

Atualização sobre detecção laboratorial de resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus*

Update on the laboratory detection of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*

Marcelo Jenné Mimica¹

Resumo

A resistência a antimicrobianos em cepas de *Staphylococcus aureus* causando infecções nos hospitais e na comunidade tem sido crescente. A realização e interpretação adequadas de testes de susceptibilidade são vitais para garantir que medidas terapêuticas e de controle de infecção apropriadas sejam oferecidas ao paciente. No entanto, a acurada detecção de resistência às diversas drogas pode ser um desafio na rotina laboratorial, sobretudo para penicilina, oxacilina, clindamicina e vancomicina. Estes antimicrobianos são, ou foram, as principais opções terapêuticas para as infecções estafilocócicas e necessitam de testes adicionais ou específicos para o diagnóstico laboratorial acurado da resistência. Assim, neste artigo serão discutidas as recomendações atuais quanto à utilização de métodos laboratoriais para avaliação de susceptibilidade a estes antimicrobianos em *S. aureus*.

Descritores: *Staphylococcus aureus*, Resistência microbiana a medicamentos; Testes de sensibilidade microbiana

Abstract

Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from the hospital and the community is increasing. For the appropriate therapeutic and infection control measures, adequate antimicrobial susceptibility tests are paramount. However, accurate detection of resistance, mainly to penicillin, oxacillin, clindamycin and vancomycin, can be challenging. These antimicrobial agents are, or at least were, the primary therapeutic options for the treatment of staphylococcal infections and need additional or specific

tests for the accurate detection of resistance. In this article the recent recommendations for laboratory testing of these drugs will be discussed.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; Drug resistance, microbial; Microbial sensitivity tests

Introdução

As infecções estafilocócicas têm sido um problema tanto na comunidade como em hospitais. A galopante resistência a diferentes antimicrobianos tem dificultado sobremaneira as opções terapêuticas. Nesse panorama, a realização adequada de testes de susceptibilidade a essas drogas é vital para garantir o adequado tratamento dessas infecções.

Merecem destaque especial nessa discussão a penicilina, a oxacilina, a clindamicina e a vancomicina, por serem, ou terem sido, as principais opções terapêuticas para as infecções estafilocócicas e por necessitarem de testes adicionais ou específicos para o diagnóstico laboratorial acurado da resistência.

Resistência à penicilina

No início da década de 40, após introdução da penicilina, o prognóstico dos pacientes com infecções estafilocócicas sofreu avanço considerável⁽¹⁾. No entanto, já em 1942 foram descritas cepas de *S. aureus* resistentes a este antimicrobiano⁽²⁾. A resistência à penicilina foi reconhecida e cresceu antes em cepas hospitalares e depois na comunidade, sendo que, atualmente, a esmagadora maioria dos *S. aureus* que causam infecção ou simplesmente colonizam humanos são resistentes à penicilina⁽³⁾.

Os beta-lactâmicos, incluindo as penicilinas, agem impedindo a síntese da parede celular através da ligação e inibição das penicillin-binding proteins (PBPs), que agem como transpeptidases, incorporando os precursores peptídicos à parede em formação. A resistência dos *S. aureus* à oxacilina se dá através da produção de beta-lactamases, que são enzimas predominantemente extracelulares que possibilitam a hidrólise do anel beta-lactâmico, não só na penicilina

1. Professor Assistente da Faculdade de Ciência Médicas da Santa Casa de São Paulo. Departamentos de Ciências Patológicas e Pediatria

Trabalho realizado: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamentos de Ciências Patológicas e de Pediatria e Puericultura

Endereço para correspondência: Marcelo Jenne Mimica. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ciências Patológicas - Disciplina de Microbiologia. Rua Dr. Cesário Motta Jr, 112 – Vila Buarque – 01221-020 – São Paulo – SP – Brasil. E-mail: mjmimica@hotmail.com

como em outros antimicrobianos beta-lactâmicos suscetíveis à hidrólise, incluindo as aminopenicilinas⁽²⁾. A produção de beta-lactamases no *S. aureus* é codificada pelo gene *blaZ*, que é parte de um elemento transposível localizado em um plasmídeo⁽¹⁾.

