

1 **UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**
2 **FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**
3 **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

17 **CAROLINA RANGEL DE LIMA SANTOS**
18
19
20
21
22
23
24

25 Vigilância epidemiológica de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina
26 isolados de um hospital terciário público de Dourados/MS
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42

43 **Dourados - MS**
44 **2018**

CAROLINA RANGEL DE LIMA SANTOS

Vigilância epidemiológica de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina
isolados de um hospital terciário público de Dourados/MS

Área do CNPq: 40101096

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde
da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde

Área de concentração: Doenças Crônicas e Infecto-
Parasitárias

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Silvana Beutinger Marchioro

Dourados - MS
2018



UFGD

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO APRESENTADA POR CAROLINA RANGEL DE LIMA SANTOS, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO “DOENÇAS CRÔNICAS E INFECTO-PARASITÁRIAS”.

Aos trinta dias de outubro de dois mil e dezoito as 8h, em sessão pública, realizou-se na Sala de Videoconferência da Biblioteca do Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação intitulada “Vigilância epidemiológica de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina de um hospital terciário público de Dourados-MS ” apresentada pela mestranda CAROLINA RANGEL DE LIMA SANTOS, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Profa. Dra. Silvana Beutinger Marchioro/UFGD (presidente/orientador), Prof. Dr. Sebastião Martins de Souza Neto/UFGD (membro titular), Profa. Dra. Herinta Coeto Neitzke Abreu/UFGD-FCS (membro titular), Dra. Sara Santos Bernardes/UFGD-FCS (membro suplente). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer ao candidato e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após o candidato ter apresentado a sua Dissertação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido o candidato considerado APROVADO, fazendo *jus* ao título de MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os membros da banca abaixo assinados atestam que o Profa. Dra. Silvana Beutinger Marchioro participou de forma remota desta defesa de dissertação, considerando a candidata APROVADA conforme declaração anexa. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados, 30 de outubro de 2018.

Prof. Dr. Sebastião Martins de Souza Neto

Sebastião Martins de Souza Neto

Profa. Dra. Herintha Coeto Neitzke Abreu

Herintha Coeto Neitzke Abreu

Profa. Dra. Silvana Beutinger Marchioro

Silvana B. Marchioro

Participação Remota

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

ATA HOMOLOGADA EM: __/__/__, PELA PROPP/ UFGD.

Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa
Assinatura e Carimbo

94

AGRADECIMENTOS

95

96

97 Primeiramente a Deus, por me permitir momentos tão especiais e me manter de pé
98 frente a cada dificuldade me mostrando sempre o caminho certo a seguir. Aos meus pais
99 Edson e Salete que nunca mediram esforços para me dar a melhor criação possível. Por me
100 ensinarem a ser forte e por acreditarem sempre no meu potencial. A vocês sou eternamente
101 grata e devo todas as minhas vitórias. Ao meu irmão, Guilherme pela amizade,
102 companheirismo e carinho. E em especial ao meu esposo Alessandro por toda paciência,
103 carinho e principalmente pelos estímulos em sempre estar buscando aprimoramento para
104 minha carreira. Obrigada por acreditarem sempre em mim, são as pessoas mais importantes
105 no mundo pra mim. À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Silvana Beutinger Marchioro, muito
106 obrigada pela excelente orientação, pelos ensinamentos, paciência e amizade. Obrigada por
107 entender minhas limitações e me incentivar a superá-las. Muito obrigada por ter sido sempre
108 tão presente, por confiar em mim e por me proporcionar diversas oportunidades de
109 crescimento profissional.

110 A professora Simone Simionatto pela ajuda e apoio em todos os momentos
111 necessários. Obrigada por toda a atenção, por todos os ensinamentos e constantes conselhos
112 científicos.

113 Aos meus grandes amigos Kesia e Marcelo muito obrigada pelo apoio nos momentos
114 difíceis e principalmente pela amizade e risadas nesses anos de convívio. Vocês foram
115 essenciais nessa etapa da minha vida do começo ao fim. Podem ter certeza que eu amo vocês
116 mais que tereré.

117 Aos colegas do LPCS, Flora, Murilo, Isabela, Laisa, Gleici, Júlio, Nilson, Iara,
118 Andressa obrigada por toda ajuda, incentivo e sincera amizade. Por todos os momentos de
119 alegria que compartilhamos nesses anos. A Universidade Federal da Grande Dourados e ao
120 Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. A todos que de alguma forma
121 contribuíram para elaboração desse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

122

EPÍGRAFE

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146

Sem perceber você se tornou meu assunto favorito,

147

minha música predileta,

148

meu pensamento constante, meu avesso.

149

Sem perceber tem mais de você em mim do que eu mesma...

150

151

(Mamãe Carol)

152

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

153

154

155 Figura 1 – Microscopia eletrônica de varredura de *Staphylococcus aureus*.....12

156 Figura 2 – Modelo de como a *PVL* pode mediar a necrose tecidual.....16

157 Figura 3 – Representação da destruição enzimática do antimicrobiano.....18

158 Figura 4 – Representação da alteração do local de ação do antibiótico19

159 Figura 5 – Características genéticas dos elementos *SCCmec* I-XIII.....21

160

161

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

162		
163		
164	A	Adenina
165	Ab. Axilar	Abcesso axilar
166	ATCC	American Type Culture Collection
167	attB _{sc} : SCC _{mec}	Attachment site
168	BEC	Clone pandêmico brasileiro
169	<i>BlaZ</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> beta-lactamase gene
170	BHI	Brain Heart Infusion
171	<i>ccr</i>	<i>Cassete chromosome recombinases</i>
172	C	Citosina
173	CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina de origem comunitária
174	CC	Complexo clonal
175	CC	Centro cirúrgico
176	CCIH	Comissão de controle de infecção hospitalar
177	CDC	Centro de Prevenção Controle de Doenças, Estados Unidos
178	CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
179	CMI(s)	Concentração mínima inibitória
180	C°	Graus centígrados
181	DNA	Ácido desoxirribonucléico
182	dNTPS	Desoxirribonucleotídeos trifosfatados
183	Ebserh	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
184	EDTA	Ácido etilenodiamino tetracético
185	<i>femA</i>	Factor Essential for Methicillin resistance
186	Fer. Op.	Ferida operatória
187	G	Guanina
188	h	Horas
189	HA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina de origem hospitalar
190	H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
191	Hemo	Hemocultura
192	HU/UFGD	Hospital Universitário Federal da Grande Dourados
193	IS	Sequência de inserção
194	kb	Quilobase
195	kDa	Quilodalton

196	LPCS	Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde
197	L. perit.	Líquido peritoneal
198	M	Molar
199	MAT	Maternidade
200	<i>MecA</i>	Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
201	µg	Micrograma
202	mg	Miligrama
203	min	Minutos
204	mL	Mililitro
205	µL	Microlitro
206	MgCl ₂	Cloreto de magnésio
207	MLST	Multilocus sequence typing
208	MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
209	MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensível à meticilina
210	mM	Milimolar
211	NaCl	Cloreto de sódio
212	NNISS	National nosocomial infection surveillance system
213	<i>nuc</i>	Thermonuclease precursor
214	<i>orfX</i>	Sequencia aberta de leitura
215	P	Posto de internação
216	PAC	Pronto atendimento clínico
217	pb	Par de base
218	PBP	Proteína ligadora de penicilina
219	P. CAT	Ponta de cateter
220	PCR	Reação em cadeia da polimerase
221	PED	Pediatria
222	PFGE	Eletroforese de campo elétrico pulsado
223	PVL	Leucocidina de Panton-Valentine
224	REDCAP	Research Electronic Date Capture
225	SCoN	<i>Staphylococcus</i> coagulase-negativo
226	SCC <i>mec</i>	Cassete cromossômico <i>mec</i> de <i>Staphylococcus</i>
227	S	Segundo
228	SDS	Sodecil sulfato de sódio
229	Sec. Oro	Secreção oral

230	Sec. TQT	Secreção traqueal
231	<i>spa</i>	Sequência do gene da proteína A
232	SSSS	Síndrome estafilocócica da pele escaldada
233	ST	Sequence type
234	T	Timina
235	Taq	DNA polimerase termoestável
236	TBE	Tris – Borato – EDTA
237	TE	Tris – EDTA
238	Tnase	Thermonuclease
239	Tn	Transpósons
240	TSB	Caldo tripcaseína de soja
241	UFC	Unidade formadora de colônia
242	UI	Unidade intermediária
243	URO	Urocultura
244	UTI	Unidade de terapia intensiva
245	UFGD	Universidade Federal da Grande Dourados
246	V	Volts
247	v/v	volume por volume
248		
249		
250		
251		
252		

253 **Vigilância epidemiológica de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina**
254 **isolados de um hospital terciário público de Dourados/MS**

255

256

RESUMO

257

258 **Introdução:** *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) está constantemente asso-
259 ciado a perfis de multiresistenciae constituem uma das principais preocupações em infecções
260 relacionadas aos serviços de saúde. Foi realizado um estudo transversal entre agosto/2016 e
261 agosto/2017 para descrever as características clínicas e moleculares associadas às cepas de
262 MRSA isoladas de um hospital terciário localizado no centro-oeste do Brasil. **Métodos:** As
263 características clínicas associadas a infecções de corrente sanguínea por MRSA em neonatos
264 foram investigadas com uma análise de caso-controle envolvendo 51 pacientes. A identifica-
265 ção bacteriana foi realizada pelo sistema Phoenix™. A susceptibilidade antimicrobiana foi
266 determinada pela microdiluição em caldo. A presença de genes de resistencia a meticilina
267 (*mecA*, *femA*), a leucocidina de Panton-Valentine (*pvl*) codificada pelo gene *pvl* e a tipagem
268 de SCC*mec* foi avaliada por PCR e sequenciamento de DNA. **Resultados:** Um total de 30 ce-
269 pas de *S. aureus* resistentes à meticilina foram isoladas de 30 pacientes, sendo 23 delas
270 MRSA adquiridas no ambiente hospitalar (76,6%) e 7MRSA adquiridas na comunidade
271 (23,4%). A maioria dos pacientes incluídos no estudo eram neonatos (57%). A síndrome da
272 membrana hialina, a displasia broncopulmonar, a síndrome de aspiração de mecônio, a prema-
273 turidade, a hospitalização prolongada e o uso de dispositivos invasivos foram associados a in-
274 fecções de corrente sanguínea por MRSA em recém-nascidos. A amplificação por PCR e o se-
275 quenciamento mostraram que os genes *mecA* e *femA* foram responsáveis pela resistência à
276 meticilina. A análise molecular do SCC*mec* revelou que o SCC*mec* tipo IV foi o mais preva-
277 lente. A maioria das cepas positivas para *pvl* foram identificadas como *Staphylococcus aureus*
278 adquirida no ambiente hospitalar (HA-MRSA), indicando a diversificação bacteriana das ce-
279 pas HA-MRSA e *Staphylococcus aureus* adquirida na comunidade CA-MRSA. **Conclusão:**
280 este estudo mostrou que pacientes infectados / colonizados representam reservatórios para
281 transmissão horizontal, assim, medidas de controle de infecção são necessárias para prevenir a
282 disseminação de cepas resistentes a multi drogas (MDR) em instituições de saúde.

283

284 **Palavras-chave:** Resistência bacteriana; MRSA; Características clínicas.

285

286 **Epidemiological surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus***
287 **isolated from a public tertiary hospital in Dourados / MS**

288

289

ABSTRACT

290

291 **Background:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are frequently associated
292 with multidrug-resistance profiles and a major concern in infections health services. A cross-
293 sectional study was conducted between August/2016 and August/2017, to describe the clinical
294 and molecular characteristics associated MRSA strains isolated from a tertiary hospital
295 located in mid-western Brazil. **Methods:** Clinical characteristics associated with MRSA
296 bloodstream infections in neonates were investigate with a case control analysis involving 51
297 patients. Bacterial identification was performed by Phoenix™ system. Antimicrobial
298 susceptibility was determined by broth microdilution. The presence of methicilin-resistance
299 genes (*mecA*, *femA*), Panton-Valentine leukocidin encoding gene (*pvl*) and *SCCmec* typing
300 was evaluated by PCR and DNA sequencing. **Results:** A total of 30 methicilin-resistant *S.*
301 *aureus* strains were recovered from 30 patients, of which were identified as hospital acquired-
302 MRSA (76,6%) and community-acquired-MRSA (23,4%). The majority of the patients
303 included in the study were neonates (57%). Hyaline membrane syndrome, bronchopulmonary
304 dysplasia, meconium aspiration syndrome, prematurity, long-term hospitalization and use of
305 invasive devices were associated with MRSA bloodstream infections in neonates. PCR
306 amplification and sequencing showed that *mecA* and *femA* genes were responsible for
307 resistance to methicillin. Molecular analysis of *SCCmec* revealed that *SCCmec* type IV was the
308 most prevalent. Most *pvl*-positive strains were identified as hospital-acquired *Staphylococcus*
309 *aureus* (HA-MRSA), indicating bacterial diversification between HA-MRSA and acquired in
310 the community (CA-MRSA) lineages. **Conclusion:** this study showed that infected/colonized
311 patients represent reservoirs for horizontal transmission, thus infection control measures are
312 needed to prevent the spread of multidrug resistant strains (MDR) strains in healthcare
313 institutions.

314

315 **Keywords:** Bacterial resistance; MRSA; Clinical features.

316

317

318

SUMÁRIO

319		
320	1 INTRODUÇÃO	10
321	2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
322	2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	12
323	2.2 Fatores de virulência.....	13
324	2.2.1 Exotoxinas.....	14
325	2.2.2 Toxina da Síndrome do Choque Tóxico.....	15
326	2.2.3 Toxinas esfoliativas.....	15
327	2.2.4 Leucocidina Panton – Valentine (<i>pvl</i>).....	16
328	2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina- MRSA.....	17
329	2.3.1 Tipos de <i>SCCmec</i>	22
330	2.3.1 <i>SSCmec</i> tipo I.....	22
331	2.3.2 <i>SSCmec</i> tipo II.....	22
332	2.3.3 <i>SSCmec</i> tipo III.....	22
333	2.3.4 <i>SSCmec</i> tipo IV.....	23
334	2.3.5 <i>SSCmec</i> tipo V.....	23
335	2.3.6 Outros tipos de <i>SSCmec</i>	23
336	2.4 HA-MRSA/CA-MRSA.....	24
337	2.5 Epidemiologia do MRSA no mundo.....	26
338	2.6 Epidemiologia do MRSA no Brasil.....	27
339	2.6 Infecções relacionadas à assistência à saúde – IRAS	28
340	3 OBJETIVOS	30
341	3.1 Objetivo geral.....	30
342	3.2 Objetivos específicos.....	30
343	4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
344	5 APÊNDICE	40
345	5.1 PAPER –Epidemiological surveillance of meticillin resistance <i>Staphylococcus aureus</i>	
346	isolated in a terciary public hospital.....	41
347	6 CONCLUSÃO	58
348		
349		

350 1.INTRODUÇÃO

351 O *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) é um grave problema de
352 saúde pública por ser um dos principais envolvidos em casos de infecções hospitalares no
353 mundo. Atualmente não é mais um micro-organismo exclusivo do ambiente hospitalar (HA-
354 MRSA), sendo encontrado frequentemente em infecções oriundas da comunidade (CA-
355 MRSA) (UDO et al., 2017; STEFANI et al.,2012). A indicação de relatórios mostrando a
356 presença cada vez maior dessas cepas da comunidade substituindo cepas hospitalares tem
357 causado uma miscigenação entre os dois tipos de MRSA tornando cada vez mais complicado
358 a diferenciação entre esses HA-MRSA e CA-MRSA (ZUMA et al., 2017).

359 A proteína responsável por conferir resistência aos β -Lactâmicos é denominada
360 proteína ligadora de penicilina (PBP2a). A PBP2a é codificada pelo gene *mecA* que está
361 inserido no cassete cromossomal estafilocócico (SCC*mec*) (BOYE et al., 2007). Existem 13
362 tipos descritos de SCC*mec*, porém apenas os tipos de I-V são globalmente distribuídos e
363 utilizados na classificação genética do MRSA sendo que os CA-MRSA estão associadas aos
364 SCC*mec* tipos IV e V e os HA-MRSA aos tipos I, II e II. Essa classificação é realizada
365 através da detecção molecular de regiões variáveis existentes no SCC*mec*, além da detecção
366 de genes para os tipos IV e V como o gene codificador da leucocidina Panton-valentine (*pvl*)
367 que é um fator de virulência associados principalmente a infecções de pele (SAN et al., 2017).

