, Rozenbaum R, Del Peloso PF, da Costa Ferreira Leite C, Teixeira LA, Figueiredo AM (2007) Detection and characterization of international community-acquired infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Rio de Janeiro and Porto Alegre cities causing both community- and hospital-associated diseases. *Diagn Microbiol Infect Disease* 59:339-345.

Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, Berquó L, Ferreira FA, Santos RN, Ferreira-Carvalho BT, Figueiredo AM (2005) First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J Clin Microbiol* 43:1985-1988.

Soares MJS, Teixeira LA, Nunes MRCM, Silva MCC, Ferreira-Carvalho BT, Figueiredo AMS (2001) Analysis of different molecular methods for typing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates belonging to the Brazilian epidemic clone. *J Med Microbiol* 50:1-11.

Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B (1995) Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced

by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 33:2233-2239.

Wang JL, Chen SY, Wang JT, Wu GH, Chiang WC, Hsueh PR, Chen YC, Chang SC (2008) Comparison of both clinical features and mortality risk associated with bacteremia due to community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *S. aureus*. *Clin Infect Dis* 46:799-806.

Zetola N, Francis JS, Nuermberger EL, Bishai WR (2005) Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect Dis* 5:275-286.

Table 1

Antimicrobial resistance phenotype and molecular characteristics of the 13 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates displaying SCCmecIV

Case	Isolation data	Clinical Material	Oxacillin MIC, mg/L	Non- β -lactam antibiotic resistance ^a	MLS _{Bi} ^b	PFGE	CC ^c	<i>lukF</i> - pv ^d
1	July, 2006	Surgical wound	>256	Sc	ND	A ₃	30	+
2	September, 2006	Tracheal aspirate	>256	CIP	ND	B	5	-
3	November, 2006	Tracheal aspirate	64	ERY	-	A ₄	30	+
4	May, 2007	Hair skin abscess	32	ERY	-	A ₂	30	+
5	June, 2007	Blood	>256	Sc	ND	A ₁	30	+
6	June, 2007	Surgical wound	32	ERY, CLI	+	B	5	-
7	June, 2007	Surgical wound	32	Sc	ND	A ₁	30	+
8	July, 2007	Pustule secretion	64	ERY, CLI	+	A ₂	30	+
9	July, 2007	Blood	16	Sc	ND	A ₁	30	+
10	October, 2007	Axillary abscess	32	Sc	ND	A ₁	30	+
11	November, 07	Knee prosthesis	32	Sc	ND	A ₂	30	+
12	February, 2008	Furuncle secretion	32	ERY, CLI	+	A ₁	30	+
13	May, 2008	Bone fistula secretion	32	Sc	ND	A ₁	30	+

^a Sc, Susceptible to all non- β -lactams tested; CIP, ciprofloxacin, ERY, erythromycin; CLI, clindamycin. ^bMLS_{Bi}, macrolide, lincosamide, streptogramin B-inducible resistance. ND, not done; +, D test positive; -, D test negative. ^cCC, clonal complex was assessed using the restriction modification test (RM test). ^d*lukF*-pv, the gene encoding for the F subunit of Panton-Valentine leukocidin (PVL) was assessed by PCR amplification. +, amplification detected; -, no amplification was detected with the specific primers.

Table 2

Clinical and epidemiological characteristics of the 13 patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying SCCmec IV

Case	Age, years	Sex	Baseline diseases	Type of Infection	Risk factor for MRSA ^a	Site of infection	Surgical intervention	Antibiotic therapy/ time to start therapy/ duration of therapy, days	Outcome / Time (days) from CA-MRSA recovery to the outcome	Recurrence / site/ outcome ^b
1	61	F	CHD, CHF	HCA HO IVC	hospitalization,	Mediastinitis	Yes	VAN/ 3/ 21	Death / 35	No
2	92	F	CRF; stroke, Alzheimer	HCA HO	hospitalization, antibiotic use	Pneumonia	No	LVX/ 1/ 19	Cured / 20	Yes/ Pneumonia / Death
3	57	M	Neoplasia, COPD	HCA HO	hospitalization, antibiotic use	Pneumonia	No	FEP followed by MEM/ 0 and 10/ 9 and 14	Cured / 23	No
4	42	M	CHF	HCA CO	hospitalization, antibiotic use	Recurrent furunculosis and scalp folliculitis	No	PEN/ 12/ 9	Cured / unknown ^c	Yes (2 episodes)/ Scalp folliculitis and pustules on the nape/ cured
5	66	M	None	HCA CO	hospitalization	Necrotizing pneumonia	No	VAN plus CLR plus SXT/ 0, 0 and 17/ 36, 7 and 14	Cured / 37	Yes/ Pneumonia/ Cured.