Para detecção laboratorial da resistência pode ser utilizado, inicialmente, o teste de disco-difusão. Em caso de sensibilidade, antes de liberado o resultado deve ser confirmado com um teste de produção de beta-lactamase. Apesar dos testes com nitrocefina poderem ser realizados, o teste recém recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) como sendo de escolha para essa avaliação é o teste do limite (borda) da zona de inibição com o disco de penicilina (*penicillin disk diffusion zone edge test*). As cepas produtoras de beta-lactamase produzem um limite nítido, enquanto as que não produzem, e que portanto, podem ser classificadas como sensíveis, têm limites de zona de inibição pouco nítidos. O European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing também recomenda essa avaliação^(4,5). É possível também realizar a detecção do gene *blaZ* por reação em cadeia pela polimerase (PCR), o que não é realizado de rotina por razões práticas e de custo.

A resistência à penicilina deve ser também utilizada como preditiva da resistência a outras penicilinas sensíveis à penicilinase, incluindo ampicilina, amoxicilina, azlocilina, carbenicilina, mezlocilina, ticarcilina e piperacilina.

Resistência à oxacilina

No fim da década de 1950, o isolamento do ácido 6-amino-penicilânico tornou possível a produção de penicilinas semi-sintéticas, incluindo agentes resistentes à ação hidrolítica das beta-lactamases. Os primeiros disponíveis para uso clínico foram a oxacilina e a metilicina, que solucionaram temporariamente o problema causado pela resistência do *S. aureus* à penicilina. No entanto, o uso destes agentes foi rapidamente seguido pelo surgimento de cepas resistentes⁽²⁾. Desde então as taxas de resistência do *S. aureus* à oxacilina aumentaram vertiginosamente nos hospitais^(1,2,6,7).

A partir dos anos 1990, começaram os relatos de infecções por *S. aureus* resistentes à oxacilina associados à comunidade (CA-MRSA: community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) em pacientes sem fatores de risco identificáveis para aquisição de MRSA, ou seja, não tinham contato frequente, direto ou indireto com serviço de saúde que pudesse explicar a infecção por MRSA associado aos cuidados de saúde (HCA-MRSA: health-care associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)⁽⁷⁻¹⁰⁾. Os CA-MRSA já foram descritos em várias regiões do globo, entre elas o Brasil^(11,12).

O principal mecanismo de resistência à oxacilina no *S. aureus* requer a presença de um gene localizado no cromossomo, o gene *mecA*¹. Este gene é responsável pela síntese das PBP2a (*penicillin-binding protein 2a*, também chamada PBP2'), que substitui as outras PBPs, e que têm baixa afinidade não só para a oxacilina como também para os outros beta-lactâmicos⁽¹³⁾. O *mecA* faz parte de uma ilha genômica de resistência chamada SCC*mec* (staphylococcal cassette chromosome *mec*), classificado atualmente em 11 tipos. Tais regiões podem conter também outros genes de resistência a antimicrobianos⁽¹⁾. Enquanto os HCA-MRSA carregam SCC*mec* dos tipos I a III, os CA-MRSA estão mais associados aos tipos IV e V, que são elementos genéticos menores e mais móveis que os outros. Estes tipos carregam menos genes determinantes de resistência que os do tipo I, II e III. Assim os CA-MRSA caracteristicamente mostram resistência apenas aos beta-lactâmicos, enquanto os HCA-MRSA tendem a ser multirresistentes^(14,15).

