



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

REJANE MORAES FALCÃO

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE
VANCOMICINA E OXACILINA ABORDANDO DIFERENTES MÉTODOS
LABORATORIAIS EM ISOLADOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DE
HEMOCULTURAS EM HOSPITAL TERCIÁRIO**

FORTALEZA

2024

REJANE MORAES FALCÃO

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE VANCOMICINA E
OXACILINA ABORDANDO DIFERENTES MÉTODOS LABORATORIAIS EM
ISOLADOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DE HEMOCULTURAS
EM HOSPITAL TERCIÁRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia

Orientador: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M823d Moraes Falcão, Rejane.

Determinação da concentração inibitória mínima de vancomicina e oxacilina abordando diferentes métodos laboratoriais em isolados de *Staphylococcus aureus* de hemoculturas em hospital terciário / Rejane Moraes Falcão. – 2024.
87 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio.

1. Infecção de corrente sanguínea. 2. Resistência bacteriana. 3. Concentração inibitória mínima. 4. Vancomicina. I. Título.

REJANE MORAES FALCÃO

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE VANCOMICINA E
OXACILINA ABORDANDO DIFERENTES MÉTODOS LABORATORIAIS EM
ISOLADOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DE HEMOCULTURAS EM HOSPITAL
TERCIÁRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Farmácia

Aprovada em: 17 de abril de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio (Orientador)
Universidade Federal do Ceará – (UFC)

Prof.^a Dr.^a Giovanna Riello Barbosa Correia
Universidade Federal do Ceará – (UFC)

Prof. Dr Paulo César Pereira de Sousa
Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC)

Ao meu esposo, Edimar, pelo amor, paciência,
companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por me acalantar nas lutas diárias, por nunca me fazer desistir dos meus sonhos. Com a fé sempre inabalável, apesar dos anseios que sempre nos rodeiam, nunca deixei de acreditar nessa força superior que nos faz ultrapassar nossos limites.

Ao meu esposo, Edimar, pelo amor, paciência, companheirismo, por acreditar sempre que podemos fazer o melhor e por estar ao meu lado nesta difícil jornada que é a busca e realização de sonhos.

Às minhas filhas Yanne e Isadora, que são a razão da minha vida. A elas dedico todo o meu amor, e por elas sigo tentando a cada dia ser uma pessoa melhor, tentando sempre manter o equilíbrio mental para lutar a cada dia pela felicidade da minha família. A felicidade delas é a minha fonte de força maior.

À minha mãezinha, D. Diva, minha fonte de inspiração diária. A guerreira que existe dentro desta mulher me dá a certeza de que tudo na vida é querer e ter força de vontade pra vencer.

Ao meu pai, Mariano, que onde estiver sei que eternamente torce por mim.

Ao meu padrasto Raimundo que mora grandemente em meu coração, por todo carinho e dedicação e por sempre acreditar em mim.

Ao meu falecido irmão Stênio (*in memoriam*), a sua luz e força de vontade de vencer estão em meu coração e será sempre uma fonte inspiradora. Muitas vezes nos momentos de insegurança nessa caminhada os pensamentos lembrando-me de você em sala de aula enchendo seus alunos de conhecimentos me erguiam e me enchiam de forças novamente. Tenho você eternamente em meu coração.

Aos meus irmãos, Lourdes e Hugo, que amo de todo coração e sei que sempre acreditam no meu potencial.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Tiago Sampaio, por ter acreditado em mim e aberto as portas para a realização deste sonho. O seu suporte, a sua energia, a sua luz e os seus conhecimentos com certeza fizeram toda a diferença em mais essa conquista da minha vida.

À Universidade Federal do Ceará, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêuticas (PGCF-UFC) e ao Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas Professor Doutor Eurico Litton Pinheiro de Freitas (LACT/FFOE/UFC) por toda estrutura que foi viabilizada para a realização deste trabalho, assim como todos os professores da pós-graduação pelos seus ensinamentos. Que orgulho pra mim, mais uma vez, depois de tantos anos poder voltar aos bancos desta faculdade.

A toda a equipe do setor de Microbiologia do Hospital Dr. Carlos Alberto Studart, pelo empenho, prontidão e esforço na coleta das amostras envolvidas no trabalho.

A todos os alunos que fazem parte do LACT/FFOE/UFC, em especial a acadêmica de Farmácia Ana Julia B. Pereira por todo empenho para que o trabalho chegasse ao seu propósito.