368 O crescimento da resistência antimicrobiana em bactérias responsáveis por infecções
369 hospitalares é um relevante desafio para a saúde pública (POIREL et al, 2007). A alta
370 frequência na resistência bacteriana frente à grande maioria dos antimicrobianos a nível
371 mundial torna-se preocupante principalmente em pacientes institucionalizados.
372 Hospitalizações prévias, diálise, uso de dispositivos invasivos e procedimentos cirúrgicos são
373 observados como fatores de riscos para esses processos infecciosos (OLIVEIRA et al., 2002).

374 A compreensão das diferentes cepas de *S. aureus* no ambiente intra-hospitalar e na
375 comunidade é de extrema importância em relação a saúde pública que se evidencia pelo
376 contínuo desenvolvimento do MRSA. Nos últimos anos houve uma acentuada verificação e
377 estudos sobre esse micro-organismo. A caracterização molecular permite estudos de perfis
378 epidemiológicos e origem clonal determinando um importante avanço no controle de *S.*
379 *aureus* (AGIUS et al., 2007). Diversas técnicas são utilizadas para caracterização dos MRSA
380 entre elas a eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), a tipagem de sequência
381 multilocus (MLST) e a tipagem por SCC*mec* (FATHOLAHZADEH et al., 2008).No

382 presente estudo realizamos a caracterização molecular, através das técnicas de reação em
383 cadeia de polimerase (PCR) para tipagem de *SCCmec* e *pvl*, distribuição, perfil
384 epidemiológico das amostras de MRSA de todos os setores hospitalares.

385 Através do presente estudo, espera-se gerar conhecimento sobre a epidemiologia
386 molecular do MRSA, atualizando a vigilância epidemiológica, oferecendo informações
387 relevantes para a abordagem clínica adequada ao paciente e visando contribuir com as ações
388 em vigilância à saúde, medidas preventivas adequadas, bem como, reduzir gastos com
389 internação de pacientes pelo Sistema Único de Saúde.

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

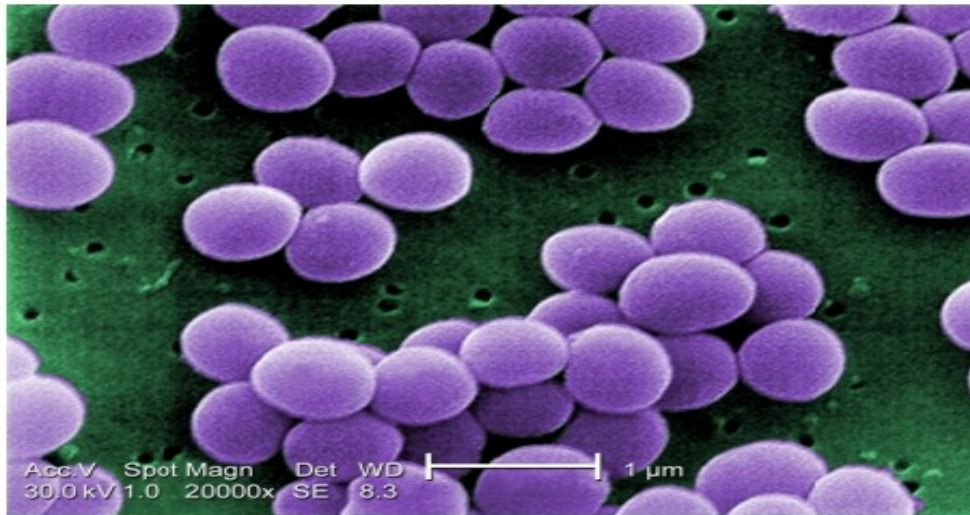
414

415

416 2. REVISÃO DE LITERATURA

417 2.1. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

418 O *S. aureus* são cocos gram positivos e catalase positiva, sua apresentação se dá
419 isoladamente, aos pares ou em formato de cachos de uva quando visualizados a microscopia
420 de luz, isto está relacionado a sua divisão celular que acontece em três planos perpendiculares.
421 São arredondados, imóveis, esféricos (Fig. 1) aeróbios em grande parte podendo ser
422 anaeróbios facultativos. Se diferencia das demais espécies estafilocócicas devido a presença
423 da pigmentação dourada em suas colônias e resultado positivo para o teste de coagulase na
424 fermentação (BANNERMAN, 2006).



425

426 Figura 1: Microscopia eletrônica de varredura de *Staphylococcus aureus*. Aumento de 20 mil
427 vezes e colorido por ferramenta de imagem. Fonte: Centers for Disease Control and
428 Prevention's Public Health image Library.

429

430 O *S. aureus* tem capacidade de sobreviver em ambientes inanimados como cateteres e
431 alimentos por longos períodos e em meios intracelulares (STEFANI; GOGLIO, 2010). Esse
432 patógeno se aloja em várias partes do corpo humano, incluindo a nasofaringe (EDWARDS;
433 MASSEY; CLARKE, 2012). A nasofaringe é a localização de primeira escolha para
434 colonização desse micro-organismo (BARROSO; MELIÇO-SILVESTRE; TAVEIRA, 2014).
435 O processo de colonização se dá pela presença do micro-organismo no hospedeiro, sem
436 manifestação clínica ou imunológica (CHEN et al., 2011). Os seres humanos são colonizados
437 em pele e mucosas naturalmente por *S. aureus*, o que comumente resulta na integração do
438 micro-organismo na microbiota do hospedeiro, tornando-se reservatórios. A transmissão do *S.*
439 *aureus* acontece no contato direto com o indivíduo portador do micro-organismo, tendo um

440 potencial aumento em pacientes hospitalizados e profissionais institucionalizados (SASAKI et
441 al., 2011).

442 Pode se manifestar através de vários tipos de infecções, podendo acometer indivíduos
443 saudáveis, porém sua manifestação ocorre especialmente em pacientes debilitados
444 (HASSOUN; LINDEN; FRIEDMAN, 2017). As principais manifestações causadas por *S.*
445 *aureus* são as infecções por intoxicação alimentar, bacteremia, síndrome do choque tóxico,
446 síndrome da pele escaldada, pneumonias e principalmente infecções de tecidos moles e pele
447 (OSTOJIC; HUKIC, 2015).

448 Dentre os micro-organismos, o *S. aureus* é um dos patógenos que mais se manifesta no
449 desenvolvimento de resistência antimicrobiana nas infecções relacionadas à assistência à
450 saúde (IRAS), principalmente aquelas relacionadas a infecções de sítio cirúrgico, pneumonias,
451 endocardite e bacteremias (GRUNDMANN et al., 2010).

452 Estudos demonstram que além do Brasil, demais países e continentes relatam alta
453 incidência nos episódios de IRAS acometidos por *S. aureus*, como pode ser observado em um
454 estudo realizado nos Estados Unidos da América (EUA), onde foi analisada a prevalência de
455 *S. aureus* em 400 pacientes hospitalizados em uma instituição hospitalar em OHIO,
456 confirmando 25% dos relatos investigados (KAPOOR et al., 2014). Em um estudo semelhante
457 em Taiwan observou-se 39% dos casos de infecções de pele e tecidos moles (CHOU et al.,
458 2015). No Líbano, o *S. aureus* foi responsável de 12 a 65% pelas infecções de sítios cirúrgicos
459 (CHAHOUUD et al., 2014). Na França, evidenciou-se o *S. aureus* como principal micro-
460 organismo relacionado aos casos de bacteremia, totalizando 18% da análise (BONNAL et al.,
461 2015).

462

463 **2.2. Fatores de virulência**

464

465 Para se estabelecer um processo infeccioso, o *S. aureus* deve se aderir a tecidos ou
466 dispositivos proteicos como próteses, através de várias proteínas de superfície identificadas
467 como moléculas adesivas da matriz. Quando ocorre a adesão, mecanismos imunológicos dos
468 hospedeiros são ativados e então o *S. aureus* utiliza recursos na tentativa de escapar desses
469 mecanismos, facilitando o aparecimento da infecção. Um dos exemplos é a formação de
470 biofilme, onde coleções de polímeros produzidos pelo micro-organismo conferem proteção
471 contra respostas imunológicas e ação dos antimicrobianos (CORREAL et al., 2013).

472 O potencial de virulência nos isolados de *S. aureus* é caracterizada pela presença ou
473 ausência de genes de fatores de virulência, como os que codificam enterotoxinas

474 estafilocócicas, leucocidinas, esfoliativas, hemolisinas e outras exotoxinas, toxinas da
475 síndrome do choque tóxico 1(*TSST-1*) e alelos do gene acessório regulador (*agr*) (SPANU et
476 al., 2012). Em cada cepa de *S. aureus* contém uma combinação de proteínas de superfície e
477 proteínas reguladoras, que são denominados os complexos clonais. Com isso pode-se observar
478 que todas as cepas possuem uma ampla variedade de elementos genéticos móveis que
479 codificam genes de resistência e virulência, o que indica constante transferência horizontal
480 (SUNG; LLOYD; LINDSAY, 2008).

481 Em relação a ampla variedade de fatores de virulência nas cepas de *S. aureus*, torna-se
482 muito laboriosa a definição de um fator de virulência predominante, isso confere ao *S. aureus*
483 uma multifuncionalidade característica em manifestar diferentes tipos de patologias, sendo
484 destaque em estudos de epidemiologia relacionados a assistência em saúde (MONTANARO
485 et al., 2011). Além disso, os *S. aureus* possuem também enzimas como coagulase, catalase,
486 hialuronidase, fibrinolisinases, lipases, nucleases e penicilinasases fatores de virulência
487 contribuintes para a instalação, desenvolvimento e manutenção no hospedeiro (SANTOS et
488 al., 2007a; Lowy, 1998).

489 Diante disso a pesquisa na disposição dos fatores de virulência de *S. aureus* relata
490 conhecimentos importantes para a determinação de estratégias positivas no controle de
491 infecções (HWANG et al., 2010). Os produtos do gene ligados a especificidade do hospedeiro
492 podem se tornar objetivos diretos para agentes terapêuticos pretendendo a prevenção no
493 carreamento e infecções em animais ou humanos, diminuindo morbidade e letalidade (SUNG;
494 LLOYD; LINDSAY, 2008).

495

496 **2.2.1. Exotoxinas**

497

498 As funções mais importantes das exotoxinas são facilitar aderência do micro-
499 organismo ao tecido lesionado, a matriz tecidual ou à superfície das células do hospedeiro;
500 auxiliar na destruição tecidual e a propagação do micro-organismo; viabilizar a evasão de
501 anticorpos e respostas imunes mediadas pelo sistema complemento, principalmente o trabalho
502 dos fagócitos promovendo a lise da célula do hospedeiro, ainda ocorre a inibição da resposta
503 imunológica diante dos *S. aureus*, facilitando a patogênese (GRUMANN; NÜBEL;
504 BRÖKER, 2014).

505

506

507

508

509 **2.2.2. Toxina da Síndrome do Choque Tóxico**

510

511 A Toxina da Síndrome do Choque Tóxico-1 (TSST-1) é caracterizada como a
512 principal causadora de síndrome do choque tóxico (TSS), é manifestada pelos quadros de
513 febre, hipotensão, congestão de múltiplos órgãos e choque em humanos (LERICHE; BLACK;
514 FLEMING, 2012). A toxina possui propriedades biológicas em comum com outras
515 exotoxinas pirogênicas, como a competência de iniciar febre, de aumentar o choque
516 endotóxico, intensificar a disseminação não específica das células T, e em induzir a liberação
517 de IL-1 e TNF- α (TAKEUCHI et al., 1998).

518 O Center for Disease Control and Prevention (CDC), nos Estados Unidos, estabeleceu
519 cinco critérios para caracterização e a precisão nos casos de TSS em um paciente, sendo caso
520 confirmado o que se enquadra nos cinco critérios, e provável caso o que se enquadra em
521 quatro critérios. Os critérios são definidos por febre acima de 38,9°C, eritema macular difuso,
522 descamação após uma a duas semanas do aparecimento do eritema, hipotensão, e
523 comprometimento múltiplo dos órgãos (CENTER FOR DISEASE CONTROL, 2011). A
524 TSST-1 é codificada pelo gene *tst* pertencente ao cromossomo bacteriano de 15,2 kb
525 denominado como ilha de patogenicidade 1 (DINGES; ORWIN; SCHLIEVERT, 2000).

526

527 **2.2.3. Toxinas esfoliativas**

528

529 Os mecanismos de ação das toxinas esfoliativas não são bem determinados, porem
530 acredita-se que o modo de ação da toxina foi desenvolvido juntamente com sua atividade
531 proteolítica. De acordo com outras toxinas estafilocócicas, foi sugerido que as toxinas
532 esfoliativas operassem como superantígenos, no entanto as respostas iniciais foram
533 incoerentes (VAISHNANI, 2009). Devido as lesões da síndrome estafilocócica da pele
534 escaldada (SSSS) não afirmarem evidências de solicitação de células, acredita-se que a
535 superantigenicidade das toxinas esfoliativas não está associada patogenicidade da doença,
536 uma vez que é sugerido que a atividade proteolítica não depende da atividade mitogênica.
537 Diante disso, a atividade proteolítica configura-se responsável pela exfoliação da pele na
538 SSSS, portanto o funcionamento mitogênico não está ligado com os sinais da doença,
539 podendo ter características fisiológicas ou condições particulares de experimentos
540 (BUKOWSKI; WLADYKA; DUBIN, 2010).

541

542

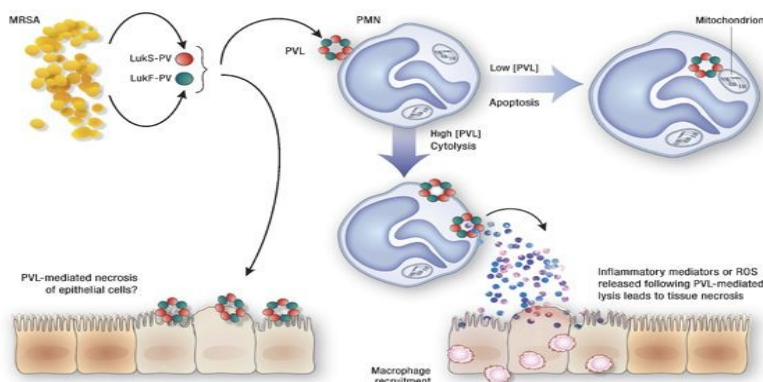
543 **2.2.4. Leucocidina Panton-Valentine (pvl)**

544

545 As leucotoxinas fazem parte de uma família de proteínas que são classificadas como
 546 formadoras de poros, são proteínas com peso molecular entre 32 e 35 kDa e instituídas por
 547 duas classes de proteínas, a classe S e a classe F, ambas codificadas por genes do núcleo do
 548 genoma, o core-genoma ou por fagos, que podem ser adquiridos por transferência horizontal.
 549 A subunidade S funciona como ligante à célula do hospedeiro, iniciando a sua ligação a classe
 550 F, ajudando na realização de ligações hexaédricas ou octaédricas, estimulando ações
 551 biológicas como a formação de poros (YOONG; TORRES, 2013).

552 A ligação da leucocidina à célula alvo provocam a formação de canais de cálcio e de
 553 poros transmembrana que são permeáveis à íons monovalentes, resultando na eliminação
 554 celular (BARRIO; RAINARD; PRÉVOST, 2006). Foram definidas em cinco classes das
 555 subunidades F (*HlgB*, *LukF-PV*, *LukD*, *LukF'-PV* e *LukG*) e seis classes de subunidades S
 556 (*HlgA*, *HlgC*, *LukSPV*, *LukE*, *LukM* e *LukH*) (GRUMANN; NÜBEL; BRÖKER, 2014). Estão
 557 associadas à lise celular da linhagem mielóide (monócitos, macrófagos e neutrófilos), e
 558 também tem ação citotóxica em células como eritrócitos, trombócitos e linfócitos, tendo
 559 possível responsabilidade na interferência da defesa imunológica. São toxinas de extrema
 560 importância para a evasão de *S. aureus* ao sistema imunológico (Fig 2). Além do mais,
 561 leucotoxinas são habilitadas a estimulação dos fagócitos a liberação de inúmeros mediadores
 562 inflamatórios resultando em sua degranulação (DUMONT et al., 2011; SPAAN et al., 2013).

563



564

565 Figura 2. Modelo de como a PVL pode mediar a necrose tecidual. Os dois componentes de PVL, *LukS-PV* e
 566 *LukF-PV* são secretados por *S. aureus* antes de se reunirem em um heptâmero formador de poros nas membranas
 567 dos leucócitos polimorfonucleados (PMN). Concentrações elevadas de PVL causam lise de PMN, enquanto
 568 concentrações baixas medeiam uma nova via de apoptose de PMN por ligação direta a membranas
 569 mitocondriais. Necrose tecidual pode resultar da liberação de espécies reativas de oxigênio de PMNs lisados.
 570 Alternativamente, a liberação do conteúdo granular dos PMNs lisados poderia desencadear uma resposta
 571 inflamatória, resultando eventualmente em necrose tecidual (GENESTIER et al., 2005).