Além disso, existe um fator de virulência que tem sido identificado em grande parte dos CA-MRSA, que é a leucocidina de Panton-Valentine (PVL). A presença dos genes determinantes da produção desta leucocidina no *Staphylococcus aureus* está relacionada a infecções muito graves e com alta letalidade, incluindo pneumonia necrotizante e, principalmente, infecções de pele e partes moles⁽¹⁶⁾. Atualmente existe discussão na literatura sobre se a PVL é realmente um fator de virulência importante nas infecções estafilocócicas ou apenas um marcador da presença de outros fatores de virulência, a depender do sítio de infecção⁽¹⁷⁾. É importante lembrar que recentemente tem se relatado os típicos clones de MRSA associados à comunidade (SCC*mec* tipo IV) como causa de infecções associadas aos cuidados de saúde^(12,18-20).

Diferentes métodos laboratoriais têm sido utilizados para a detecção da resistência à oxacilina no *Staphylococcus aureus*. Essa detecção muitas vezes pode ser difícil, principalmente devido ao fenômeno da heteroresistência. Alguns métodos baseiam-se em modificações na tentativa de aumentar a expressão da resistência à oxacilina, incluindo incubação a 33-35°C ao invés de 37°C, incubação por 24 horas, ao invés de 16-18 horas, e adição de cloreto de sódio ao meio de cultura^(21,22).

Testes de susceptibilidade à oxacilina utilizados na rotina laboratorial incluem diluição em caldo, método do Etest®, ou teste de gradiente de difusão em agar, placa de *screening* com oxacilina, que baseia-se na inoculação das cepas isoladas em meio contendo oxacilina, meios cromogênicos, em que o crescimento de colônias com coloração específica permite a avaliação presuntiva não só da espécie como de susceptibilidade ao antimicrobiano, e métodos automatizados. Além

disso, é possível detectar por PCR o gene *mecA* ou o produto de sua expressão, a PBP2a, por métodos imunológicos⁽²³⁾.

Apesar dessas várias opções, o teste historicamente mais utilizado, pela praticidade e baixo custo, tem sido o teste de disco-difusão. Até meados da década passada, o teste com oxacilina era o teste de escolha. No entanto, diversos autores demonstraram a boa acurácia do teste de disco-difusão com cefoxitina para prever resistência à oxacilina, provavelmente por indução mais potente da expressão do gene *mecA*⁽²³⁻²⁵⁾. Assim, em 2006 o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) incorporou esse teste em suas recomendações, sendo que em 2007 houve ainda uma modificação nos pontos de corte com o objetivo de aumentar a sensibilidade do método^(4,26,27). O teste com cefoxitina foi também logo incorporado pelo EUCAST⁽⁵⁾.

A despeito do teste utilizado, é inegável que os testes fenotípicos para detecção de resistência à oxacilina têm limitações em termos de acurácia. Mesmo os testes de detecção de PBP2a ou *mecA* não são 100% acurados, já que existem outros mecanismos de resistência à oxacilina descritos em *S. aureus* (superprodução de betalactamases e produção de PBPs habituais – que não a PBP2a-, mas com graus variados de afinidade pelos betalactâmicos)⁽²⁸⁻³⁰⁾. Assim, talvez seja necessário, no caso de cepas isoladas de sítios estéreis, lançar mão de mais de um método concomitantemente. Uma opção seria a utilização tanto do disco de oxacilina como de cefoxitina. Se qualquer um dos resultados demonstrar resistência, a cepa deve ser relatada pelo laboratório como resistente.

É importante lembrar que os estafilococos resistentes à oxacilina devem ser relatados como também resistentes a outros beta-lactâmicos (penicilinas, carbapenêmicos, cefalosporinas e combinações de beta-lactâmicos com inibidores de betalactamases), independente dos resultados dos testes *in vitro* com esses antimicrobianos, visto que o mecanismo de resistência é o mesmo e testes *in vitro* com esses antimicrobianos têm menor acurácia como preditivos da presença do gene *mecA* do que os testes com oxacilina ou cefoxitina^(4,21,31). A exceção são alguns novos beta-lactâmicos, a exemplo da ceftarolina e do ceftobiprole, que apresentam alta afinidade pela PBP2a.

