

Novos clones de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina circulantes na comunidade e nos hospitais

Novel clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* circulating in the community and in hospitals

Marcelo Jenné Mimica¹

Resumo

Novos clones de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina, com características moleculares e fenotípicas distintas dos clones de MRSA tradicionalmente encontrados nos hospitais, têm sido descritos com frequência cada vez maior ao redor do mundo, tanto nos hospitais como na comunidade. Vigilância constante da circulação destas cepas, assim como de seu perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, é de fundamental importância para que as corretas medidas preventivas e terapêuticas sejam tomadas.

Descritores: *Staphylococcus aureus*, Infecções estafilocócicas, Resistência à meticilina

Abstract

Novel clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, with molecular and phenotypical characteristics distinct from the traditional nosocomial MRSA, have been described with increasing frequency all over the world, both in the hospitals and in the community. Continuous surveillance of these circulating strains, as well of its antimicrobial susceptibility profile, is important to determine the appropriate preventive and therapeutic measures.

Key words: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcal infections*, *Methicillin resistance*

Introdução

Nos últimos anos têm sido descritos com cada vez mais frequência, ao redor do mundo todo, casos de infecção por *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina (MRSA) em pacientes sem fatores de risco para infecções nosocomiais. Estas infecções são causadas por novos clones de MRSA, que têm características moleculares distintas dos clones de MRSA tradicionalmente encontrados nos hospitais, como veremos abaixo.

Resistência do *S. aureus* à oxacilina: mecanismos e determinantes genéticos

A resistência à oxacilina no *S. aureus* requer a presença de um gene localizado no cromossomo, o gene *mecA* (Lowy, 2003). Este gene é responsável pela síntese das PBP2a (*penicillin-binding protein 2a*, também chamadas PBP2', que substituem as outras PBPs na membrana, e que têm baixa afinidade não só para a oxacilina como também para os outros antimicrobianos beta-lactâmicos (Schito, 2006). O *mecA* faz parte de uma ilha genômica de resistência chamada SCC*mec* (*staphylococcal cassette chromosome mec*). Estas ilhas podem conter também outros genes de resistência a antimicrobianos (Lowy, 2003).

A resistência fenotípica à oxacilina é extremamente variável, e depende da expressão do gene *mecA*. Esta variabilidade é reconhecida como heterorresistência fenotípica, e consiste em que, de toda população bacteriana heterogeneamente resistente, todas as células carregam o gene *mecA*, marcador genotípico da resistência, porém nem todas expressam fenotipicamente a resistência da mesma forma (Maranan et al, 1997). Cada cepa de MRSA tem um perfil característico da proporção de células que crescem na presença de concentrações específica de oxacilina e de diferentes condições ambientais (Maranan et al, 1997; Lowy, 2003).

Outros mecanismos (mais raros) de resistência à oxacilina que podem ocorrer incluem a hiper-produção de beta-lactamases e a produção de PBPs habituais

1. Instrutor de Ensino da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Pediatria. Médico Assistente da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Departamento de Pediatria – Setor de Infectologia Pediátrica

Trabalho realizado: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Departamento de Pediatria – Setor de Infectologia Pediátrica

Endereço para correspondência: Marcelo Jenné Mimica. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Departamento de Pediatria. Rua Cesário Motta Júnior, 112 - Santa Cecília - 01221-020 - São Paulo - SP - Brasil

(que não a PBP2a), porém com graus variados de afinidade pelos beta-lactâmicos (Tomasz et al, 1989; McDougal et al, 1986; Hackbarth et al, 1995). Estes isolados que hiper-produzem beta-lactamases ou com PBP's modificadas em geral apresentam resistência fenotípica limitrofe ou de baixo grau (Maranan et al, 1997).