572

573 Em relação a sua distribuição epidemiológica apresentam ligação com a patologia
574 clínica em humanos. As amostras isoladas de *S. aureus* produtores de *pvl* estão ligadas com os
575 quadros de piodermites e pneumonias necrosantes (HANRATTY, et al., 2015). A leucocidina
576 *LukE/D* foi encontrada em amostras de pacientes com diarreia, mesmo após tratamento
577 antimicrobiano. Já os genes *LukM/LukF- PV* foram relatados em isolados de mastite de
578 ruminantes (BARRIO; RAINARD; PRÉVOST, 2006).

579 A *pvl* (*PVL/lukF-PV + lukS-PV*) tem se apresentado recorrentes em infecções agudas e
580 crônicas de pele e de tecidos moles causadas por *S. aureus*, abscessos e furunculoses,
581 caracterizadas pelo aparecimento da patologia causadas pelo micro-organismo fora do âmbito
582 hospitalar, também se apresenta envolvida nos casos de pneumonia necrosante
583 (SHALLCROSS et al., 2013). É responsável pela eliminação de leucócitos e necrose tecidual
584 (ARGUDÍN; MENDOZA; RODICIO, 2010).

585 Essa relação entre *pvl* e MRSA tem sido mais extensivamente demonstrada em países
586 como EUA e Japão, onde esse patógeno parece ser endêmico (MAEDA et al., 2012; KONO et
587 al., 2013; YAMAGUCHI et al., 2015). No Brasil alguns estudos têm falhado ao demonstrar
588 tal correlação e a *pvl* tem sido encontrada de forma inconsistente entre cepas MRSA e *S.*
589 *aureus* susceptível a metilina (MSSA) associadas a infecções nosocomiais ou de origem
590 comunitária (BRUST et al., 2013; BONESSO et al., 2014).

591

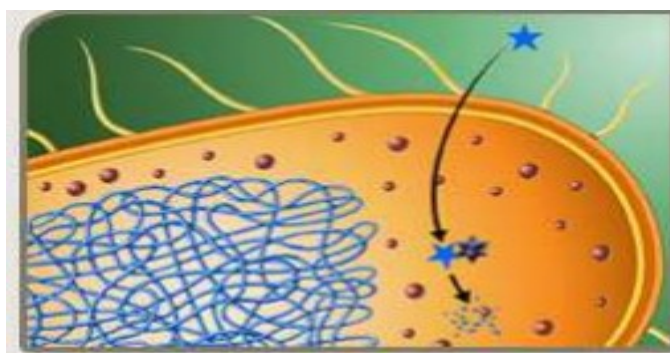
592 **2.3. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina- MRSA**

593

594 Em 2004, o genoma do *S. aureus* foi completamente sequenciado. Foram realizadas
595 análises de nove cepas sensíveis e resistentes, de origem animal, humana e laboratorial, onde
596 pode ser observado um alto índice de genes conservados. Existem demais genes que fazem
597 parte de um genoma acessório, compostos por ilhas genômicas de virulência, transposons e
598 plasmídeos. Grande parte dos genes de resistência a antimicrobianos são transferidos através
599 de plasmídeos, elementos genéticos móveis ou elementos de inserção que estão inseridos em
600 todos os organismos vivos e desempenham a função na organização genômica e na sua
601 própria mobilidade. Acredita-se que a alta capacidade de adaptação do genoma em diferentes
602 ambientes e hospedeiros, mecanismos de resistência aos antimicrobianos e sua
603 patogenicidade, são resultados da presença desses elementos. *S. aureus* apresentam
604 importante patogenicidade que se manifesta devido a diversos fatores de virulência que
605 facilitam o processo de fixação, colonização, ligação célula-célula e danos teciduais (FENG et
606 al., 2008).

607 A resistência bacteriana tem se tornado uma complicada e grave desordem de saúde
608 pública, relacionada a elevada morbi-mortalidade em ambientes hospitalares.
609 (WORTHINGTON; MELANDER, 2013). Nos anos 40 a penicilina, um antimicrobiano β -
610 lactâmico, foi introduzida definitivamente para fins terapêuticos, viabilizando o tratamento
611 em pacientes com infecção estafilocócica (WORTHINGTON; MELANDER, 2013).
612 Rapidamente o micro-organismo desenvolveu resistência a essa droga e em 1942 foi isolado o
613 primeiro *S. aureus* resistente à penicilina de origem hospitalar, logo depois na comunidade
614 (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2008a). A resistência à penicilina se desenvolve
615 codificada pela expressão do gene *blaZ*, produtor de uma enzima chamada β -lactamase, que
616 atua hidrolisando o anel β -lactâmico do antimicrobiano (Fig.3) (LOWY, 2003).

617



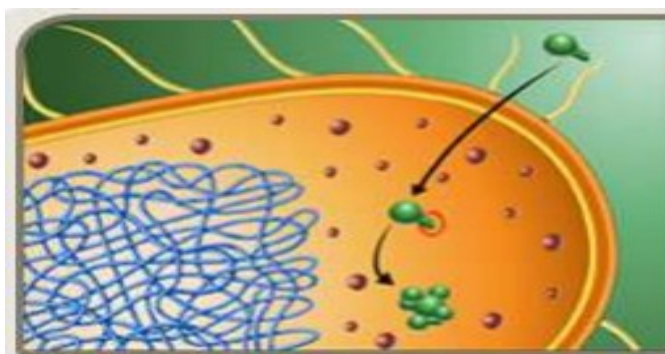
618

619 Figura 3– Representação da destruição enzimática do antimicrobiano (BRASIL, 2007).

620

621 No ano de 1959, teve início da utilização da meticilina, um antimicrobiano β -
622 lactâmico semissintético que apresentava resistência à ação das enzimas β -lactamases. Logo
623 em seguida, em 1960 teve o aparecimento do primeiro caso de MRSA em uma instituição
624 hospitalar no Reino Unido, relacionada à expressão do gene *mecA* (DEURENBERG;
625 STOBBERINGH, 2008b; FRAIMOW; TSIGRELIS, 2011). Os MRSA se destacam pelo
626 importante índice e nocividade diante das patologias que podem desenvolver tanto no
627 ambiente hospitalar como na própria comunidade (FIGUEIREDO; FERREIRA, 2014). O
628 MRSA surgiu após adquirir um elemento genético móvel chamado cassete cromossômico
629 estafilocócico (*SCCmec*) responsável pelo transporte do gene de resistência β -lactamase
630 *mecA*, o qual representa o maior fator de resistência do MRSA (KARUMI SR, M.;
631 YOUSEFI, 2011). A gravidade e disseminação de MRSA agregando genes multiresistentes
632 limitam as opções de tratamento para infecções estafilocócicas, piorando os resultados
633 clínicos (ELLINGTON et al., 2009; CHU et al., 2016).

634 Os antimicrobianos β -lactâmicos interferem diretamente na parede celular da bactéria,
 635 unindo-se às proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), que são enzimas transpeptidases
 636 acopladas no citoplasma, alterando a estrutura da parede celular e impedindo a síntese de
 637 peptídeoglicano (Fig. 4). O gene *mecA* codifica ao *S. aureus* resistência à meticilina e aos
 638 antimicrobianos β -lactâmicos por baixa afinidade devido expressão de uma PBP (STEFANI
 639 et al., 2012; WORTHINGTON; MELANDER, 2013; CASTANHEIRA, 2013).
 640



641

642

Figura 4- Representação da alteração do local de ação do antibiótico. (BRASIL, 2007).

643

644 O SCC*mec* é um elemento móvel genético inserido em um amplo fragmento de DNA
 645 e é codificado pelo gene *mecA* e *mecC*, já o gene *mecB* foi observado em um plasmídeo
 646 (BECKER et al, 2018). O SCC*mec* se introduz em uma área específica determinada (*attBsc*)
 647 na região 3' da *orfX* do genoma do *S. aureus* (MALACHOWA; DELEO, 2010). A
 648 composição do SCC*mec* é feita pelo complexo *mec*, o complexo *ccr*, regiões de junção (J),
 649 fatores de resistência e de virulência. Esses fatores, se presentes, são ligados na região J do
 650 cassete (TURLEJ; HRYNIEWICZ; EMPEL, 2011). O complexo *mec* é composto pela
 651 sequência de inserção (IS431), pelo gene *mecA* e seus genes reguladores *mecI* e *mecR1*. O
 652 *mecI* codifica uma proteína repressora que atua na transcrição de *mecA* e o *mecR1* codifica
 653 uma proteína transmembrana marcadora de β -lactâmicos, induzindo a transcrição do gene
 654 (PETINAKI et al., 2001). Sem o tratamento com o antimicrobiano, a proteína *mecI* liga-se ao
 655 gene *mecA*, inativando sua transcrição, mas quando a célula se liga com o β - lactâmico, a
 656 proteína *mecR1* é aglomerada, o citoplasma da proteína ativa-se e se aglomera com o *mecI*,
 657 ocorrendo a transcrição do *mecA* e expressão da PBP2a (DEURENBERG; STOBBERINGH,
 658 2008a). O complexo *ccr* é composto pelos genes *ccr*, responsáveis pela codificação de
 659 recombinases, que funciona introduzindo ou retirando o SCC*mec* no genoma da bactéria
 660 (HANSEN; KJELDEN; ERICSON SOLLID, 2004). O SCC*mec* é composto também por

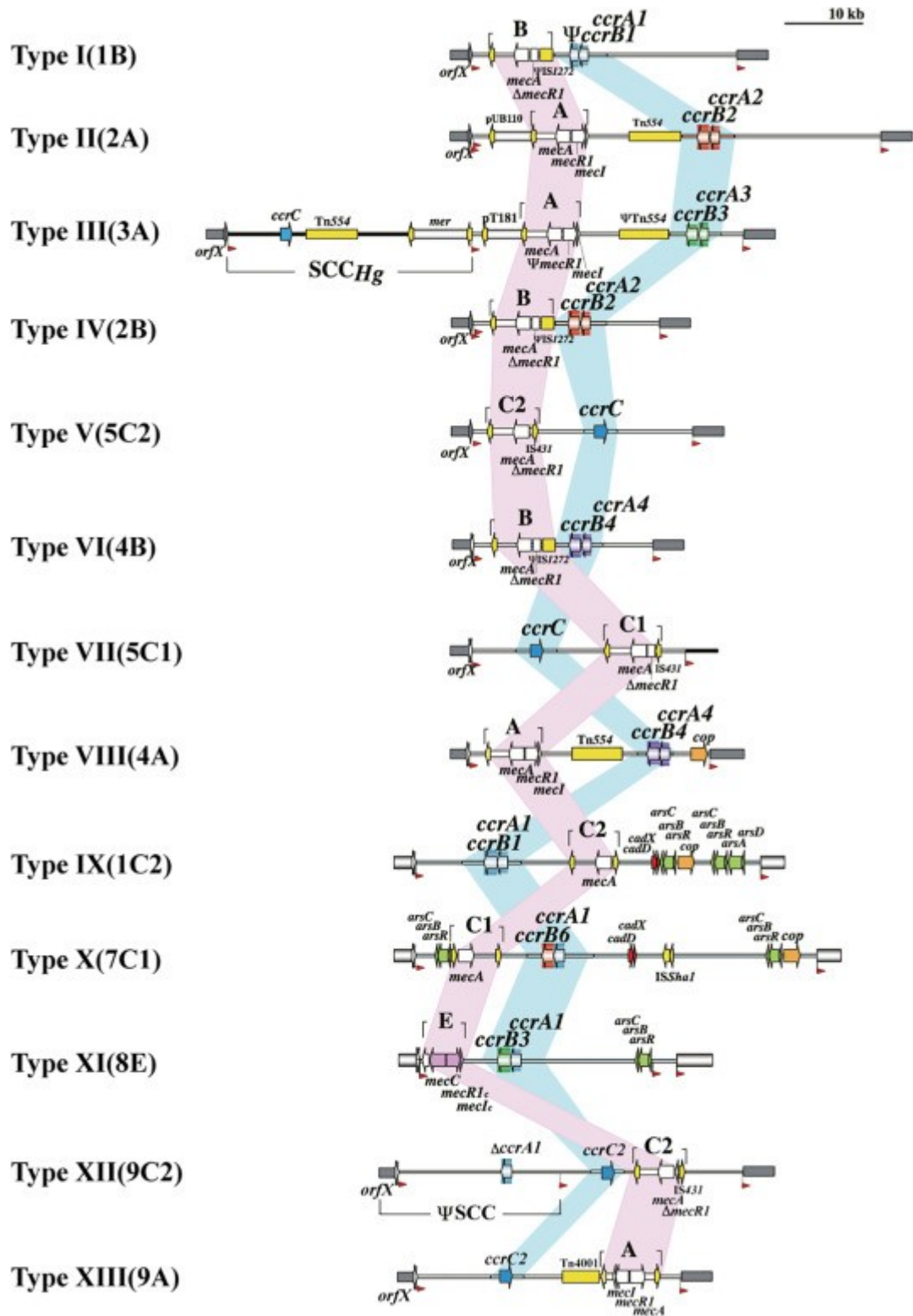
661 plasmídeos e transposons que usualmente apresentam genes de resistência adicionais a outras
662 classes de antimicrobianos (RAY; BOUNDY; ARCHER, 2016).

663 Até o momento foram identificados 13 tipos do SCC*mec* (Fig. 5) sendo classificados
664 do tipo I ao XIII e são diferenciados de acordo com a composição dos complexos de genes *ccr*
665 e genes *mec* introduzidos no cassete, todos os SCC*mec* contêm o gene *mecA*, com exceção as
666 cepas do SCC*mec* tipo XI que abrigam o gene *mecC*, também conhecido como *mecA*
667 LGA251 (PETERSDORF et al, 2015; LIU et al, 2016; LAKHUNDI, 2018).

668

669

670



671
672

673 Figura 5. Características genéticas dos elementos SCCmec I-XIII. As estruturas globais dos 13 tipos SCCmec
 674 reconhecidos por IWG-SCC são ilustradas com base nas seguintes seqüências nucleotídicas (tipo SCCmec), ID
 675 de isolado (n ° de inclusão do GenBank): tipo I, NCTC10442 (AB033763); tipo II, N315 (D86934); tipo III,
 676 85/2082 (AB037671); tipo IV, CA05 (AB063172); tipo V, WIS [WBG8318] (AB121219); tipo VI, HDE288
 677 (AF411935); tipo VII, JCSC6082 (AB373032), tipo VIII, C10682 (FJ390057); tipo IX, JCSC6943 (AB505628);
 678 tipo X, JCSC6945 (AB505630); tipo XI, LGA251 (FR821779.1); tipo XII, BA01611 (KR187111) e tipo XIII,
 679 55-99-44 (MG674089). Os complexos do gene *mec* e *ccr* são sombreados rosa e azul, respectivamente.

680 Sequências de inserção e transposons identificados estão em amarelo. Genes relacionados à resistência a metais
681 pesados e plasmídeos integrados localizados nas regiões J também são indicados. A ilustração é adaptada de
682 Hiramatsu e outros (Hiramatsu et al., 2013).

683

684 **2.3.1. Tipos de SCCmec**

685

686 2.3.1.1. SSCmec tipo I

687

688 O SCCmec tipo I que se apresenta no tamanho de 34,3 kb, se manifestou
689 primeiramente no Reino Unido em 1960 e se disseminou universalmente naquela década. Sua
690 estrutura é composta pelo gene *mecA*, que é o único determinante que lhe confere resistência
691 (ZETOLA et al., 2005). Com a sua denominação de clone arcaico, foi a cepa de maior sucesso
692 e mais pesquisada entre todas as cepas de MRSA. O clone ibérico também bastante
693 conhecido, carrega o SCCmec tipo IA e é uma variante do clone arcaico. (CHAMBERS;
694 DELEO, 2009).

695

696 2.3.1.2. SCCmec tipo II

697

698 Primeiramente o SCCmec tipo II foi encontrado no Japão no ano de 1982 e
699 denominado como clone New York/Japão. O clone EMRSA-16 também carrega o SSCmec
700 tipo II (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). O SCCmec tipo II contém várias
701 características de resistência aos antimicrobianos não beta lactâmicos e confere o perfil de
702 multirresistência as cepas que são encontradas em MRSA hospitalares (ZETOLA et al.,
703 2005), isso se dá pela presença de genes de resistência adicionais que são inseridos em
704 plasmídeos como o pUB110, pl258 e pt181 e em transposons como o Tn554
705 (DEURENBERG, 2007).