Resistência à clindamicina

O grupo de antimicrobianos conhecido como MLS (macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas) exerce sua atividade antibacteriana ligando-se à subunidade ribossômica 50S, inibindo a síntese protéica. Existem dois mecanismos descritos de resistência do *S. aureus* a este grupo de antimicrobianos. O primeiro ocorre

por alteração ribossômica através de rRNA metilases. Estas metilases são mediadas primariamente por três genes diferentes que podem ser encontrados em plasmídeos ou no cromossomo, *ermA*, *ermB* ou *ermC*. Esta alteração ribossômica dificulta a ligação destes antimicrobianos em seu sítio de ação, e pode ocorrer de forma constitutiva ou induzível². O segundo mecanismo de resistência ao grupo é mediado pelo gene *msrA* e envolve efluxo ativo do agente antimicrobiano através de bomba ATP-dependente, mantendo o mesmo em concentrações intracelulares suficientemente baixas para evitar sua ligação no sítio de ação. Esse mecanismo, no entanto, não confere resistência à clindamicina^(2,13).

A detecção acurada da resistência à clindamicina é, mais do que nunca, vital, já que esse antimicrobiano tornou-se a principal opção terapêutica para o tratamento das infecções por CA-MRSA e, mesmo entre esses novos clones, as taxas de resistência ao mesmo são crescentes³². Para isso, é necessário fazer uso do denominado D-teste, que consiste em testar eritromicina e clindamicina por disco-difusão, colocando os discos com uma distância entre eles de 15 a 26 mm. O teste permite diferenciar os casos de resistência induzível mediada por gene *erm* (em que, se não realizado o D-teste, o teste de disco-difusão com clindamicina poderia ter resultado sensível) dos casos de resistência à eritromicina isoladamente, mediada pelo *msrA*^(4,5).

Apesar da recomendação de realização universal do teste, é importante notar que, infelizmente, o teste não é feito com tamanha frequência. Dados americanos demonstram isso com clareza⁽³³⁾, e, em nosso meio, não é esperado que a adesão à recomendação seja muito maior.

Resistência à vancomicina

Para os HCA-MRSA, a opção tem sido, nas últimas décadas, os glicopeptídeos, principalmente a vancomicina. Essa classe de antimicrobianos se liga à terminação D-ala-D-ala dos precursores peptídicos, impedindo sua incorporação na parede celular em síntese. Em 1996 foi identificado no Japão a primeira cepa de *S. aureus* com susceptibilidade reduzida à vancomicina (VISA: vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*)⁽³⁴⁾ e em 2002 o primeiro *S. aureus* com resistência plena à vancomicina (VRSA: vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*)⁽³⁵⁾. Os mecanismos de resistência são distintos. A resistência intermediária (VISA) ocorre, devido à maior liberação na parede celular de resíduos de peptídeoglicanos que se ligam à vancomicina, impedindo a ligação com os verdadeiros precursores da parede celular. Além disso, ocorre síntese aumentada de peptídeoglicanos, o que resulta em parede celular mais espessa e irregular. Já

a resistência plena (VRSA) é mediada por um gene plasmidial denominado *vanA*, que determina alteração da região terminal dos peptidoglicanos precursores da parede celular, de D-ala-D-ala para D-ala-D-lac, impedindo a ligação da vancomicina com os precursores e portanto prevenindo a inibição da síntese da parede celular pela vancomicina^(1,36).