Table 2 Continuation

Case	Age, years	Sex	Baseline diseases	Type of Infection	Risk factor for MRSA ^a	Site of infection	Surgical intervention for treatment	Antibiotic therapy/ time to start therapy/ duration of therapy, days	Outcome / Time (days) from CA-MRSA recovery to the outcome	Recurrence / site/ outcome ^b
6	47	F	PAD	HCA HO	hospitalization, antibiotic use	By-pass surgical wound on left leg	Yes	Unknown ^d	Death / 15	No
7	48	F	None	HCA CO	hospitalization	Abdominal surgical wound infection	Yes	CIP plus CLI/ 0 and 0/ 15 and 7	Cured / 15	No
8	46	M	AIDS	CA	None	Skin pustules on both arms	No	SXM/ 7/ 27	Cured / 35	Yes/ Pustules on the right buttock/ Unknown
9	86	F	CHF, DM	HCA HO	hospitalization, IVC	Bacteraemia / septic shock /unknown primary site	No	MEM and VAN/ 1 and 7/ 7 and 3	Death / 10	No

Table 2 Continuation

Case	Age, years	Sex	Baseline diseases	Type of Infection	Risk factor for MRSA ^a	Site of infection	Surgical intervention for treatment	Antibiotic therapy/ time to start therapy/ duration of therapy, days	Outcome / Time (days) from CA-MRSA recovery to the outcome	Recurrence / site/ outcome ^b
10	21	F	None	CA	None	Axillary abscess	Yes	LEX/ 0 / unknown	Cured /unknown ^c	No
11	91	F	CHF	HCA CO	hospitalization, surgery, antibiotic use	Knee prosthesis infection	Yes	VAN followed by CIP/ 8 and 16/ 8 and 8	Cured / 25	No
12	50	M	Alcoholism	CA	None	Recurrent abscess on the back	Yes	CRO and CLI/ 0 and 0 / 7 and 7	Cured /unknown ^c	No
13	5	M	None	HCA CO	hospitalization, surgery	Right humeral osteomyelitis	Yes	OXA and SMX/ 0 and 6/ 6 and 31	Unknown ^c	No

CFR = cefadroxil; CIP = ciprofloxacin; CLI = clindamycin; CLR = clarithromycin; CRO = ceftriaxone; ERY = erythromycin; FEP = cefepime; LEX = cefalexin; LVX = levofloxacin; MEM = meropenem; PEN = penicillin; RIP = rifampicin; SXT = trimethoprim/sulfamethoxazole; VAN = vancomycin. Diseases: CHD = coronary heart disease; CHF = congestive heart failure; COPD = chronic obstructive pulmonary disease; CRF = chronic renal failure; DM = diabetes mellitus; PAD = periphery arterial disease. Infection type: CA = community-associated; CO = community-onset; HCA = Healthcare-associated; HO = hospital onset. Risk Factors: IVC = intravascular catheter. Sex: F = female; M = male;

^a According to stringent criteria proposed elsewhere:⁹ organism isolated >48 hours after admission to the hospital, history of previous MRSA isolation, hospitalization or surgery in the year before the positive MRSA culture, percutaneous lines or indwelling devices present at the time of culture or antibiotic use. Antibiotic use is presented in the next column.

^b All recurrences were due to MRSA with identical antimicrobial resistance phenotype, but no molecular analyses were done in these isolates.

^c These patients were considered cured, but the time could not be determined since they have returned to medical consultation many weeks or months after recovery.

^d There was no description of antimicrobials on medical chart and patient's prescriptions were not found.

^e This patient was discharged with high-dose SXT, but had not returned to medical consultation in a 10-month period of follow-up.

8. Considerações finais

A prevalência de infecções por CA-MRSA está aumentando devido ao seu alto potencial de virulência. A maioria das infecções ocasionadas por este microrganismo são infecções de pele e tecidos moles, na forma de abscessos, que podem ser tratados apenas com drenagem da lesão. As sulfas, como sulfametoxazol-trimetoprima, representam a classe de antibióticos mais indicada no tratamento de infecções cutâneas por CA-MRSA. As tetraciclina e clindamicina também podem ser utilizadas com sucesso, entretanto deve-se considerar a possibilidade de haver resistência induzida a lincosamina. As fluorquinolonas têm sido utilizadas com efetividade, mas a resistência a esta classe tem aumentado. O uso da vancomicina é amplamente utilizado como primeira opção em casos de infecção por CA-MRSA mais graves³⁴.