706

707 2.3.1.3. SCCmec tipo III

708

709 A primeira cepa carreadora de SCCmec tipo III (66,9kb) foi encontrada na Nova
710 Zelândia em 1985. Semelhante ao SCCmec tipo II, esse cassete apresenta perfil de
711 multirresistência na terapia antiestafilocócica e é típico de cepas hospitalares.
712 (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Acredita-se que devido ao seu grande tamanho, a
713 transferência horizontal no SCCmec tipo II e III ocorra com maior dificuldade comparada ao
714 SCCmec tipo IV. A disseminação dessas cepas se dá especialmente pela pressão seletiva aos

715 antimicrobianos e ao uso prolongado da droga através da transferência vertical (ZETOLA et
716 al, 2005). Em instituições hospitalares brasileiras o clone Endêmico Brasileiro (BEC) que
717 carrega o SCC*mec* tipo III, é o mais prevalente, bem como na Europa e na América do Sul
718 (CAMPOS et al, 2012).

719

720 2.3.1.4. SCC*mec* tipo IV

721

722 Uma ampla variedade de clones MRSA carregando SCC*mec* tipo IV disseminados pelo
723 mundo, foram descritos desde o ano de 1990 (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009),
724 entre eles o clone EMRSA-15, o MRSA Berlin, o clone pediátrico entre outros (MIMICA,
725 2013). São cepas susceptíveis a vários antimicrobianos, especialmente os beta-lactâmicos,
726 apresentando grande semelhança com as cepas MSSA e o único gene de resistência carregado
727 pelo cassete é o *mecA* (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Devido a inferioridade do
728 seu tamanho (20,9 a 24,3 kb) quando comparado ao SCC*mec* Tipo II e III, apresentam maior
729 mobilidade e vantagem evolutiva na pressão aos antimicrobianos no ambiente hospitalar e de
730 grande rapidez de disseminação na comunidade (COHEN, 2007).

731

732 2.3.1.5. SCC*mec* tipo V

733

734 A primeira cepa carreadora do SCC*mec* tipo V foi manifestada em 2004 na Austrália
735 (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2009). Seu perfil de resistência confere exclusividade
736 aos antimicrobianos β -lactâmicos (DEURENBERG, 2007) e como o SCC*mec* tipo IV estão
737 mais presentes em infecções da comunidade como infecções de pele e tecidos moles
738 (CHAMBERS; DELEO, 2009).

739

740 2.3.1.6. Outros tipos de SCC*mec*

741

742 Primeiramente o SCC*mec* tipo VI foi encontrado em Portugal (OLIVEIRA;
743 MILHEIRIÇO; DE LENCASTRE, 2006), o SCC*mec* tipo VII na Suécia (DEURENBERG;
744 STOBBERINGH, 2009). Os SCC*mec* tipo IX e X foram descritos apresentando resistência a
745 metais (LI et al., 2011). O SCC*mec* tipo XI foi recentemente caracterizado na Irlanda
746 (SHORE et al., 2011).

747

748

749

750 **2.4. MRSA hospitalar (HA-MRSA) e MRSA da comunidade (CA-MRSA)**

751

752 Os MRSA originalmente se manifestaram nos ambientes hospitalares, mas na década
753 de 90 pode ser observado, pacientes saudáveis desenvolvendo infecções por MRSA na
754 comunidade. Diante desses acontecimentos foi-se estabelecida uma classificação do patógeno
755 e sua denominação se apresentou como MRSA de origem hospitalar (HA-MRSA) e MRSA de
756 origem da comunidade (CA-MRSA) (MEJÍA; ZURITA; GUZMÁN-BLANCO, 2010;
757 STEFANI et al., 2012). Os SCCmec tipo I, II e III, estão principalmente introduzidos nas
758 cepas de HA-MRSA e os SCCmec tipo IV e V nas cepas CA-MRSA (MITSUMOTO-
759 KASEIDA et al., 2017). Em 2000, 25 estudos demonstraram cepas HA-MRSA associadas à
760 multirresistência e relacionadas aos SCCmec tipos I, II, III, VI, VIII, IX, X e XI, enquanto as
761 cepas de CA-MRSA associadas aos SCCmec tipos IV, V e VII, com susceptibilidade grande
762 parte dos antimicrobianos não β -lactâmicos (Ito et al., 2009).

763

764 Os SCCmec do tipo I, II, III comparativamente mais antigos estão restritos a cepas de
765 MRSA envolvidas em infecções associadas à assistência à saúde (HA-MRSA). Os clones
766 típicos de MRSA HA-MRSA são denominados ST5 (CC5), ST239 (CC8), ST22 (CC22) e
767 ST36 (CC30). Todavia, raramente são causadores de infecções em indivíduos saudáveis, sem
768 históricos de hospitalização atual ou prévia nos últimos 6 a 12 meses antes da infecção. Uma
769 consequência relacionada a aquisição de resistência antimicrobiana é a redução da aptidão
770 competitiva. Isso pode ser observado quando associado a falha do HA-MRSA em se
771 disseminar de forma eficaz na comunidade (FIGUEIREDO, 2017).

771

772 O HA-MRSA ST239, identificado através da tipagem por sequência multilocus
773 (MLST), é de especial interesse clínico. Como ST240 e ST241 são variantes do locus único
774 de ST239 e que diferem apenas por mutações nos genes marcadores *pta* ou *yqi*, esses STs são
775 discutidos juntos como o complexo clonal (CC) 239. CC239 abrigando o SCCmec tipo III
776 foram designados vários nomes em diferentes regiões geográficas, no Brasil foi denominado o
777 clone brasileiro 09, 44 e 23. A CC239-MRSA-III é provavelmente a cepa pandêmica mais
778 antiga de MRSA. Com isso, observa-se que CC239-MRSA-SCCmec tipo III é uma cepa
779 verdadeiramente pandêmica que em praticamente meio século espalhou-se ao redor do
780 mundo, causando infecções e até óbitos de pacientes. Esta pandemia não é originada de
781 animais hospedeiros, mas de profissionais que trabalham em hospitais e centros cirúrgicos
(MONECKE et al., 2018).

782 Em um estudo em instituições hospitalares brasileiras o *S. aureus* se apresentou como
783 a principal causa das infecções da corrente sanguínea, demonstrando um alto nível de
784 resistência à meticilina (43,7%). Os dados moleculares revelaram que o SCCmec tipo III
785 (46,7%), pertencente ao clone epidêmico brasileiro, mostrou-se o mais prevalente, porém,
786 observou-se a introdução no ambiente hospitalar de SCCmec tipo II, e em particular isolados
787 SCCmec tipo IV (MARRA et al., 2011). Ainda hoje, as cepas de MRSA com SCCmec tipo II
788 ou III são consideradas patógenos nosocomiais típicos em todo o mundo (CHEN et al., 2014).

789 Em relação a fatores epidemiológicos, os CA-MRSA são diagnosticados perante os
790 critérios preconizados pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), que descreve
791 infecção por MRSA em paciente com tratamento ambulatorial e sem internações prévias, sem
792 realização de procedimentos invasivos e sem cultura positiva para MRSA em até 48 horas
793 após internação hospitalar (MILLAR et al., 2007). O CA-MRSA estão ligados a presença de
794 SCCmec tipos IV, V, VII e a presença da citotoxina Panton Valentine Leucocidina (*pvl*)
795 (MARIMÓN et al., 2012).

796 Mesmo com grandes números de relatos de cepas HA-MRSA multirresistentes,
797 universalmente pode ser observado um crescente avanço nas cepas de CA-MRSA onde
798 muitas delas se apresentam com características variadas e diferenciadas em todo mundo
799 (GESUALDO et al., 2013). As cepas denominadas CA-MRSA são diferentes das cepas HA-
800 MRSA em vários aspectos, como em relação as especificidades genéticas, epidemiológicas,
801 bacteriológicas. Estudos demonstram que cepas CA-MRSA são clinicamente semelhantes as
802 cepas de MSSA e pacientes que desenvolvem quadros infecciosos por cepas CA-MRSA,
803 apresentam manifestações clínicas rápidas e progressivas da patologia, evidenciando a grande
804 importância em relação a uma abordagem incisiva e correta na prescrição de antimicrobianos
805 (LIU et al., 2011). Em outro estudo, observou-se que as cepas CA-MRSA emergentes
806 manifestam em maior frequência o gene que expressa a proteína PVL, que é pouco encontrada
807 entre as cepas HA-MRSA (GORWITZ et al., 2006).

808 Em 2000, os clones de CA-MRSA disseminaram de forma rápida nos ambientes
809 hospitalares competindo com os clones de HA-MRSA, gerando importantes mudanças
810 epidemiológicas. Observa-se uma grande preocupação nas comunidades científicas em
811 relação à possibilidade de um clone CA-MRSA uma vez instalado em instituições
812 hospitalares pudesse alterar o seu DNA por clones tradicionais de HA-MRSA e, com isso
813 adquirir genes multirresistentes. Existe também a possibilidade de que rápida disseminação de
814 CA-MRSA em hospitais facilite a aquisição de genes mutáveis, melhore a sobrevivência e a
815 adaptação bacteriana, mesmo ocasionando resistência aos antimicrobianos (FIGUEIREDO,

2017). Mudanças em relação a epidemiologia do CA-MRSA tem observado presença desses patógenos no âmbito hospitalar agregados nos clones multirresistentes (KLEVENS; MORRISON; NADLE, 2007). Com isso, clones SCCmec tipo IV vem se demonstrando frequente em ambientes hospitalares no Brasil, sendo observado a transferência desses patógenos para o ambiente hospitalar (VIDAL et al., 2009).

Outra mudança na epidemiologia do MRSA pode ser observada quando um clone negativo para *pvl* em uma linhagem típica de CA-MRSA, apresenta-se amplamente restrito a instituições hospitalares (FIGUEIREDO, et al., 2014). Como exemplo observa-se o clone ST1-SCCmec tipo IV que foi caracterizado multirresistente, restrito ao ambiente hospital e negativo para o *pvl*, relacionado ao CA-MRSA USA400 que se demonstrava positivo para *pvl* causando infecções associadas a comunidade nos EUA e Canadá e teve seu surgimento em hospitais brasileiros, o que dificulta a distinção entre CA-MRSA e HA-MRSA (GUIMARÃES et al., 2015).

829

830 **2.5. Epidemiologia do MRSA no mundo**

831

Com o progresso nos estudos relacionados a resistência antimicrobiana de *S. aureus*, disseminação das cepas resistentes e epidemiologia molecular, a prevalência de algumas cepas, vem se demonstrando alvos importantes de pesquisas em todo o mundo. O MRSA é atualmente é o micro-organismo mais encontrado nas infecções hospitalares em muitas partes do mundo, como nas Américas, Europa, Norte da África, Oriente Médio e Leste da Ásia (ARIAS, et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2014). Em um estudo de prevalência mundial sobre MRSA, pode ser observado taxas maiores que 50% nos países da América do Sul e América do Norte, Malta e Ásia e taxas entre 25 e 50% nos países da China, Austrália, África e Europa. Na América Latina, o MRSA tem uma alta prevalência nos ambientes hospitalares e seus clones circulantes variam de acordo com as regiões demográficas (ARIAS, et al. 2017). O Brasil foi um dos países da América do Sul que apresentou prevalência de MRSA maior que 50% (STEFANI et al., 2012).

Na América do Sul o clone CA-MRSA dominante é o ST30. Nos EUA, o ST8 CA-MRSA também conhecido por USA300 é o clone predominante nas infecções relacionadas a comunidade. Com tudo, os fatores associados na disseminação de uma linhagem específica de CA-MRSA e seus mecanismos desenvolvidos na diversificação bacteriana permanecem desconhecidos (FIGUEIREDO et al., 2014).

849

850

851

852

853 2.6. Epidemiologia do MRSA no Brasil

854

855 Em um estudo realizado no Brasil pelo grupo de vigilância e controle de patógenos
856 epidemiológicos (Scope), observou, através da avaliação de infecções de corrente sanguínea
857 em 16 hospitais, que 95% dos casos apresentavam pelo menos um micro-organismo, e o *S.*
858 *aureus* estava presente em 14% deles, sendo 43,7% denominados MRSA (MARRA et al.,
859 2011). Em 2014 a Anvisa, através da Rede de Monitoramento da Resistência Microbiana em
860 Serviços da Saúde (Rede RM) analisou as amostras de infecção primária da corrente
861 sanguínea (IPCS) em 908 unidades de terapia intensiva (UTIs) do Sistema Único de Saúde
862 (SUS), totalizando 2.637 pacientes infectados por *S. aureus*, demonstrando-se o micro-
863 organismo mais prevalente e destes, 61% (1606 pacientes) eram *S. aureus* resistentes à
864 meticilina (MRSA) (BRASIL, 2014).

865 Em outro estudo realizado pela Anvisa em 2015, relacionado a resistência bacteriana,
866 observou-se que, o *S. aureus* ocupou a terceira colocação como micro-organismo mais
867 encontrado nas infecções de corrente sanguínea totalizando 13,2% dos casos, sendo desses
868 13,8% representados pela região sudeste do Brasil e em pacientes sob cuidados intensivos.
869 (BRASIL, 2017).

870 O clone epidêmico brasileiro (BEC, ST 239, SCC*mec* III), foi detectado pela primeira
871 vez no Brasil na década de 1990 (SADER, et al., 1994) e tem se manifestado predominante
872 em grande parte dos hospitais brasileiros (ANDRADE, et al., 2016). Entretanto, mudanças
873 epidemiológicas do MRSA estão descritas em algumas instituições do Brasil. CAIAFFA, et
874 al. (2013) relataram a prevalência de MRSA, SCC*mec* tipo II em um hospital de São Paulo. O
875 USA800/Pediátrico (ST5, SCC*mec* IV) e o US400/MW2/WA-1 (ST1, SCC*mec* IV) foram
876 mais predominantes em cinco hospitais do Rio de Janeiro (ZUMA, et al., 2017).

877 Em 2013, em um estudo em hospitais do Rio de Janeiro e Porto Alegre observou-se o
878 aparecimento de cepas SCC*mec* IV, geneticamente associadas ao clone USA 800 (CORREAL
879 et al., 2013). O USA100 que anteriormente foi definido como clone New
880 York/Japão/ST5/CC5/SCC*mec* tipo II relacionado à multirresistência foi a linhagem de
881 MRSA predominante em um hospital militar, enquanto os isolados de MRSA policlonais, sem
882 multirresistência foram detectados em um hospital escola na cidade do Rio de Janeiro

883 (CHAMON, et al., 2017). O USA100 apresentou prevalência maior que 80% em três hospitais
884 brasileiros localizados nas cidades de São Paulo e Porto Alegre (ARIAS, et al., 2017).

885 Estudos recentes estão demonstrando alterações epidemiológicas, não somente para
886 novas cepas de HA-MRSA, mas também em cepas CA-MRSA, com características de grande
887 importância clínica e epidemiológica (ANDRADE & LEAL, 2016).

888

889 **2.7. Infecções relacionadas à assistência à saúde – IRAS**

890

891 De acordo com a denominação determinada pela Agência Nacional de Vigilância
892 Sanitária (ANVISA), no Brasil, a infecção hospitalar ocorre quando existe um caso de
893 infecção adquirido após a admissão do paciente no ambiente hospitalar, manifestando-se ao
894 longo de sua internação ou após a alta, podendo estar relacionada ao período de hospitalização
895 ou aos procedimentos invasivos realizados, tendo as enfermarias e unidades de terapia
896 intensiva como os principais setores de manifestação. A higienização correta das mãos,
897 demonstra-se como principal aliado na prevenção das infecções, que também podem ser
898 ocasionadas pelo não cumprimento adequado das técnicas e procedimentos relacionados a
899 assistência à saúde. (BRASIL, 2018).

900 Três situações são requeridas para que aconteça a transmissão de infecção hospitalar, a
901 fonte de infecção, susceptibilidade do hospedeiro e os meios de transmissão. Os pacientes
902 podem ser denominados como fontes de infecções, os profissionais e os acompanhantes ou
903 visitantes em menor frequência. Pacientes imunocomprometidos são mais susceptíveis, como
904 os casos de recém-nascidos e pacientes em tratamento quimioterápico. A transmissão se dá
905 através do contato direto, por gotículas, aerossóis e ao uso de materiais comuns a todos os
906 pacientes como equipamentos, mobiliários, medicação, alimentação (CALIL, 2015). As IRAS
907 ainda se manifestam em pacientes e em profissionais de saúde mesmo com todo o avanço e
908 vigilância constante na assistência, elas são estabelecidas e determinadas de acordo com as
909 manifestações desenvolvidas na internação ou após a alta se houver alguma associação com
910 algum procedimento hospitalar realizado (HUANG, et al., 2016).