Quanto aos métodos laboratoriais para detecção de resistência, o CLSI modificou seus critérios para avaliação da susceptibilidade *in vitro* à vancomicina em *Staphylococcus aureus* em 2006⁽²⁶⁾. Os novos pontos de corte de concentração inibitória mínima (CIM), uma diluição reduzidos em relação aos anteriores, refletiram evidências clínicas de má resposta terapêutica em casos de cepas com CIM ≥ 4 mg/L^(37,38). Desde então, são consideradas sensíveis as cepas com CIM ≤ 2 mg/L, resistentes (VRSA) aquelas com CIM ≥ 16 mg/L e resistentes intermediárias (VISA) as com CIM entre 4 e 8 mg/L. É importante lembrar que o teste de disco-difusão não tem sido recomendado para a detecção de resistência à vancomicina, já que não apresenta boa acurácia para tal, principalmente na faixa de resistência intermediária, sendo necessário um teste que avalie a CIM (o teste padrão é a microdiluição)⁽⁴⁾. Os pontos de corte de CIM do EUCAST também consideram sensíveis as cepas com CIM ≤ 2 mg/L. Além disso, este comitê também não indica a utilização do teste de disco-difusão, pelos mesmos motivos acima expostos⁽⁵⁾.

Entre as subpopulações de *S. aureus* sensíveis à vancomicina, tem sido notada, em alguns centros, uma tendência de aumento gradual das CIMs de vancomicina. A esse fenômeno conferiu-se o nome de *MIC creep*. É importante lembrar que o mesmo não tem sido descrito de forma universal, sendo que há também relatos de estabilidade e até de redução gradual das CIMs⁽³⁸⁾. Quando dados de diversos centros são agrupados, como no programa SENTRY, essas tendências tendem a se neutralizar^(39,40). Essas variações se devem, provavelmente, a diferenças clínico-epidemiológicas entre as populações de pacientes estudadas. As taxas de *S. aureus* resistentes à oxacilina associados à comunidade (CA-MRSA) podem ser, por exemplo, um fator, já que estes têm uma tendência histórica de apresentar menores CIMs de vancomicina quando comparados aos *S. aureus* resistentes à oxacilina associados aos cuidados de saúde (HCA-MRSA). Outro fator potencialmente importante é o viés de publicação, decorrendo do fato de centros que detectaram elevação das CIM de vancomicina tenderem a relatar mais frequentemente seus achados na literatura do que centros em que não houve tal elevação⁽³⁸⁾.

As infecções causadas por *S. aureus* com maiores CIMs, mesmo aquelas ≤ 2 mg/L, que são classificadas pelos critérios atuais como sensíveis, têm sido asso-

ciadas com pior prognóstico⁽⁴¹⁾. É importante notar que CIMs mais elevadas de vancomicina têm sido descritas tanto em MRSA como em *S. aureus* sensíveis à oxacilina (MSSA)^(42,43), e que infecções por MSSA com maiores CIMs para vancomicina foram associadas a maior mortalidade mesmo com o uso de oxacilina⁽⁴³⁾. As alterações fenotípicas que ocorrem em células VISA, incluindo, mas não limitadas, a espessamento da parede celular, parecem dificultar a ação de outros antimicrobianos, a exemplo dos beta-lactâmicos e também da daptomicina⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾.

Esses resultados devem ser avaliados com cuidado, pois há alguns complicadores importantes em sua interpretação. Clonalidade e heteroresistência à vancomicina são fatores que devem ser considerados. Outro problema é que a heterogeneidade entre os estudos é grande, havendo marcada variação entre eles quanto à mortalidade, às taxas de CIM elevadas, e ao método de susceptibilidade utilizado^(38,41). Existe diferença significativa entre os valores de CIM fornecidos por métodos automatizados, microdiluição ou Etest®. Enquanto os automatizados tendem a subestimar os valores em relação ao método de microdiluição, considerado padrão, o Etest® tende a superestimá-los^(38,46).

Além disso, outras evidências recentes da literatura parecem apontar para o lado oposto⁴⁸, não demonstrando qualquer correlação entre mortalidade e CIM para vancomicina, independentemente da avaliação ter sido feita por Etest® ou por microdiluição.

Assim, para tomar as devidas decisões terapêuticas, é necessário que sejam levados em conta, além da CIM, outros parâmetros importantes, sendo o principal a resposta clínica do paciente ao tratamento^(32,49).