Epidemiologia molecular

O advento de diversas técnicas moleculares nos últimos anos permitiu obter informações importantes sobre o processo evolutivo que levou à emergência de alguns poucos clones pandêmicos de MRSA. Uma estratégia eficiente para esta caracterização é o uso de uma ou mais de algumas técnicas com diferentes características discriminativas: 1) padrão de macrorestrição do DNA cromossômico após digestão por enzima de restrição e separação dos fragmentos por eletroforese de campos alternados (PFGE). 2) Detecção de polimorfismos no gene *mecA* com sonda específica para o gene após digestão por enzima de restrição. 3) Detecção dos padrões de inserção do transposon Tn554 (Oliveira, de Lencastre, 2002). Além disso, duas recentes técnicas baseadas em sequenciamento, MLST (*multilocus-sequencing typing*) e tipagem do *spaA*, mostram-se bastante promissoras (Shopsin et al, 1999; Enright et al, 2000).

No entanto, o método que ainda serve como padrão para a avaliação da similaridade genética entre cepas de *S. aureus* continua sendo o PFGE. A análise, sobretudo através de PFGE, de isolados coletados em estudos de vigilância, investigações de surtos e coleções armazenadas provenientes principalmente da América Latina, Europa e Estados Unidos, definiu cinco principais clones disseminados nestas áreas. Estes respondem por 68% de todos os isolados, o que demonstra que são eficientes em causar infecção, persistir, e se alastrar de um sítio geográfico a outro. As denominações destes cinco clones de MRSA (Ibérico, Brasileiro, Húngaro, Nova Iorque/Japão e Pediátrico) refletem a área geográfica em que foram originalmente identificados e/ou indicam alguma propriedade epidemiológica peculiar (Oliveira et al, 2002). O clone Brasileiro, por exemplo, foi descrito no Brasil em 1992 e depois em Portugal, Argentina, Uruguai, Chile e República Checa. Em estudo envolvendo isolados de 11 hospitais brasileiros de 1992 a 1998, 89% dos isolados pertenciam ao clone Brasileiro, sendo que os 11% restantes não eram pertencentes a nenhum outro dos cinco clones pandêmicos (Oliveira et al, 2001).

A tipagem do *SCCmec* também tem sido uma técnica molecular utilizada de forma crescente para caracterização e entendimento da epidemiologia molecular dos MRSA. Várias técnicas de tipagem já foram descritas, incluindo algumas através de PCR

multiplex, que permitem a tipagem do *SCCmec* em uma só reação de PCR (Oliveira, de Lencastre, 2002; Zhang et al, 2005).

CA-MRSA vs. HCA-MRSA

Existem algumas diferenças genéticas, clínicas e epidemiológicas entre os CA-MRSA e os *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina associados aos cuidados em saúde (HCA-MRSA: Health care associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*). Enquanto os HCA-MRSA carregam *SCCmec* dos tipos I a III, os CA-MRSA estão mais associados aos tipos IV, V e VI (Ito et al, 2004; Coombs et al, 2006). Os tipos IV, V e VI 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 e a poucas outras classes de antimicrobianos, enquanto os HCA-MRSA tendem a ser multirresistentes (Naimi et al, 2003; Fridkin et al, 2005). Por este motivo, a clindamicina tem sido utilizada como uma das principais opções terapêuticas em pacientes com infecção por CA-MRSA. No entanto, a resistência destes clones à clindamicina tem sido relatada com frequência crescente, e o sulfametoxazol-trimetoprim tem sido utilizado como alternativa eficaz na maioria dos casos (Hyun et al, 2009).

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 (Lina et al, 1999; Gillet et al, 2002; Vandenesch et al, 2003; Chambers, 2005). 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 (Labandeira-Rey et al, 2007; Bubeck Wardenburg et al, 2008).

Na América Latina, diferentes clones de CA-MRSA têm sido descritos em diversos países, com destaque para o Uruguai (Ma et al, 2005). No Brasil, CA-MRSA foi descrito pela primeira vez em 2005 por Ribeiro et al, seguido por outros relatos esporádicos (Vivoni et al, 2006; Ribeiro et al, 2007). É importante lembrar que recentemente tem se relatado os típicos clones associados à comunidade (*SCCmec* tipo IV) como causa de infecções associadas aos cuidados em saúde (Gonzalez et al, 2006), inclusive no nosso meio (Trindade et al, 2005; Mímica et al, 2009). Estes novos clones têm, ao que parece, substituído os tradicionais clones de MRSA hospitalares em diversas partes do mundo.