O aumento na prevalência de CA-MRSA está provocando mudanças no manejo de infecções clínicas potencialmente causadas por *S. aureus*. Métodos rápidos e confiáveis na detecção de MRSA são necessários para identificar prontamente pacientes e implementar medidas de precaução de contato assim como tratamento apropriado. Técnicas moleculares de genotipagem têm papel importante na avaliação epidemiológica e na compreensão da emergência e evolução das cepas de MRSA²⁵.

Em nosso estudo, revisou-se as características clínicas de um grupo de pacientes com isolados de *S. aureus* com SCCmecIV isolados na cidade de Porto Alegre, e descreveu-se a epidemiologia molecular destes isolados. Observou-se que cepas OSPC, geralmente comunitárias, causam infecções relacionadas a cuidados de saúde no Brasil, demonstrando que a epidemiologia molecular das infecções por MRSA está mudando. Sugere-se, então, que continuem sendo realizados estudos moleculares dos isolados de MRSA provenientes da

comunidade e do ambiente hospitalar em diferentes cidades do Brasil, com objetivo de desenhar o perfil das cepas de MRSA presentes no país e permitindo a correta escolha do tratamento das infecções por este microrganismo, diminuindo o risco de falha terapêutica.

Portanto, a contínua avaliação do perfil epidemiológico como medida de vigilância é fundamental em todas as regiões do mundo, com objetivo de permitir a escolha das medidas de prevenção e controle adequadas para o perfil descrito em cada região.

9. Anexos

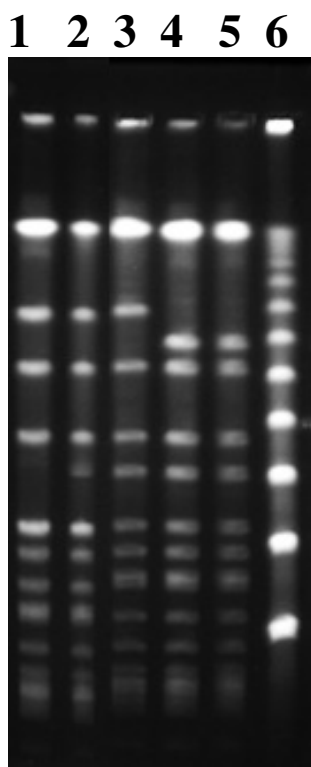


Figura 1. Representação dos padrões de PFGE dos isolados CC30. Linha 1: padrão A_4 (5diferenças do OSPC), linha 2: padrão A_3 (4 diferenças do OSPC), linha 3: padrão A_2 (2 diferenças do OSPC), linha 4: padrão A_1 (idêntico ao OSPC), linha 5: padrão PFGE do isolado OSPC, linha 6: marcador de peso molecular.

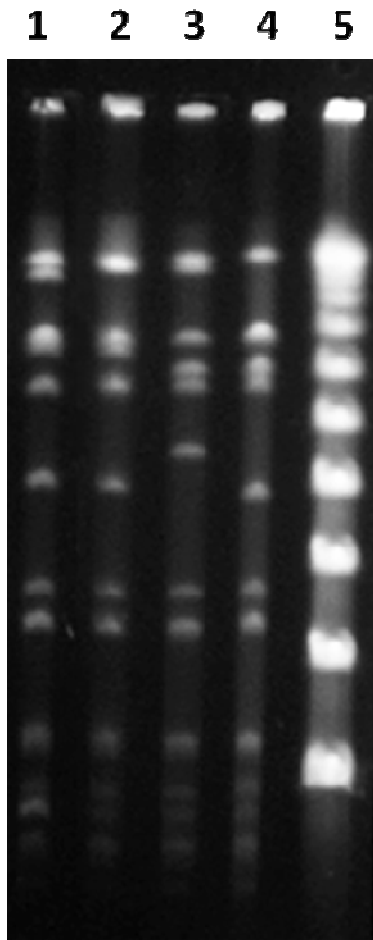


Figura 2. PFGE dos isolados CC5: linha 1, padrão B (4 – 6 diferenças do USA100 e 3 diferenças do USA800); linha 2, isolado representante do clone pediátrico proveniente do Rio de Janeiro (utilizado como padrão adicional); linha 3, protótipo USA100; linha 4, protótipo USA800; linha 5, marcador de peso molecular.