911 A importância na recorrência ou transitoriedade da colonização está relacionada a alta
912 probabilidade de proliferação do micro-organismo, tanto no ambiente hospitalar como na
913 comunidade. A disseminação do patógeno para o paciente está diretamente ligada a prestação
914 do cuidado e depende das medidas básicas de higiene adotadas. O funcionário colonizado por
915 MRSA está sujeito as mesmas ameaças da população de um modo geral quando em contato
916 com o patógeno, todavia, não se deve desconsiderar o risco de colonização por MRSA ao

917 trabalhador. Diante disso, o conhecimento do estado do portador e sua descolonização
918 diminuem os riscos de possíveis infecções (BULLÉ et al., 2016).

919 A grande variabilidade nos países da América Latina, pode significar que os dados
920 sobre a incidência de MRSA em algumas instituições podem não apresentar uma boa
921 representatividade relacionado ao âmbito nacional, em geral nota-se que a prevalência de
922 infecções ocasionados por MRSA alta. Contudo, mesmo com a publicação de dados
923 epidemiológicos e microbiológicos, não foi possível concluir qual seria a melhor abordagem
924 para o trabalho na prevenção e no controle das infecções por MRSA. O controle hospitalar de
925 MRSA endêmico tem utilizados algumas estratégias como identificação previa e isolamento
926 de portadores assintomáticos, para fins de evitar proliferação, higienização do corpo com
927 antissépticos, terapia sistêmico e/ou tópico, orientações para melhor adesão na higiene das
928 mãos e outras medidas de precauções convenientes para a redução do estado do portador e
929 controle dos antimicrobianos. Essas metodologias podem auxiliar na redução da disseminação
930 de MRSA, e diminuindo taxas de portadores e infecções por MRSA em instituições
931 endêmicas. Com a boa adesão ao cumprimento dessas metodologias o resultado será positivo
932 em relação resposta clínica dos pacientes de alta complexidade, como os internados em
933 unidade de terapia intensiva (UTI) (RODRÍGUEZ-NORIEGA et al., 2010).

934

935

936

937

938

939

940

941

942

943

944

945

946

947

948

949

950

951

952

953 **3. OBJETIVOS**

954

955 **3.1. Objetivo geral**

956

957 Caracterizar fenotipicamente e genotipicamente cepas de MRSA isoladas de pacientes
958 atendidos em um Hospital público da cidade de Dourados/MS.

959

960 **3.2. Objetivos específicos**

961

962 Avaliar o perfil de susceptibilidade das cepas frente aos antimicrobianos dos pacientes
963 de todos os setores hospitalares, infectados por MRSA;

964 Determinar os genes relacionados à resistência a meticilina;

965 Realizar a determinação do tipo de cassete cromossômico estafilocócico (*SCCmec*)
966 nas amostras de MRSA através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR);

967 Determinar o perfil de virulência das amostras de MRSA investigando presença de
968 genes de virulência associados à expressão da toxina (*pvl - lukS-F*), por meio da técnica de
969 PCR;

970 Avaliar fatores associados a infecção de corrente sanguínea por MRSA em pacientes
971 neonatos.

972

973

974

975

976

977

978

979

980

981

982

983

984

985

986 **4 REFERÊNCIAS**

987 AGIUS, P., KREISWIRTH, B., NAIDICH, S., BENNETT, K. Typing *Staphylococcus aureus*
988 using the spa gene and novel distance measures. **IEEE/ACM Transactions on**
989 **Computational Biology and Bioinformatics (TCBB)**.V. 4, N. 4, P. 693-704. 2007.

990

991 ANDRADE-FIGUEIREDO, M., LEAL-BALBINO, T.C. Clonal diversity and
992 epidemiological characteristics of *Staphylococcus aureus*: high prevalence of oxacillin-
993 susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with clinical
994 isolates in Brazil. **BMC Microbiol**. V.16. 2016.

995

996 ARIAS, C.A., REYES, J., CARVAJAL, L.P., RINCON, S., DIAZ, L., PANESSO, D., et al.
997 A prospective cohort multicenter study of molecular epidemiology and phylogenomics of
998 *Staphylococcus aureus* bacteremia in nine Latin American countries. **Antimicrob Agents**
999 **Chemother**. V. 61. 2017.

1000

1001 ARGUDÍN, M. Á.; MENDOZA, M. C.; RODICIO, M. R. Food Poisoning and
1002 *Staphylococcus aureus*. **Enterotoxins Toxins**. 2010.

1003

1004 BANNERMAN TL, PEACOCK SJ, MURRAY PR, BARON EJ, et al. *Staphylococcus*,
1005 *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci. Manual of clinical microbiology. Volume 1,
1006 (Ed. 9). P. 390-411. 2006.

1007

1008 BARRIO, M. B.; RAINARD, P.; PRÉVOST, G. LukM/LukF-PVL is the most active
1009 *Staphylococcus aureus* leukotoxin on bovine neutrophils. **Microbes and Infection**. V. 8, N.
1010 8, P. 2068–2074, 2006.

1011

1012 BARROSO, H.; MELIÇO-SILVESTRE, A.; TAVEIRA, N. **Microbiologia Médica**.1ª
1013 Edição. Lisboa: Lidel, 2014.

1014

1015 BECKER, K., VAN ALEN, S., IDELEVICH, E.A., et. al. Plasmid-Encoded Transferable
1016 *mecB*-Mediated Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Emerging Infectious**
1017 **Diseases**. 2018.

1018

1019 BHARADWAZ, M. et al. Isolation, purification, and characterization of staphylo coagulase, a
1020 blood coagulating protein from *Staphylococcus sp*. MBBJP S43. **International Journal of**
1021 **Biological Macromolecules**. V.102, p. 1312–1321, set. 2017.

1022

1023 BONNAL, C.; BIRGAND, G.; LOLOM, I.; DIAMANTIS, S.; DUMORTIER, C.;
1024 L'HERITEAU, F.; ARMAND-LEFEVRE, L.; LUCET, J.C. *Staphylococcus aureus* healthcare
1025 associated bacteremia: An indicator of catheter related infections. **Med Mal Infect**. P. 1-5,
1026 2015.

1027

1028 BONESSO, M.F., MARQUES, S.A., CAMARGO, C.H., FORTALEZA, C.M.C.B., CUNHA,
1029 M.L.R.S. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in no noutbreak
1030 skin infections. **Braz J Microbiol**. V. 45. P.1401-1407, 2014.

1031

- 1032 BOYE, K., BARTELS, M.D., ANDERSEN, I.S., MOELLER, J.A., WESTH, H. A new
1033 multiplex PCR for easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec
1034 types I–V. **Clinical Microbiology and Infection**. V.13. N. 7. P. 725-7.2007.
- 1035 BRASIL. **Resistência Microbiana**. (2007). Disponível em:
1036 [http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web](http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo3/mecanismos.htm)
1037 [/modulo3/mecanismos.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo3/mecanismos.htm). Acesso em 06/10/2018.
- 1038
- 1039 BRASIL. **Boletim Informativo: Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de**
1040 **Saúde**. (2014, 41p). Disponível
1041 em:[https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/11-](https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/11-boletim-informativo-seguranca-do-paciente-e-qualidade-em-servicos-de-saude)
1042 [boletim-informativo-seguranca-do-paciente-e-qualidade-em-servicos-de-saude](https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/11-boletim-informativo-seguranca-do-paciente-e-qualidade-em-servicos-de-saude). Acesso em:
1043 08/08/2018.
- 1044
- 1045 BRASIL. **Medidas simples podem evitar infecção hospitalar**. Disponível em:
1046 [http://www.blog.saude.gov.br/index.php/53351-medidas-simples-podem-evitar-infeccao-](http://www.blog.saude.gov.br/index.php/53351-medidas-simples-podem-evitar-infeccao-hospitalar)
1047 [hospitalar](http://www.blog.saude.gov.br/index.php/53351-medidas-simples-podem-evitar-infeccao-hospitalar)>. 2018. Acesso em 24/08/2018.
- 1048
- 1049 BRASIL. **Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos**
1050 **Serviços de Saúde**. Brasília, 15 de maio de 2017. Disponível em
1051 <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/271855>>. Acesso em: 10 de agosto de 2018.
- 1052
- 1053 BRUST, T., COSTA, T.M., AMORIM, J.C., ASENSI, M.D., FERNANDES, O., AGUIAR-
1054 ALVES, F. Hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the PVL
1055 gene outbreak in a public hospital in Rio de Janeiro, Brazil. **Braz J Microbiol**. V. 44. P. 865-
1056 868, 2013.
- 1057
- 1058 BUKOWSKI, M.; WLADYKA, B.; DUBIN, G. **Exfoliative toxins of Staphylococcus**
1059 **aureus** Toxins, 2010.
- 1060
- 1061 BULLÉ, D. J. et al. Prevalência de *Staphylococcus aureus* metilina resistentes em
1062 profissionais de saúde. **Revista de Enfermagem da UFSM**.V. 6, N. 2, P. 198, 2016.
- 1063
- 1064 CAIAFFA, H.H., FILHO TRINDADE, P.A., CUNHA, P.G., ALENCAR, C.S., PRADO,
1065 G.V., ROSSI, F., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying SCCmec type II
1066 was more frequent than the Brazilian endemic clone as a cause of nosocomial bacteremia.
1067 **Diagn Microbiol Infect Dis**. V. 76. P. 518–520. 2013.
- 1068
- 1069 CALIL, R. et al. **Manual da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH)**.
1070 Universidade Estadual de Campinas, 2015.
- 1071
- 1072 CAMPOS G.B. et al. Isolation, molecular characteristics and disinfection of methicillin-
1073 resistant *Staphylococcus aureus* from ICU units in Brazil. **New Microbiol**. V. 35. P. 183-190.
1074 2012.
- 1075
- 1076 CASTANHEIRA, B.A.M.G. **Mecanismos de resistência a antibióticos**. Universidade
1077 Lusófona de Humanidades e Tecnologia Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde,
1078 Lisboa, 2013.
- 1079
- 1080 CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Community-associated**
1081 **MRSA information for clinicians**.2005.

- 1082
1083 CENTER FOR DISEASE CONTROL. **Toxic-Shock Syndrome**, 2011.
1084
- 1085 CHAHOUD, J.; KANAFANI, Z.; KANJ, S.S. Surgical site infections following spine
1086 surgery: eliminating the controversies in the diagnosis. **Frontiers in Medicine**. V. 1, N. 7, P.
1087 1-10, 2014.
1088
- 1089 CHAMBERS H.F.; DELEO F.R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the
1090 antibiotic era. **Nature Reviews Microbiology**. V. 7, P. 629–641. 2009.
1091
- 1092 CHAMON, R.C., RIBEIRO, S.D., COSTA, T.M., NOUÉR, S.A., SANTOS, K.R. Complete
1093 substitution of the Brazilian endemic clone by other methicillin-resistant *Staphylococcus*
1094 *aureus* lineages in two public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **Braz J Infect Dis**. 21:185–
1095 189. 2017.
1096
- 1097 CHATTERJEE, S.S.; OTTO, M. Improved understanding of factors driving methicillin
1098 resistant *Staphylococcus aureus* epidemic waves. **Clinical Epidemiology**. V.5, P. 205– 217,
1099 2013.
1100
- 1101 CHEN, C.-J. et al. Factors associated with nasal colonization of methicillin-resistant
1102 *Staphylococcus aureus* among healthy children in Taiwan. **Journal of clinical microbiology**.
1103 V. 49, N. 1, P. 131–7, 2011.
1104
- 1105 CHEN, C.J., HUANG, Y.C. Nova epidemiologia da infecção por *Staphylococcus aureus* na
1106 Ásia. **Clin Microbiol Infect**. V. 20. P. 605-23.2014.
1107
- 1108 CHOU, Y.H.; LEE, M.S.; LIN, R.Y.; WU, C.Y. Risk factors for methicillin-resistant
1109 *Staphylococcus aureus* skin and soft-tissue infections in outpatients in Taiwan. **Epidemiol.**
1110 **Infect**. V. 143, N. 4, P. 749-753, 2015.
1111
- 1112 CHU, M. et al. Role of Berberine in the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus*
1113 *aureus* Infections. **Scientific Reports**. V. 6, N. 1, P. 247-48, 22 jul. 2016.
1114
- 1115 COHEN P. R. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin
1116 infections: a review of epidemiology, clinical features, management, and prevention.
1117 **International Journal of Dermatology**. V. 46, N. 2.P. 230-230. February 2007.
1118
- 1119 CORREAL JCD. et al. *Staphylococcus aureus* infections: change in epidemiology at Pedro
1120 Ernesto University Hospital. **Revista HUPE**, Rio de Janeiro. V. 12. N. 3. P. 31-46. 2013.
- 1121 DEURENBERG, R.H. et al. The molecular evolution of methicillin resistant *Staphylococcus*
1122 *aureus*. **Clinical Microbiology and Infection**. V. 13, N. 3, P. 222 – 235. 2007.
- 1123 DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The evolution of *Staphylococcus aureus*.
1124 **Infection, Genetics and Evolution**. 2008a.
1125
- 1126 DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The evolution of *Staphylococcus aureus*.
1127 **Infection, Genetics and Evolution**. V. 8, N. 6.P. 747–763. 2008b.
1128

- 1129 DEURENBERG, R. H., & STOBBERINGH, E. E. The molecular evolution of hospital- and
1130 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Current Molecular**
1131 **Medicine**. V. 9. N. 2.P.100-115. 2009.
1132
- 1133 DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*.
1134 **Clinical Microbiology Reviews**. V. 13.N. 1.P. 16–34. 2000.
1135
- 1136 DUMONT, A. L. et al. Characterization of a new cytotoxin that contributes to *Staphylococcus*
1137 *aureus* pathogenesis. **Molecular Microbiology**.V. 79. N. 3. P. 814–825, 2011.
1138
- 1139 EDWARDS, A. M.; MASSEY, R. C.; CLARKE, S. R. Molecular mechanisms of
1140 *Staphylococcus aureus* nasopharyngeal colonization. **Molecular Oral Microbiology**, 2012.
1141
- 1142 ELLINGTON, M. J. et al. Polyclonal multiply antibiotic-resistant methicillin-resistant
1143 *Staphylococcus aureus* with Panton-Valentine leucocidin in England. **Journal of**
1144 **Antimicrobial Chemotherapy**. V. 65. N. 1. P. 46–50, 2009.
1145
- 1146 FATHOLAHZADEH, B., EMANEINI, M., GILBERT, G., UDO, E., ALIGHOLI, M.,
1147 MODARRESSI, M.H., et al. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) analysis
1148 and antimicrobial susceptibility patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
1149 (MRSA) isolates in Tehran, Iran. **Microb Drug Resist**.V.14. N.3. P.217-20. 2008.
1150
- 1151 FENG, Y. et al. Evolution and pathogenesis of *Staphylococcus aureus*: Lessons learned from
1152 genotyping and comparative genomics. **FEMS Microbiology Reviews**. 2008.
1153
- 1154 FERNANDES, F.L.; CARVALHO, F.G.; JUNIOR, D.R.P. Perfil de susceptibilidade de
1155 isolados clínicos odontológicos do gênero *Staphylococcus sp.* antissépticos bucais e
1156 antimicrobianos. **Journal of Applied Pharmaceutical Sciences**.V.1. P. 9-18, 2014.
1157
- 1158 FIGUEIREDO, A. M. S. What is behind the epidemiological difference between community-
1159 acquired and health-care associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? **Virulence**.
1160 V. 8. N. 6. P. 640-642. 2017.
1161
- 1162 FIGUEIREDO, A.M., FERREIRA, F.A. The multifaceted resources and microevolution of
1163 the successful human and animal pathogen methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Mem**
1164 **Inst Oswaldo Cruz**. V. 109. N. 3. P. 265-78. 2014.
1165
- 1166 FRAIMOW, H.S.; TSIGRELIS, C. Antimicrobial Resistance in the Intensive Care Unit:
1167 Mechanisms, Epidemiology, and Management of Specific Resistant Pathogens. **Critical Care**
1168 **Clinics**. V. 27. N. 1. P. 163–205, 2011.
1169
- 1170 GENESTIER A. L., MICHALLET M.C., PREVOST G., et al. *Staphylococcus aureus*
1171 Pantón–Valentine leucocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent
1172 apoptosis of human neutrophils. **J Clin Invest**. V. 115. P. 3117–3127. 2005.
1173
- 1174 GESUALDO F, BONGIORNO D, RIZZO C, BELLA A, MENICHELLA D, STEFANI S, et
1175 al. MRSA nasal colonization in children: prevalence meta-analysis, review of risk factors and
1176 molecular genetics. **The Pediatric infectious disease journal**. V. 32. N. 5. P. 479-485.2013.
1177