Comentários finais

É inegável a capacidade destes novos clones com SCCmec tipo IV de se alastrarem na comunidade e nos hospitais, muitas vezes causando infecções extremamente graves. Vigilância contínua do perfil de susceptibilidade dos SCCmec tipo IV é vital, como já evidenciado pelo aumento da resistência destas cepas à clindamicina em diversas partes do mundo. Além disso, é importante conhecer a exata importância destes clones em nosso meio, para que possamos estabelecer a terapêutica antimicrobiana empírica mais adequada, assim como as medidas de prevenção cabíveis.

Referências bibliográficas

Bubeck Wardenburg J, Palazzolo-Ballance AM, Otto M, Schneewind O, DeLeo FR. Panton-Valentine leukocidin is not a virulence determinant in murine models of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease. *J Infect Dis*. 2008; 198:1166-70.

Chambers HF. Community-associated MRSA-resistance and virulence converge. *N Engl J Med*. 2005; 352:1485-7.

Coombs GW, Pearson JC, O'Brien FG, Murray, RJ, Grubb WB, Christiansen KJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones, Western Australia. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12:241-7.

Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 2000; 38:1008-15.

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.

Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet*. 2002; 359:753-9.

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.

Hackbarth CJ, Kocagöz T, Kocagöz S, Chambers HF. Point mutation in *Staphylococcus aureus* PBP2 gene affect penicillin-binding kinetics and are associated with resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39:103-6.

Hyun DY, Mason EO, Forbes A, Kaplan SL. Trimethoprim-sulfamethoxazole or clindamycin for treatment of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. *Pediatr Infect Dis J*. 2009; 28:57-9.

Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:2637-51.

Labandeira-Rey M, Couzon F, Boisset S, Brown EL, Bes M, Benito Y, et al. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. *Science*. 2007; 315:1130-3.

Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gaudchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*. 1999;29:1128-32.

Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*. 2003;111:1265-73.

Ma XX, Galiana A, Pedreira W, Mowszowicz M, Christophersen I, Machiavello S, et al. Community-acquired methicillin-resistant

Staphylococcus aureus, Uruguay. *Emerg Infect Dis* 2005;11:973-6.

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.

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.

Mímica MJ, Berezin EN, Carvalho RB. Healthcare Associated PVL Negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type IV. *Pediatr Infect Dis J*. 2009; 28:934.

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.

Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated *mec* elements. *Microb Drug Resist*. 2001;7:349-61.

Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46:2155-61.

Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis*. 2002; 2:180-9.

Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, Berquó L, Ferreira FA, Santos RN, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1985-88.

Ribeiro A, Coronado AZ, Silva-Carvalho MC, Ferreira-Carvalho BT, Dias C, Rozenbaum R, et al. Detection and characterization of international community-acquired infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Rio de Janeiro and Porto Alegre cities causing both community- and hospital-associated diseases. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007;59:339-45.

Schito GC. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12(Supl. 1):3-8.

Shopsin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol*. 1999; 37:3556-63.

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 PBP2 a gene and contain normal penicillin binding proteins with modified penicillin-binding capacity. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989; 33:1869-74.

Trindade PA, Pacheco RL, Costa SF, Rossi F, Barone AA, Mamizuka EM, et al. Prevalence of SCCmec type IV in nosocomial bloodstream isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 2005; 43:3435-7.

Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9:978-84.

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

Zhang K, McClure J, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome *mec* types I to V in methicillin-resistant *S. aureus*. *J Clin Microbiol*. 2005; 43:5026-33.

Data de recebimento: 22/07/2009

Data de aprovação: 11/11/2009