Aos professores membros da banca, pelo tempo disponibilizado e por sua presença, com certeza suas contribuições serão muito valiosas para o trabalho desenvolvido.

“Os que desprezam os pequenos acontecimentos nunca farão grandes descobertas. Pequenos momentos mudam grandes rotas”.

(Augusto Cury)

RESUMO

Staphylococcus aureus é uma importante bactéria associada a infecções hospitalares, representando um desafio significativo devido ao surgimento de cepas resistentes a vários antimicrobianos, como os *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e, mais gravemente, os *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (VRSA). A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos antibióticos é crucial para o tratamento eficaz dessas infecções. Embora os métodos automatizados sejam os mais utilizados na prática clínica, sua precisão, por exemplo para a vancomicina, pode ser limitada. Neste contexto, a presente pesquisa tem como objetivo comparar métodos de detecção da CIM de vancomicina e oxacilina frente a isolados de *S. aureus*, utilizando amostras de sangue de pacientes com bacteremia de um hospital terciário da rede pública do Ceará. Foram analisadas 62 hemoculturas positivas para *Staphylococcus aureus*, entre agosto de 2022 e julho de 2023. A CIM dos antibióticos foi determinada pelos métodos: automatizado (Vitek®2), ensaio de Microdiluição em Caldo (MDC), com adição do método Epsilometes test® (E-test®) exclusivamente para a vancomicina. Indivíduos do sexo masculino representaram 64,52% dos casos, com a faixa etária acima de 60 anos sendo a mais afetada tanto por MRSA (16,13%) quanto por *S. aureus* sensível à meticilina (MSSA) (33,87%). A maioria dos casos ocorreu em unidades de internação (67,74%) e uma menor frequência foi encontrada nas Unidades de Terapia Intensivas (UTI) (9,68%). A resistência à oxacilina foi observada em 37,10% das hemoculturas do estudo. A maioria das cepas de MSSA (88,68%) foi sensível a todos os antibióticos testados, com a Benzilpenicilina apresentando a maior taxa de resistência (100% para MRSA e 87,18% para MSSA). Não foi observada resistência à vancomicina. Um total de 22 pacientes (35,48%) evoluíram para óbito. A concordância da CIM entre o Vitek®2 e o MDC foi de 59,7% ($r = 0,7106$; $p < 0,0001$) para oxacilina e 79% ($r = 0,6975$, $p < 0,0001$) para vancomicina. A concordância entre E-test® e Vitek®2 foi de 38,7%, e entre E-test® e MDC foi de 35,5%. Os valores de CIM do E-test® ($0,4637 \pm 0,02289$) foram subestimados em comparação com os valores de MDC ($p > 0,05$). MDC e Vitek®2 apresentaram correlações positivas e moderadas ($r = 0,6975$, $p < 0,0001$), enquanto MDC e E-test® apresentaram correlação positiva e fraca ($r = 0,2563$; $p = 0,0444$), mostrando que a CIM da vancomicina determinada pelo Vitek®2 apresentou melhor correlação com os valores da CIM da MDC em comparação com os valores da CIM do E-test®. O E-test® apresentou tendência a subestimar os valores da CIM da vancomicina, embora os resultados do Vitek®2 devam ser interpretados com cautela, devido à identificação de uma tendência à superestimação em uma

diluição da CIM da vancomicina. A pesquisa demonstra que pode haver variação nos valores de CIM para vancomicina dependendo do método utilizado e que é importante verificar a necessidade da realização de um teste adicional (MDC) a fim de resguardar o uso de uma terapia adequada, especialmente diante da emergência de cepas resistentes.