- 1178 GORWITZ RJ, JERNIGAN DB, POWERS JH, JERNIGAN JA. Participants in the Centers
1179 for Disease Control and Prevention-Convened Experts' Meeting on Management of MRSA in
1180 the Community. Strategies for clinical management of MRSA in the community: summary of
1181 an experts' meeting convened by the Centers for Disease Control and Prevention. 2006.
- 1182
1183 GRUMANN, D.; NÜBEL, U.; BRÖKER, B. M. *Staphylococcus aureus* toxins - Their
1184 functions and genetics. **Infection, Genetics and Evolution**. V. 21. P. 583–592, 2014.
- 1185
1186 GRUNDMANN, H. et al. Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive
1187 infections in Europe: A molecular-epidemiological analysis. **PLoS Medicine**. V. 7. N. 1.
1188 2010.
- 1189
1190 GUIMARÃES, M.A. et al. A comparison of virulence patterns and in vivo fitness between
1191 hospital- and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* related to the
1192 USA400 clone. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. V. 34. N. 3. P. 497-50. 2015.
- 1193
1194 HANRATTY J, et al. Panton-Valentine leukocidin positive *Staphylococcal aureus* infections
1195 of the head and neck: case series and brief review of literature. **J Oral Maxillo fac Surg**. V.
1196 73. N. 4. P. 666-70. Apr. 2015.
- 1197
1198 HANSEN, A. M.; KJELDSEN, G.; ERICSON SOLLID, J. U. Local Variants of
1199 Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* in Sporadic Methicillin-Resistant *Staphylococcus*
1200 *aureus* and Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci: Evidence of Horizontal
1201 Gene Transfer? **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. V. 48. N. 1. P. 285–296, 2004.
- 1202
1203 HASSOUN, A.; LINDEN, P. K.; FRIEDMAN, B. Incidence, prevalence, and management of
1204 MRSA bacteremia across patient populations—a review of recent developments in MRSA
1205 management and treatment. **Critical Care**. V. 21. N. 1, P. 211, 14 dez. 2017.
- 1206
1207 HEROLD, B. C. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in
1208 children with no identified predisposing risk. **Jama: the journal of the American Medical**
1209 **Association**. V. 279. N 8. P. 593–598, 1998.
- 1210
1211 HIRAMATSU, et al. Genomic basis for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*.
1212 **Infect. Chemother**. V. 45. P. 117-136, 2013.
- 1213
1214 HUANG P, PICHON B, GAO S, RIBNER BA, COSGROVE AS, Black SR. The impact of
1215 hospital-acquired infections with multidrug-resistant bacteria in an oncology intensive care
1216 unit. **Int J Infect Dis**. V. 31. P. 32-36, 2016.
- 1217
1218 ITO T. et al. Classification of staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*): guidelines
1219 for reporting novel SCC*mec* elements **Antimicrob. Agents Chemother**. V. 53. P. 4961-4967.
1220 2009.
- 1221
1222 KAPOOR, R. et al. Preoperative prevalence of *Staphylococcus aureus* in cardiothoracic and
1223 neurological surgical patients. **Frontiers in public health**. V. 2, N. 214, P. 1-4, 2014.
- 1224
1225 KARUMI SR, M.; YOUSEFI, J. V. Evaluation of five Phenotypic Methods dor Detection of
1226 Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Iranian Journal of Pathology**, 2011.
- 1227

- 1228 KIMBER, I. et al. Toxic Shock Syndrome: Characterization of Human Immune Responses to
1229 TSST-1 and Evidence for Sensitivity Thresholds. **Toxicological Sciences**. V. 134. N. 1. P.
1230 49–63, 2013.
- 1231
- 1232 KONO, M., ODA, Y., KITO, Y., WATANABE, Y., ANDO, T., KAMIDE, R., OHNISHI,
1233 A. Molecular epidemiology of Pantone-Valentine leukocidin (PVL) – positive *Staphylococcus*
1234 *aureus* associated with skin and soft tissue infection. **Rinsho Byori Jpn J Clin Pathol**. V. 61.
1235 P. 659-664, 2013.
- 1236
- 1237 KLEVENS, R.; MORRISON, M.; NADLE, J. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus*
1238 *aureus* infections in the United States. **Jama: the journal of the American Medical**
1239 **Association**. V. 298. N. 15. P. 1763–1771, 2007.
- 1240
- 1241 LAKHUNDI S., ZHANG K. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina: caracterização
1242 molecular, evolução e epidemiologia. **Clinical microbiology reviews**. 2018.
- 1243
- 1244 LERICHE, T.; BLACK, A. Y.; FLEMING, N. A. Toxic Shock Syndrome of a Probable
1245 Gynecologic Source in an Adolescent: A Case Report and Review of the Literature. **Journal**
1246 **of Pediatric and Adolescent Gynecology**. V. 25. N. 6, 2012.
- 1247
- 1248 LI S, SKOV RL, HAN X, et al. Novel Types of Staphylococcal Cassette
1249 Chromosome *mec* Elements Identified in Clonal Complex 398 Methicillin-Resistant
1250 *Staphylococcus aureus* Strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. V. 55. N. 6. P.
1251 3046-3050. 2011.
- 1252 LIU Cet al. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the
1253 treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children.
1254 **Clinical infectious diseases**. V. 52. N. 3. P. e18-e55. 2011.
- 1255
- 1256 LIU, J., CHEN, D., PETERS, B., LI, L., LI, B., XU, Z., SHIRLIFF, M. Staphylococcal
1257 chromosomal cassettes *mec* (SCC*mec*): A mobile genetic element in methicillin-resistant
1258 *Staphylococcus aureus*. **Journal Microbial Pathogenesis**. V. 101, N.12, P.56-67. 2016.
- 1259
- 1260 LOWY, F. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Journal of**
1261 **Clinical Investigation**. V. 111. N. 9. P. 1265–1273, 2003.
- 1262
- 1263 LOWY, F. *Staphylococcus aureus* infections. **The New England Journal of medicine**. V.
1264 339. N. 8. P.520-532, 1998.
- 1265
- 1266 MAEDA, T., SAGA, T., MIYAZAKI, T., KOUYAMA, Y., HARADA, S., IWATA, M.,
1267 YOSHIZAWA, S., KIMURA, S., ISHII, Y., URITA, Y., SUGIMOTO, M., YAMAGUCHI,
1268 K., TATEDA, K. Genotyping of skin and soft tissue infection (SSTI)-associated methicillin-
1269 resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains among outpatients in a teaching hospital in
1270 Japan: Application of a phage-open reading frame typing (POT) kit. **J Infect**
1271 **Chemother**.V.18. N. 6.P. 906-914, 2012.
- 1272
- 1273 MALACHOWA, N.; DELEO, F. R. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*.
1274 **Cellular and Molecular Life Sciences**, 2010.
- 1275

- 1276 MARIMÓN, J. M. et al. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* carrying the
1277 panton-valentine leucocidin genes in northern Spain. **Journal of Infection**. V. 64. N. 1.P. 47–
1278 53, 2012.
- 1279
- 1280 MARRA, A.R. et al. Nosocomial Bloodstream Infections In Brazilian Hospitals: Analysis Of
1281 2,563 Cases From A Prospective Nationwide Surveillance Study. **Journal of Clinical**
1282 **Microbiology**. V. 49. N. 5.P. 1866-187, 2011.
- 1283
- 1284 MEJÍA, C.; ZURITA, J.; GUZMÁN-BLANCO, M. Epidemiology and surveillance of
1285 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. **The Brazilian journal of**
1286 **infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases**.
1287 V. 14. N. 2. P. 79–86, 2010.
- 1288
- 1289 MILLAR, B. C. et al. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant
1290 *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). **Journal of Hospital Infection**. 2007.
- 1291
- 1292 MIMICA M.J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Brazil. **New**
1293 **microbiológica**. V.36. N. 107, 2013.
- 1294
- 1295 MITSUMOTO-KASEIDA, F. et al. Clinical and pathogenic features of SCCmec type II and
1296 IV methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan. **Journal of Infection and**
1297 **Chemotherapy**. V. 23. N. 2. P. 90–95. Fev. 2017.
- 1298
- 1299 MONECKE, S. et al. Molecular Typing of ST239-MRSA-III from diverse geographic
1300 locations and the evolution of the SCCmec III element during its intercontinental spread.
1301 **Front. Microbiol**. V. 6. N. 9. Jul2018.
- 1302
- 1303 MONTANARO, L.; SPEZIALE, P.; CAMPOCCIA, D.; RAVAIOLI, S.; CANGINI, I.;
1304 PIETROCOLA, G.; GIANINI, S.; ARCIOLA, C.R. Scenery of *Staphylococcus*
1305 implant infections in orthopedics. **Future Microbiol**. V. 6. P. 1329-1349, 2011.
- 1306
- 1307 OLIVEIRA, D.C., LENCASTRE, H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of
1308 structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus*
1309 *aureus*. **Antimicrob Agents Chemother**. V. 46. N.7. P. 2155-61.2002.
- 1310
- 1311 OLIVEIRA DC, MILHEIRIÇO C, DE LENCASTRE H. Redefining a Structural Variant of
1312 Staphylococcal Cassette Chromosome mec, SCCmec Type VI. **Antimicrobial Agents and**
1313 **Chemotherapy**. V. 50. N. 10. P. 3457-3459. 2006.
- 1314
- 1315 OSTOJIC, M.; HUKIC, M. Genotypic and phenotypic characteristics of Methicillin resistant
1316 *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains, isolated on three different geography locations.
1317 **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**. V. 15. N. 3. P. 48–56, 2015.
- 1318
- 1319 PETERSDORF, S. et. al. A Novel Staphylococcal Cassette Chromosome mec Type XI primer
1320 for detection of mecC-Harboring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from
1321 screening specimens. **J. Clin Microbiol**. V.53. N. 12.P. 3938-41, 2015.
- 1322
- 1323 PETINAKI, E. et al. Detection of *mecA*, *mecR1* and *mecI* genes among clinical isolates of
1324 methicillin-resistant staphylococci by combined polymerase chain reactions. **The Journal of**
1325 **antimicrobial chemotherapy**. V. 47.N 3. P.297–304. 2001.

1326

1327 POIREL, L., PITOUT, J.D., NORDMANN, P. Carbapenemases: molecular diversity and
1328 clinical consequences. **Future Microbiol.** V. 2. N. 5. P. 501-12.2007.

1329

1330 RAY, M. D.; BOUNDY, S.; ARCHER, G. L. Transfer of the methicillin resistance genomic
1331 island among *staphylococci* by conjugation. **Molecular Microbiology.** V. 100. N. 4. P. 675–
1332 685. Maio 2016.

1333

1334 RODRÍGUEZ-NORIEGA, E. et al. Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
1335 clones in Latin America International. **Journal of Infectious Diseases**, 2010.

1336

1337 SADER, H.S., PIGNATARI, A.C., HOLLIS, R.J., JONES, R.N. Evaluation of interhospital
1338 spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Sao Paulo, Brazil, using pulsed-field
1339 gel electrophoresis of chromosomal DNA. **Infect Control Hosp Epidemiol.** V. 15. P.320–
1340 323.1994.

1341

1342 SAN, S.I.T.P. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)
1343 infection and the molecular characteristics of MRSA bacteraemia over a two-year period in a
1344 tertiary teaching hospital in Malaysia. **BMC infectious diseases.**V. 17. N. 1. P. 274.2017.

1345

1346 SANTOS, A. L. DOS et al. *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance.
1347 **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.** V. 43. P 413–423. 2007a.

1348

1349 SASAKI, V.D.M et al. Vigilância de Infecção de sítio cirúrgico no pós-alta hospitalar de
1350 cirurgia cardíaca reconstitutiva. **Texto Contexto Enfermagem.** V. 20. N.2. P. 328-332, 2011.

1351

1352 SHALLCROSS, L. J. et al. The role of the Pantone-Valentine leucocidin toxin in
1353 staphylococcal disease: A systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious**
1354 **Diseases.**V.13, N. 1, P 43–54, 2013.

1355

1356 SHORE AC, DEASY EC, SLICKERS P, et al. Detection of Staphylococcal Cassette
1357 Chromosome *mec* Type XI Carrying Highly Divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*,
1358 and *ccr* Genes in Human Clinical Isolates of Clonal Complex 130 Methicillin-
1359 Resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.**V.55. N. 8. P.
1360 3765-3773. 2011.

1361

1362 SPAAN, A. N. et al. The Staphylococcal Toxin Pantone-Valentine Leukocidin Targets Human
1363 C5a Receptors. **Cell host & microbe.** V. 13. N. 5. P. 584-594. May 2013.

1364

1365 SPANU, V. et al. Virulence factors and genetic variability of *Staphylococcus aureus* strains
1366 isolated from raw sheep's milk cheese. **International Journal of Food Microbiology.** V.
1367 153. N. 1–2. P. 53–57, 2012.

1368

1369 STEFANI, S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Global epidemiology
1370 and harmonisation of typing methods. **International Journal of Antimicrobial Agents.**
1371 2012.

1372

- 1373 STEFANI, S.; GOGLIO, A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: related infections
1374 and antibiotic resistance. **International Journal of Infectious Diseases**. V. 14, N. 4, 2010.
1375
- 1376 SUNG, J. M. L.; LLOYD, D. H.; LINDSAY, J. A. *Staphylococcus aureus* host specificity:
1377 Comparative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray.
1378 **Microbiology**. V. 154. N. 7. P. 1949–1959, 2008.
1379
- 1380 TAKEUCHI, S. et al. Production of toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus*
1381 isolated from mastitic cow's milk and farm bulk milk. **Veterinary Microbiology**. V. 59. N. 4.
1382 P. 251–258, 1998.
1383
- 1384 TODD, J. et al. TOXIC-SHOCK SYNDROME ASSOCIATED WITH PHAGE-GROUP-I
1385 STAPHYLOCOCCI. **The Lancet**. V. 312. N. 8100. P. 1116–1118, 1978.
1386
- 1387 TURLEJ, A.; HRYNIEWICZ, W.; EMPEL, J. Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*
1388 (SCC*mec*) classification and typing methods: An overview. **Polish Journal of Microbiology**,
1389 2011.
1390
- 1391 UDO, E.E., BOSWIHI, S.S. Antibiotic Resistance Trends in Methicillin-Resistant
1392 *Staphylococcus aureus* Isolated in Kuwait Hospitals: 2011-2015. **Medical Principles and**
1393 **Practice**. V. 26. N. 5. P. 485-90. 2017.
1394
- 1395 VAISHNANI, J. Superantigen. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and**
1396 **Leprology**. V. 75. N. 5. P. 540–544. 2009.
1397
- 1398 VIDAL, P.M. et al. Differences between “classical” risk factors for infections caused by
1399 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and risk factors for nosocomial
1400 bloodstream infections caused by multiple clones of the staphylococcal cassette chromosome
1401 *mec* type IV. **Infection control and hospital epidemiology**. P. 139–145. 2009.
1402
- 1403 WORTHINGTON, R.J.; MELANDER C. Overcoming Resistance to β -Lactam Antibiotics.
1404 **The Journal of Organic Chemistry**. V 78. N. 9. P. 4207–4213. 2013.
1405
- 1406 YOONG, P.; TORRES, V. J. The effects of *Staphylococcus aureus* leukotoxins on the host:
1407 Cell lysis and beyond. **Current Opinion in Microbiology**, 2013.
1408
- 1409 YAMAGUCHI, T., OKAMURA, S., MIURA, Y., KOYAMA, S., YANAGISAWA, H.,
1410 MATSUMOTO, T. Molecular Characterization of Community-Associated Methicillin-
1411 Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Skin and Pus Samples of Outpatients in Japan.
1412 **Microb Drug Resist**. V. 21. N. 4. P. 441-447. 2015.
1413
- 1414 ZETOLA, N. et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an
1415 emerging threat. **The Lancet Infectious Diseases**. V.5. N.5. P. 275-286. May 2005.
1416
- 1417 ZUMA, A.V. et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
1418 isolated from blood in Rio de Janeiro displaying susceptibility profiles to non- β -lactam
1419 antibiotics. **Braz J Microbiol**. V.48. P. 237–241. 2017.
1420

1421

1422 **5 APÊNDICE**

1423

1424 **Epidemiological surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in a**
1425 **tertiary public hospital**

1426

1427

1428 Carolina Rangel de Lima Santos¹, Silvana Beutinger Marchioro¹

1432 ¹Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências da Saúde, Dourados, MS,
1433 Brasil.