Conclusão

Diante dos diferentes mecanismos e das crescentes taxas de resistência aos antimicrobianos no *S. aureus*, é vital que sejam utilizados testes de susceptibilidade acurados e de maneira adequada.

Referências Bibliográficas

1. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest 2003;111:1265-73.
2. Maranan MC, Moreira B, Boyle-Vavra S, Daum RS. Antimicrobial resistance in *Staphylococci*: Epidemiology, molecular mechanisms and clinical relevance. Infect Dis Clin N Am 1997;11:813-49.
3. Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*. Lancet Infect Dis 2002;2:180-9.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement, M100-S22. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
5. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

- Clinical Breakpoints 2012. Disponível em http://www.eucast.org/clinical_breakpoints. Acessado em 12/06/2012.
- Belkum A, Verbrugh H. 40 years of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. MRSA is here to stay-but it can be controlled [editorial]. Br Med J 2001;323:644-5.
 - Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerg Infect Dis 2001;7:178-82.
 - Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Gaskin RE, Boyle-Vavra S, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. JAMA 1998;279:593-8.
 - Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*- Minnesota and North Dakota, 1997-1999. Morb Mortal Wkly Rep 1999;48:707-10.
 - Gorak EJ, Yamada SM, Brown JD. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized adults and children without known risk factors. Clin Infect Dis 1999;29:797-800.
 - Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, Berquó L, Ferreira FA, Santos RNS, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. J Clin Microbiol 2005;43:1985-8.
 - Mimica MJ, Berezin EN, Carvalho RB. Healthcare associated PVL negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type IV. Pediatr Infect Dis J 2009 Oct;28:934.
 - Schito GC. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect 2006;12(Supl. 1):3-8.
 - Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, et al. Comparison of community and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. JAMA 2003;290:2976-84.
 - Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, Sanza LT, Como-Sabetti K, Jernigan JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in three communities. N Engl J Med 2005;352:1436-44.
 - Chambers HF. Community-associated MRSA-resistance and virulence converge. N Engl J Med 2005;352:1485-7.
 - Mimica MJ. Pantón-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* skin infections. Clin Infect Dis 2012;54:1517-8.
 - Trindade PA, Pacheco RL, Costa SF, Rossi F, Barone AA, Mami-zuka EM, et al. Prevalence of SCCmec type IV in nosocomial bloodstream isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2005;43:3435-37.
 - Gonzalez BE, Rueda AM, Shelburne SA 3rd, Musher DM, Hamill RJ, Hulten KG. Community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as the cause of healthcare-associated infection. Infect Control Hosp Epidemiol 2006;27:1051-6.
 - Mimica MJ, Berezin EN, Damaceno N, Carvalho RB. SCCmec Type IV, PVL-Negative, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Cystic Fibrosis Patients from Brazil. Curr Microbiol 2011;62:388-90.
 - Chambers HF. Methicillin resistance in *Staphylococci*: Molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev 1997;10:781-91.
 - Felten A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system and the MRSA-screen latex agglutination test. J Clin Microbiol 2002;40:2766-71.
 - Mimica MJ, Mendes CMF. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. J Bras Patol Med Lab 2007;43:399-406.
 - Mimica MJ, Berezin EN, Carvalho RL, Mimica IM, Mimica LM, Sáfadi MA, et al. Detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from pediatric patients: is the cefoxitin disk diffusion test accurate enough? Braz J Infect Dis 2007;11:415-7.
 - Broekema NM, Van TT, Monson TA, Marshall SA, Warshauer DM. Comparison of cefoxitin and oxacillin disk diffusion methods for detection of mecA-mediated resistance in *Staphylococcus aureus* in a large-scale study. J Clin Microbiol 2009;47:217-9.
 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, sixteenth informational supplement, M100-S16. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, seventeenth informational supplement, M100-S17. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
 - Hackbarth CJ, Kocagoz T, Kocagoz S, Chambers HF. Point mutations in *Staphylococcus aureus* PBP 2 gene affect penicillin-binding kinetics and are associated with resistance. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:103-6.
 - McDougal LK, Thornsberry C. The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. J Clin Microbiol 1986;23:832-9.
 - Tomasz A, Drugeon HB, de Lencastre HM, Jabes D, McDougall L, Bille J. New mechanism for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: clinical isolates that lack the PBP 2a gene and contain normal penicillin-binding proteins with modified penicillin-binding capacity. Antimicrob Agents Chemother 1989;33:1869-74.
 - Velasco D, Tomas MM, Cartelle M, Beceiro A, Perez A, Molina F, et al. Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 2005;55:379-82.
 - Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. Clin Infect Dis 2011;52:e18-55.
 - Patra KP, Vanchiere JA, Bocchini JA Jr. Adherence to CLSI recommendations for testing of *Staphylococcus aureus* isolates in Louisiana hospitals: report of a clinical failure and results of a questionnaire study. J Clin Microbiol 2011;49:3019-20.
 - Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother 1997;40:135-6.
 - Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. N Engl J Med 2003;348:1342-7.
 - Tenover FC. The real vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* has arrived. Clin Microbiol Newslett 2005;27(5):35-40.
 - Tenover FC, Moellering RC Jr. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2007;44:1208-15.
 - Dhand A, Sakoulas G. Reduced vancomycin susceptibility among clinical *Staphylococcus aureus* isolates ('the MIC Creep'): implications for therapy. F1000 Med Rep. 2012;4:4.
 - Jones RN. Microbiological features of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains. Clin Infect Dis. 2006, 42(Suppl 1):S13-24.
 - Sader HS, Fey PD, Limaye AP, Madinger N, Pankey G, Rahal J, et al. Evaluation of vancomycin and daptomycin potency trends (MIC creep) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected in nine U.S. medical centers from 2002 to 2006. Antimicrob Agents Chemother 2009;53:4127-32.