1434

1435

1436 Artigo submetido a revista Journal of Infection and Public Health

1437 Qualis: B2

1438

1439

1440

1441

1442

1443 Corresponding author: Silvana Beutinger Marchioro, Universidade Federal da Grande
1444 Dourados, Faculdade de Ciências da Saúde, Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde,
1445 Dourados, MS, Brasil. Phone: +55 67 3410-2320. E-mail address:
1446 silvanamarchioro@ufgd.edu.br

1447

1448

1449 **Abstract**

1450 **Background:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) are frequently associated
1451 with multidrug-resistance profiles and a major concern in infections health services. A cross-
1452 sectional study was conducted between August/2016 and August/2017, to describe the clinical
1453 and molecular characteristics associated MRSA strains isolated from a tertiary hospital
1454 located in mid-western Brazil. **Methods:** Clinical characteristics associated with MRSA
1455 bloodstream infections in neonates were investigate with a case control analysis involving 51
1456 patients. Bacterial identification was performed by Phoenix™ system. Antimicrobial
1457 susceptibility was determined by broth microdilution. The presence of methicillin-resistance
1458 genes (*mecA*, *femA*), Panton-Valentine leucocidin encoding gene (*pvl*) and *SCCmec* typing
1459 was evaluated by PCR and DNA sequencing. **Results:** A total of 30 methicillin-resistant *S.*
1460 *aureus* strains were recovered from 30 patients and identified as hospital acquired-MRSA
1461 (n=23; 76,6%) and community-acquired-MRSA (n=7; 23,4%). The majority of the patients
1462 included in the study were neonates (57%).Hyaline membrane syndrome, bronchopulmonary
1463 dysplasia, meconium aspiration syndrome, prematurity, long-term hospitalization and use of
1464 invasive devices were associated with MRSA bloodstream infections in neonates. PCR
1465 amplification and sequencing showed that *mecA* and *femA* genes were responsible for
1466 resistance to methicillin. Molecular analysis of *SCCmec* revealed that *SCCmec* type IV was the
1467 most prevalent. PVL-positive strains were identified as hospital acquired-MRSA (HA-
1468 MRSA), indicating bacterial diversification between HA-MRSA and community acquired-
1469 MRSA (CA-MRSA) lineages. **Conclusion:** In conclusion, this study showed that
1470 infected/colonized patients represent reservoirs for horizontal transmission, thus infection
1471 control measures are needed to prevent the spread of MDR strains in healthcare institutions.

1472

1473 **Keywords:** Bacterial resistance; MRSA; clinical characteristics.1474 **1. Introduction**

1475 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has become a serious healthcare
1476 concern worldwide involved in many infections in intensive care units (ICU) (1, 2). MRSA
1477 was once associated only with health care settings, including hospitals and other health care
1478 environments(HA-MRSA), however cases of community-acquired methicillin-resistant
1479 *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) infections has been frequently reported (3-5). CA-
1480 MRSA infections appear to be on the rise and have been described in several populations.
1481 Reports showing the increasing presence of these community strains replacing hospital-
1482 associated strains has caused miscegenation between the two types of MRSA making it
1483 complicated the distinction between these strains (6, 7).

1484 The global emergence and spread of MRSA harboring multi-resistance genes has left
1485 clinicians with limited antimicrobial treatment options for these infections (8). Methicillin
1486 resistance primarily results from the expression of *mecA* gene that encodes an alternative
1487 penicillin-binding protein (PBP2a or PBP2') that has low affinity for most semisynthetic
1488 penicillins, including methicillin, nafcillin, and oxacillin (7, 9, 10). This methicillin-resistant
1489 genetic component is carried on a mobile genetic element designed staphylococcal cassette
1490 chromosome (*SCCmec*) and is transferred among staphylococcal species, conferring broad-
1491 spectrum b-lactam resistance (11-13).

1492 Thirteen types of *SCCmec* (I to XIII) have been identified thus far, classified
1493 according to the structural organization and genetic content, however only the types I to V are
1494 globally distributed. CA-MRSA strains are associated to *SCCmec* types IV and V while HA-
1495 MRSA strains to types I, II and III. This classification is performed through the molecular
1496 detection of variable regions in the *SCCmec*. SCC elements carrying genes other than *mecA*
1497 have also been identified in staphylococci. These elements carry genes for fusidic acid
1498 resistance, a capsule gene cluster, and a mercury resistance operon (6, 14, 15).

1499 Understanding the resistance mechanisms is of great interest to the prevention of
1500 nosocomial infections. Given the importance of antimicrobial resistance surveillance to
1501 control the spread of multidrug-resistance MRSA, the present study was conducted to
1502 determine the prevalence and microbiological characteristics of MRSA strains isolated from
1503 in a tertiary hospital located in mid-western Brazil. In addition we aimed to identify factors
1504 associated with acquisition of these strains.

1505

1506 **2. Material and Methods**

1507 **2.1 Study site and patients**

1508 Data were collected from patients hospitalized in a public tertiary care hospital located
1509 in the city of Dourados, in Mato Grosso do Sul (a central-western Brazilian state). The
1510 facilities provides 187, distributed among infirmaries, maternal and infant area and the UTIs
1511 adult, pediatric, neonatal and intermediate care units (IU). This cross-sectional study was
1512 conducted from August/2016 to August/2017. A case of healthcare-associated MRSA (HA-
1513 MRSA) was considered as a patient who presented a positive culture of MRSA obtained on or
1514 after 48 hours of admission to the hospital. A case of community-associated MRSA (CA-
1515 MRSA) was considered if the culture was obtained before 48 hours of admission to the
1516 hospital with no history of hospitalization, surgery, dialysis, or residence in a long-term care
1517 facility within 12 months preceding the culture date, or the presence of a central vascular
1518 catheter (CVC) within the 2 days prior to MRSA culture (16). This study was conducted with
1519 the approval of the Research Ethics Committee from the Universidade Federal da Grande
1520 Dourados (number 1.905.211/2017).

1521

1522 **2.2 Bacterial strains**

1523 The MRSA isolated during the study period were obtained from 30 patients.
1524 Colonization was defined as the isolation of strains without clinical manifestation of infection.
1525 Clinical infection was defined by medical diagnosis according to clinical criteria (sepsis,
1526 fever, changes in frequency or colour of secretions, or new radiological findings), as well as
1527 isolation of one strain of MRSA (17).

1528

1529 **2.3 Bacterial identification and susceptibility testing**

1530 Bacterial species were identified using the BD Phoenix™ automated system(18). The
1531 minimal inhibitory concentrations (MICs) of antimicrobials were determined and the
1532 following antimicrobials were tested: ampicillin, penicillin G, oxacillin, daptomycin,
1533 trimethoprim/sulfamethoxazol, vancomycin, clindamycin, erythromycin,
1534 quinupristin/dalfopristin, linezolid, rifampin, minocycline, tetracycline, gentamicin
1535 nitrofurantoin (19).

1536

1537 **2.4 PCR amplification and sequencing**

1538 Genomic DNA of MRSA strains were extracted from fresh cultures and the
1539 concentration and purity of the total DNA was determined by optical density measured using
1540 a spectrophotometer (BioDrop, Walnut Creek, CA, USA). PCR reactions were prepared in
1541 laminar flow containing Invitrogen PCR master mix (Thermo Fisher Scientific, California,
1542 USA) using specific *primers* (9, 20-24) (Table 1). In order to confirm the specie identification
1543 of the strains the presence of the gene *nucA* was evaluated. Methicillin-resistance was
1544 evaluated by the presence of *mecA*, *femA* genes. *SCCmec* typing was performed for all
1545 MRSA isolates by multiplex PCR as previously described. The production of Panton-
1546 Valentine leukocidin (PVL) cytotoxin was evaluated in all MRSA isolates by the presence of
1547 *lukS-PV-lukF-PV* (*pvl* genes). Amplified PCR products were purified with GFX PCR DNA

1548 and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare, Chicago, Illinois, USA) and then were
1549 sequenced using the Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster
1550 City, USA). Reactions were performed using an ABI 3730 XL DNA Analyzer (Applied
1551 Biosystems, Foster City, California, USA).

1552

1553 **2.5 Case-control study**

1554 To identify factors associated with the acquisition of MRSA bloodstream infection in
1555 neonate patients hospitalized in the ICU, a case-control study was conducted. A case was
1556 defined as a patient who presented MRSA strain isolated from clinical cultures during the
1557 study period. Controls were patients without the isolation of MRSA strains in the first 48
1558 hours after admission (at a 2:1 ratio to the case group). Each control was randomly selected
1559 from inpatients admitted within the study period matched for age, clinical manifestation,
1560 pathogen and hospital ward. Clinical records from inpatients were reviewed and the following
1561 data were recorded: demographics; medical history and co-morbid conditions; location prior
1562 to admission; ward of admission; hospital course (duration and ward location); invasive
1563 procedures (devices use and surgery) receiving of mechanical ventilation; treatment with
1564 immunosuppressant drugs; antibiotic exposure history; source of infection and outcome
1565 (recovery/death). All clinical data were recorded and the statistical analysis was performed by
1566 the program SPSS, version 18 (Chicago, IL, USA) using the univariate model. Variables with
1567 $p < 0.20$ were considered to be statistically significant.

1568

1569 **3 Results**

1570 **3.1 Patients of the study**

1571 A total of 457 episodes of *Staphylococcus* sp. were recorded during the period of
1572 study. Eighty-three strains were identified as *S. aureus* and 30 methicilin-resistant *S. aureus*

1573 strains were recovered from 30 patients. Following the criteria established by CDC most
1574 MRSA isolates were identified as HA-MRSA ($n = 23$; 76,6%). The patients were hospitalized
1575 in different hospital wards, including neonatal ICU ($n = 17$; 57%), adult ICU ($n = 11$; 37%)
1576 and pediatric ICU ($n = 2$; 6%) and the median length of their hospital stay was 50 days. The
1577 majority of the patients included in the study were neonates (median age 12/days, range 3–28
1578 days). No differences were observed regarding the sex of the patients ($P = 0.54$). Furthermore,
1579 63% ($n = 19$) of the identified strains were obtained from blood culture, 13% ($n = 4$) from
1580 tracheal aspirates, 7% ($n = 2$) from urine culture, 7% ($n = 2$) from catheter tip and 10% ($n = 3$)
1581 from other sites.

1582

1583 **3.2 Antibiotic susceptibility**

1584 Regarding the susceptibility profile, 66% ($n = 20$) of the strains were resistant to more
1585 than 3 classes of antimicrobial agents, thus classified as multidrug resistant (MDR). The
1586 strains identified as HA-MRSA presented higher resistance rates compared with CA-MRSA
1587 strains (Table 2). All MRSA strains were resistant to penicillins. In contrast, all MRSA were
1588 susceptible to vancomycin (MICs ranged from 0,5 $\mu\text{g/mL}$ to 2 $\mu\text{g/mL}$), linezolid (MICs
1589 ranged from 1 $\mu\text{g/mL}$ to 4 $\mu\text{g/mL}$) and daptomycin (MIC 0,25 $\mu\text{g/mL}$ to 1 $\mu\text{g/mL}$).

1590

1591 **3.3 Molecular characterization**

1592 PCR amplification and sequencing showed that the *nucA* and *mecA* gene were present
1593 in all strains. The *femA* gene was detected in 16 (54%) strains. Molecular analysis of *SCCmec*
1594 revealed that *SCCmec* type IV ($n = 15$; 50%) was the most prevalent followed by *SCCmec*
1595 type I ($n = 10$; 33%), *SCCmec* type V ($n = 4$; 13%) and *SCCmec* type III ($n = 1$; 4%). PVL
1596 gene was present in 18 (60%) MRSA strains. Interesting the majority PVL-positive strains
1597 were HA-MRSA isolated from blood culture (Table 3).

1598 **3.4 Case-control study**

1599 Considering that all neonate patients had an episode of MRSA bloodstream infection a
1600 case control study was performed to identify factors associated with the acquisition of
1601 infection. Fifty-one patients (17 cases and 34 controls) were included in the study and there
1602 were no significant differences ($P = 0.50$) among cases and controls with regard to baseline
1603 demographics. In the univariable analysis, MRSA strains were associated with hyaline
1604 membrane syndrome, bronchopulmonary dysplasia, meconium aspiration syndrome,
1605 prematurity, long-term hospitalization and use of invasive devices. Table 4 presents the
1606 descriptive statistics for cases and controls. The analysis of data on patient outcomes revealed
1607 no significant differences ($P > 0.21$) between mortality rates of MRSA patients and MSSA
1608 (17.64 and 2.9 %, respectively).

1609

1610 **4 Discussion**

1611 The global emergence and spread of multidrug-resistance strains is a severe challenge
1612 for public health(25). Among different gram-positive pathogens MRSA, is the major cause of
1613 hospital acquired infections as well as infections acquired from the community (10, 26, 27).
1614 The overall prevalence of MRSA in our study was 36.1%, which is comparable to the results
1615 obtained in previous studies (16, 28, 29). During hospitalization the patients
1616 infected/colonized with MRSA strains, were subjected to invasive devices and were exposed
1617 to more than three different antibiotics prior to the isolation of MRSA strains. These factors
1618 probably represent severe underlying illness and consequently increased susceptibility to
1619 infection from multidrug-resistant organisms (16, 30).

1620 In our study neonate patients were more susceptible to develop MRSA bloodstream
1621 infection (57%), this may be related to the fact that newborn's innate defense mechanisms are
1622 immature to respond against therapeutic interventions, which could favour the acquisition of

1623 these strains (31). In the univariate analysis central venous catheterization, mechanical
1624 ventilation, orogastric tube, prematurity, long-term hospitalization, antibiotic exposure and
1625 neonatal comorbidities were associated with BSI in neonates. Previous studies described
1626 similar results (16, 31, 32). In this study, three patients died by sepsis during the study,
1627 therefore the poor outcome observed could not be attributed solely to the presence of MRSA
1628 strains, and could also be related with unfavorable clinical condition, considering the patients
1629 presented several comorbidities.

1630 To analyze the mechanisms of antimicrobial resistance, phenotypic and molecular
1631 assays of MRSA isolates were performed. MRSA strains exhibited high rates of resistance to
1632 several antibiotics, notably all strains were susceptible to vancomycin which is the antibiotic
1633 of choice for the treatment of infections caused by MRSA strains. The presence of *mecA* and
1634 *femA* genes were responsible for the resistance to methicillin observed among the strains
1635 evaluated. *SCCmec* type IV was the predominant type identified and, although previous
1636 studies report that type IV is usually related to CA-MRSA strains (6, 33), in our study
1637 *SCCmec* type IV was mainly identified in HA-MRSA strains, different from the established
1638 pattern (11). Moreover typical CA-MRSA strains display the production of PVL toxin (34),
1639 however our results showed that 94% of PVL-positive strains were identified as HA-MRSA.
1640 These findings indicate an important epidemiological change, leading to bacterial
1641 diversification of these lineages (35).

1642 The main limitation of this study was the lack of data regarding the genetic
1643 relationship of the strains, which made it difficult to determine if there was an outbreak.
1644 Nevertheless, this study was able to provide relevant information regarding surveillance of
1645 MRSA strains. In addition, our findings demonstrated that infected or colonized patients
1646 represent reservoirs for horizontal transmission and spread of MDR strains, thus continuous

1647 epidemiologic surveillance is highly recommended to efficiently prevent nosocomial
1648 infections.

1649 **References**

- 1650 1. Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, Friedrich AW, Kearns AM, Westh H, et al. Meti-
1651 cillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of
1652 typing methods. International journal of antimicrobial agents. 2012;39(4):273-82.
- 1653 2. Thampi N, Showler A, Burry L, Bai AD, Steinberg M, Ricciuto DR, et al. Multicenter
1654 study of health care cost of patients admitted to hospital with *Staphylococcus aureus* bac-
1655 teremia: Impact of length of stay and intensity of care. Am J Infect Control. 2015;43(7):739-
1656 44.
- 1657 3. Song Q, Wu J, Ruan P. Predominance of community-associated sequence type 59 me-
1658 thicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a paediatric intensive care unit. J Med Microbiol.
1659 2018;67(3):408-14.
- 1660 4. Thomas S, Crooks K, Islam F, Massey PD. Community-associated methicillin-resis-
1661 tant *Staphylococcus aureus* infections in Aboriginal children attending hospital emergency
1662 departments in a regional area of New South Wales, Australia: a seven-year descriptive study.
1663 Western Pacific surveillance and response journal : WPSAR. 2017;8(4):6-12.
- 1664 5. Yang JF, Kishore K. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus*
1665 *Aureus* Subretinal Abscess in a Nonbacteremic Patient Treated with Internal Drainage and
1666 Retinectomy. Retinal cases & brief reports. 2018.
- 1667 6. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Char-
1668 acterization, Evolution, and Epidemiology. Clin Microbiol Rev. 2018;31(4).
- 1669 7. Zhan XY, Zhu QY. Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Evi-
1670 dence of positive selection in a penicillin-binding protein (PBP) 2a coding gene *mecA*. Infec-
1671 tion, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in
1672 infectious diseases. 2018;59:16-22.
- 1673 8. Arias CA, Murray BE. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century--a clinical super-
1674 challenge. N Engl J Med. 2009;360(5):439-43.
- 1675 9. Azimian A, Havaei SA, Fazeli H, Naderi M, Ghazvini K, Samiee SM, et al. Genetic
1676 characterization of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from the respiratory
1677 tract of a patient in a university hospital in northeastern Iran. J Clin Microbiol.
1678 2012;50(11):3581-5.
- 1679 10. San Sit P, Teh CSJ, Idris N, Sam I-C, Omar SFS, Sulaiman H, et al. Prevalence of me-
1680 thicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection and the molecular characteristics
1681 of MRSA bacteraemia over a two-year period in a tertiary teaching hospital in Malaysia.
1682 BMC infectious diseases. 2017;17(1):274.
- 1683 11. Dhawan B, Rao C, Udo EE, Gadepalli R, Vishnubhatla S, Kapil A. Dissemination of
1684 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCC*mec* type IV and SCC*mec* type V epidemic
1685 clones in a tertiary hospital: challenge to infection control. Epidemiol Infect.
1686 2015;143(2):343-53.
- 1687 12. Japoni A, Jamalidoust M, Farshad S, Ziyaeyan M, Alborzi A, Japoni S, et al. Charac-
1688 terization of SCC*mec* types and antibacterial susceptibility patterns of methicillin-resistant
1689 *Staphylococcus aureus* in Southern Iran. Jpn J Infect Dis. 2011;64(1):28-33.

- 1690 13. Shitrit P, Openhaim M, Reisfeld S, Paitan Y, Regev-Yochay G, Carmeli Y, et al.
1691 Characteristics of SCCmec IV and V Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in
1692 Israel. *Isr Med Assoc J.* 2015;17(8):470-5.
- 1693 14. Baig S, Johannesen TB, Overballe-Petersen S, Larsen J, Larsen AR, Stegger M. Novel
1694 SCCmec type XIII (9A) identified in an ST152 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.
1695 *Infection, Genetics and Evolution.* 2018;61:74-6.
- 1696 15. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chro-
1697 mosome E. Classification of staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec): guidelines
1698 for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(12):4961-7.
- 1699 16. Shuping LL, Kuonza L, Musekiwa A, Iyaloo S, Perovic O. Hospital-associated methi-
1700 cillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A cross-sectional analysis of risk factors in South
1701 African tertiary public hospitals. *PLoS One.* 2017;12(11):e0188216.
- 1702 17. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health
1703 care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting.
1704 *Am J Infect Control.* 2008;36(5):309-32.
- 1705 18. Zurita J, Mejia C Fau - Guzman-Blanco M, Guzman-Blanco M. Diagnosis and suscep-
1706 tibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. (1678-4391
1707 (Electronic)).
- 1708 19. Institute C, Standards L. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test-
1709 ing. 2016.
- 1710 20. Ardic N, Sareyyupoglu B, Ozyurt M, Haznedaroglu T, Ilga U. Investigation of amino-
1711 glycoside modifying enzyme genes in methicillin-resistant staphylococci. *Microbiol Res.*
1712 2006;161(1):49-54.
- 1713 21. Boye K, Bartels MD, Andersen IS, Moeller JA, Westh H. A new multiplex PCR for
1714 easy screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* SCCmec types I–V. *Clinical*
1715 *Microbiology and Infection.* 2007;13(7):725-7.
- 1716 22. Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V staphy-
1717 lococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase,
1718 *ccrC*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(7):2637-51.
- 1719 23. Jarraud S, Mougel C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F, et al. Relationships
1720 between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles),
1721 and human disease. *Infect Immun.* 2002;70(2):631-41.
- 1722 24. Kim CH, Khan M, Morin DE, Hurley WL, Tripathy DN, Kehrl M, et al. Optimization
1723 of the PCR for detection of *Staphylococcus aureus* nuc gene in bovine milk. *J Dairy Sci.*
1724 2001;84(1):74-83.
- 1725 25. van Duijkeren E, Schink AK, Roberts MC, Wang Y, Schwarz S. Mechanisms of Bac-
1726 terial Resistance to Antimicrobial Agents. *Microbiology spectrum.* 2018;6(1).
- 1727 26. Heckel M, Geißdörfer W, Herbst FA, Stiel S, Ostgathe C, Bogdan C. Nasal carriage of
1728 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at a palliative care unit: A prospective
1729 single service analysis. *PLoS One.* 2017;12(12):e0188940.
- 1730 27. Samutela MT, Kalonda A, Mwansa J, Lukwesa-Musyani C, Mwaba J, Mumbula EM,
1731 et al. Molecular characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) iso-
1732 lated at a large referral hospital in Zambia. *Pan Afr Med J.* 2017;26:108.

- 1733 28. Masaisa F, Kayigi E, Seni J, Bwanga F, Muvunyi CM. Antibiotic Resistance Patterns
1734 and Molecular Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Clinical
1735 Settings Study in Rwanda. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2018.
- 1736 29. Moosavian M, Shahin M, Navidifar T, Torabipour M. Typing of staphylococcal cas-
1737 sette chromosome mec encoding methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates in
1738 Ahvaz, Iran. New microbes and new infections. 2018;21:90-4.
- 1739 30. Wang CY, Wang YC, Yang YS, Chang CY, Chen KY, Lai JJ, et al. Microbiological
1740 features, clinical characteristics and outcomes of infective endocarditis in adults with and
1741 without hemodialysis: A 10-year retrospective study in Northern Taiwan. Journal of microbi-
1742 ology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi. 2018.
- 1743 31. Romanelli RM, Anchieta LM, Mourao MV, Campos FA, Loyola FC, Mourao PH, et
1744 al. Risk factors and lethality of laboratory-confirmed bloodstream infection caused by non-
1745 skin contaminant pathogens in neonates. Jornal de pediatria. 2013;89(2):189-96.
- 1746 32. Washam MC, Ankrum A, Haberman BE, Staat MA, Haslam DB. Risk Factors for
1747 *Staphylococcus aureus* Acquisition in the Neonatal Intensive Care Unit: A Matched Case-
1748 Case-Control Study. Infection control and hospital epidemiology. 2018;39(1):46-52.
- 1749 33. Abbasian S, Farahani NN, Mir Z, Alinejad F, Haeili M, Dahmardehei M, et al. Geno-
1750 typic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from a burn centre by using agr, spa
1751 and SCCmec typing methods. New microbes and new infections. 2018;26:15-9.
- 1752 34. Rokney A, Baum M, Ben-Shimol S, Sagi O, Anuka E, Agmon V, et al. Dissemination
1753 of the Methicillin Resistance *Staphylococcus Aureus* Pediatric Clone (ST5-T002-IV-PVL+)
1754 as a Major Cause of Community Associated Staphylococcal Infections in Bedouin Children,
1755 Southern Israel. The Pediatric infectious disease journal. 2018.
- 1756 35. Harada D, Nakaminami H, Miyajima E, Sugiyama T, Sasai N, Kitamura Y, et al.
1757 Change in genotype of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) affects the antibi-
1758 ogram of hospital-acquired MRSA. Journal of infection and chemotherapy : official journal of
1759 the Japan Society of Chemotherapy. 2018;24(7):563-9.
- 1760
- 1761
- 1762
- 1763
- 1764
- 1765
- 1766
- 1767
- 1768
- 1769
- 1770
- 1771
- 1772
- 1773

1774

1775

1776 **Table 1.** Sequence of oligonucleotides used for the molecular characterization MRSA strains.

Gene			bp	Referênci
	F	CTTACTTACTGCTGTACCTG	64	(20)
	R	ATCTCGCTTGTTGTGTGC		
<i>nucA</i>	F	GCGATTGATGGTGATACGGTT	27	(24)
	R	AGCCAAGCCTTGACGA ACTAAAGC		
<i>mecA</i>	F	AGAAGATGGTATGTGGAAGTTAG	58	(9)
	R	ATGTATGTGCGATTGTATTGC		
SCC <i>me</i>	F beta	ATTGCCTTGATAATAGCCYTCT	93	(22)
	R alfa 3	TAAAGGCATCAATGCACAAACACT		
	F <i>ccrC</i>	CGTCTATTACAAGATGTTAAGGATAAT	51	(22)
	R <i>ccrC</i>	CCTTTATAGACTGGATTATTCAAAAATAT		
	F 1272	GCCACTCATAACATATGGAA	41	(21-22)
	R 1272	CATCCGAGTGAAACCCAAA		
	F	TATACCAAACCCGACA ACTAC	35	(21-22)
	R	CGGCTACAGTGATAACATCC		
<i>Pvl</i>	F	ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGAT	43	(23)
<i>lukF</i>	R	GCATCAAGTGTATTGGATAGCAAAAAGC		

1777 **Abbreviations:** F (Forward), R (Reverse), bp (base pair).

1778

1779

1780

1781

1782

1783

1784

1785

1786

1787 **Table 2.** Antimicrobial susceptibility profile of MRSA strains isolated during the period of study.

Class	Antimicrobials	Resistant	Sensitive	Intermediary	Resistant	
					CA-MRSA	HA-MRSA
Penicillin	Ampicillin	30 (100%)	-	-	5 (17%)	25 (83%)
	Oxacillin					
	Penicillin G					
Lincosamides	Clindamycin	12 (40%)	18 (60%)	-	3 (25%)	9 (75%)
Aminoglycosides	Gentamicin	15 (50%)	14 (46,6%)	1 (3,4%)	2 (13,4%)	13 (86,6%)
Ansamycins	Rifampin	6 (20%)	24 (80%)	-	1 (16,7%)	5 (83,3%)
Sulfonamides	Trimethoprim+	14 (46,6%)	16 (53,3%)	-	1 (7,1%)	13 (92,9%)
	sulfamethoxazol					
Tetracycline	Tetracycline	6 (20%)	23 (76,6%)	1 (3,4%)	2 (33,3%)	4 (66,6%)
Streptogramins	Quinupristin+	1 (3,3%)	27 (90%)	2 (6,7%)	1 (100%)	-
	dalfopristin					
Glycopeptides	Vancomycin	-	30 (100%)	-	-	-
Oxazolidones	Linezolid	-	30 (100%)	-	-	-
Cyclic lipopeptide	Daptomycin	-	30 (100%)	-	-	-
Macrolids	Erithromycin	18 (60%)	9 (30%)	3 (10%)	4 (22,2%)	12 (66,6%)

1788 **Abbreviations:** CA-MRSA (community acquired), HA-MRSA (hospital acquired).

1789 **Table 3.** Characterization molecular MRSA strains isolated from 30 patients hospitalized in a tertiary public hospital in Dourados.

Pacien t	Ward	Age/ sex	Culture site	Sourc e	<i>mec</i> A	<i>fem</i> A	<i>nuc</i> A	SCC <i>me</i> <i>c</i>	<i>Pv</i> <i>l</i>	Outcome
26	N2	75Y/M	Urine	CA	+	+	+	IV	-	Discharge
101	SC	27Y/F	Peritoneal fluid	HA	+	-	+	I	-	Discharge
126	ICU NEO	10D/M	Blood	HA	+	+	+	I	-	Discharge
127	ICU NEO	6D/F	Blood	CA	+	+	+	IV	-	Discharge
131	ICU NEO	28D/F	Blood	HA	+	+	+	IV	+	Discharge
135	ICU NEO	28D/M	Blood	CA	+	+	+	I	+	Discharge
136	PED	2Y/M	Tracheal aspirates	HA	+	-	+	IV	+	Discharge
139	ICU NEO	15D/F	Blood	HA	+	+	+	IV	+	Discharge
140	N3	81Y/F	Blood	HA	+	+	+	IV	+	Death
143	ICU NEO	15D/M	Blood	HA	+	+	+	IV	+	Discharge
146	ICU	65Y/M	Tracheal aspirates	HA	+	+	+	I	+	Death
148	ICU NEO	28D/M	Blood	HA	+	+	+	IV	+	Discharge

149	ICU	58Y/F	Catheter tip	HA	+	+	+	I	+	Discharge
155	ICU NEO	15D/M	Blood	HA	+	+	+	V	+	Discharge
156	ICU NEO	3D/F	Blood	HA	+	+	+	I	+	Discharge
165	ICU	65Y/M	Blood	CA	+	+	+	V	+	Discharge
167	ICU NEO	15D/M	Blood	HA	+	-	+	IV	+	Discharge
170	ICU NEO	28D/F	Blood	HA	+	-	+	IV	+	Discharge
175	ICU	57Y/M	Tracheal aspirates	HA	+	-	+	V	-	Discharge
176	ICU PED	8Y/M	Tracheal aspirates	HA	+	+	+	IV	+	Discharge
181	ICU NEO	15D/F	Blood	HA	+	+	+	V	+	Discharge
184	ICU NEO	12D/M	Blood	HA	+	-	+	IV	-	Discharge
195	F. AID	25Y/F	Urine	CA	+	-	+	IV	-	Discharge
202	ICU NEO	10D/M	Blood	HA	+	-	+	IV	+	Discharge
213	ICU NEO	15D/M	Blood	HA	+	-	+	IV	-	Death
259	ICU NEO	28D/F	Blood	HA	+	-	+	III	-	Discharge
260	ICU NEO	10D/F	Blood	HA	+	-	+	I	+	Discharge

261	F. AID	22Y/M	Skin	CA	+	-	+	I	-	Discharge
266	N4	75Y/M	Catheter tip	HA	+	-	+	I	-	Discharge
270	ICU	76Y/F	Wound surgery	CA	+	-	+	I	-	Discharge

1790**Abbreviation:** N 2,3,4 (nursery 2,3,4), SC (surgery Center), ICU PED (ICU pediatric), PED (pediatrics), ICU (ICU adult), F.AID (first aid), ICU NEO (ICU neonatal), Y (years), 1791D (days), F (female), M (male), CA (community acquired), HA (hospital acquired).

1792

1793

1794

1795

1796

1797

1798 **Table 4:** Clinical features associated with acquisition of MRSA bloodstream infection in neonate patients.

1799

Characterists	Case patients (n = 17)	Control patients (n = 34)	P
Neonateweight			
Low weight	5 (29,41)	9 (26,47)	0,82
Very low weight	2 (11,76)	2 (5,88)	0,46
Extreme low weight	2 (11,76)	2 (5,88)	0,46
Comorbidities			
Bronchopulmonary dysplasia	1 (5,88)	0	0,15
Hyaline membrane syndrome	9 (52,94)	4 (11,76)	<0,01
Hypoglycemia	1(5,88)	1(2,94)	0,61
Icterus	2 (11,76)	6 (17,65)	0,58
Meconium aspiration syndrome	1 (5,88)	0	0,15
Neonatal Anoxia	3 (17,65)	4 (11,76)	0,56
Neonatal pneumonia	2 (11,76)	7 (20,59)	0,43
Hospitalization			
Prenatal	10 (58,82)	17 (50)	0,55

Prematurity (GA<37 weeks)	10 (58,82)	13 (38,23)	0,16
Prolonged hospitalization	8 (47,05)	8 (23,52)	0,09
Surgical procedure	2 (11,76)	6 (17,65)	0,58
Use of antimicrobials			
Aminoglycosides	9 (52,94)	12 (35,29)	0,22
β -lactam (penicilins/ β -lactamaseinhibitors)	10 (58,82)	28 (82,35)	0,06
Glycopeptides	6 (35,29)	13(32,24)	0,83
Metronidazole	3 (17,65)	0	0,01
Lincosamines	2 (11,76)	0	0,04
Presence of device			
Nasogastric tube	2 (11,76)	10 (29,41)	0,16
Orogastric tube	9 (52,94)	10 (29,41)	0,10
Mechanical ventilation	6 (35,29)	15 (44,12)	0,54
Central venous catheter	4 (23,53)	15 (44,12)	0,15
Umbilical catheter	4 (23,53)	4 (11,76)	0,27

1801 6 CONCLUSÃO

1802

1803 Este estudo fornece informações relevantes sobre a vigilância de cepas de MRSA.
1804 Nossos achados demonstraram que pacientes infectados ou colonizados representam
1805 reservatórios para transmissão horizontal e disseminação de cepas multirresistentes. Os
1806 resultados obtidos demonstram uma mudança epidemiológica no perfil molecular de cepas
1807 HA-MRSA e CA-MRSA, resultando na diversificação dessas linhagens e dificultando a
1808 diferenciação entre elas. Desta forma a vigilância epidemiológica contínua é extremamente
1809 importante para prevenir infecções nosocomiais.

1810

1811

1812

1813

1814

1815

1816

1817

1818

1819

1820

1821

1822

1823

1824

1825

1826

1827

1828

1829

1830

1831

1832

1833

1834

1835 **PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA**

1836

1837