41. van Hal SJ, Lodise TP, Paterson DL. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis. 2012;54:755-71.
42. Wang G, Hindler JF, Ward KW, Bruckner DA. Increased vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* clinical isolates from a university hospital during a 5-year period. J Clin Microbiol. 2006;44:3883-6.
43. Holmes NE, Turnidge JD, Munckhof WJ, Robinson JO, Korman TM, O'Sullivan MV, et al. Antibiotic choice may not explain poorer outcomes in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia and high vancomycin minimum inhibitory concentrations. J Infect Dis. 2011;204:340-7.
44. Sakoulas G, Alder J, Thauvin-Eliopoulos C, Moellering RC Jr, Eliopoulos GM. Induction of daptomycin heterogeneous susceptibility in *Staphylococcus aureus* by exposure to vancomycin. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:1581-5.
45. Aguado JM, San-Juan R, Lalueza A, Sanz F, Rodríguez-Otero J, Gómez-Gonzalez C, et al. High vancomycin MIC and complicated methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. Emerg Infect Dis. 2011;17:1099-102.
46. Mimica MJ. Reduced susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 2011;17:2083-4.
47. Chong YP, Park SJ, Kim HS, Kim ES, Kim MN, Kim SH, et al. In vitro activities of ceftobiprole, dalbavancin, daptomycin, linezolid, and tigecycline against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates: stratified analysis by vancomycin MIC. Diagn Microbiol Infect Dis. 2012;73:264-6.
48. Rojas L, Bunsow E, Muñoz P, Cercenado E, Rodríguez-Créixems M, Bouza E. Vancomycin MICs do not predict the outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in correctly treated patients. J Antimicrob Chemother. 2012;67:1760-8.
49. Humphries RM, Hindler JA. Should Laboratories Test Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* for elevated vancomycin minimum inhibitory concentrations by Etest as a driver of treatment changes? Clin Infect Dis. 2012;55:612-3.

Trabalho recebido: 31/08/2012

Trabalho aprovado: 27/11/2012