Palavras-chave: Infecção de corrente sanguínea; Resistência bacteriana; Concentração inibitória mínima; Vancomicina.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is an important bacterium that causes hospital infections. A major problem in the treatment of diseases caused by this bacterium is the emergence of strains resistant to several antimicrobials, such as MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*) and, more seriously, the emergence of VRSA (vancomycin-resistant *S. aureus*). It is important, therefore, to investigate the sensitivity profile of *S. aureus* strains in patients, especially those with bacteremia, and to obtain the minimum inhibitory concentration (MIC) of antibiotics. Currently, to obtain these values, automated methods are the most used in clinical laboratory practice due to their practicality and cost-benefit. However, these may have limited accuracy, for example for vancomycin. In this context, the present research aims to make a comparison between methods for detecting the MIC of these bacteria against vancomycin and oxacillin. The blood samples came from patients at a public tertiary hospital in Ceará from August 2022 to July 2023. A total of 62 blood cultures were positive for the bacteria during this period. Male individuals (64.52%) had a higher frequency of cases, but there was no difference related to sex regarding the distribution of strains, MRSA or methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA). The age group over 60 years old was the most present for both MRSA infections (16,13%) and MSSA strains (33,87%). Regarding the distribution of cases in the hospital environment, hospitalization units presented a percentage of 67.74% and intensive care units (ICU) 9.68%. Most of the patients involved had some related comorbidity, revealing yet another risk factor for infection. Of the positive blood cultures for *S. aureus*, 37.10% were oxacillin-resistant strains. Overall, the MRSA phenotype showed the highest resistance rates, with the majority of MSSA strains (88.68%) being sensitive to all antibiotics. Benzylpenicillin was the antimicrobial with the highest resistance rate (100% for MRSA and 87.18% for MSSA). None of the isolates showed resistance to vancomycin. A total of 22 patients (35.48%) died as a result of as a clinical outcome. Regarding the comparison of methods, it was seen that for oxacillin, the MIC agreement between Vitek®2 and the Broth Microdilution (MDC) assay was 59.7% ($r = 0.7106$; $p = <0.0001$), while vancomycin was 79% ($r = 0.6975$, $p = <0.0001$). Exclusively for vancomycin, the manual Epsilometes test® (E-test®) method was added, obtaining an agreement of 38.7% between E-test® and Vitek®2 and 35.5% between E-test® and MDC. The E-test® MIC values (0.4637 ± 0.02289) were underestimated when compared to the MDC values ($p > 0.05$). Furthermore, the MDC and Vitek®2 methods showed positive and moderate correlations ($r = 0.6975$, $p = <0.0001$), while MDC and E-test® showed a positive and weak correlation ($r = 0.2563$; $p = 0.0444$). The

vancomycin MIC determined by Vitek®2 showed a better correlation with the MDC MIC values ($r = 0.6975$, $p = <0.0001$) when compared to the E-test® MIC values ($r = 0.2563$; $p = 0.0444$). Therefore, there is a tendency for E-test® to underestimate vancomycin MIC values. However, even with better correlation and agreement, the results obtained by Vitek®2 must be evaluated with caution, as a tendency to overestimate the MIC of vancomycin by 1 (one) dilution was identified. The results showed that there may be variations in MIC values for vancomycin depending on the method used and that it is important to verify the importance of carrying out an additional test in order to protect the use of adequate therapy.

Keywords: Bloodstream infection; Bacterial resistance; Minimum inhibitory concentration; Vancomycin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Micrografia eletrônica <i>S. aureus</i> (MRSA).....	20
Figura 2 –	Fluxograma de provas bioquímicas para identificação de <i>S. aureus</i>	21
Figura 3 –	<i>Staphylococcus aureus</i> em meio de cultura ágar sangue.....	21
Figura 4 –	Percentual de <i>S. aureus</i> resistentes à oxacilina e vancomicina no estado do Ceará em 2022.....	25
Figura 5 –	Estrutura molecular da oxacilina.....	30
Figura 6 –	Esquema representando a comparação dos domínios transpeptidase PBP2 e PBP2a.....	31
Figura 7 –	Estrutura molecular da vancomicina.....	32
Figura 8 –	Mecanismo de ação da vancomicina.....	33
Figura 9 –	Aparelho BC120 (Autobio) para realização de hemoculturas.....	36
Figura 10 –	Ilustração do aparelho Vitek®2 e cartão ID GP.....	38
Figura 11 –	Exemplo de antibiograma de <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA.....	38
Figura 12 –	Ilustração do método da fita gradiente para detecção de CIM.....	40
Figura 13 –	Placa com 96 poços de microdiluição em caldo.....	41
Figura 14 –	Fluxograma demonstrando critérios de inclusão e exclusão e variáveis consideradas para o estudo.....	45
Figura 15 –	Cartão de Identificação e antibiograma do Vitek®2.....	46
Figura 16 –	Densicheck.....	47
Figura 17 –	Desenho esquemático da identificação e antibiograma da bactéria utilizando o Vitek®2.....	47
Figura 18 –	Desenho esquemático da detecção da concentração inibitória mínima por microdiluição em caldo.....	48
Figura 19 –	Esquema da realização do Etest para vancomicina.....	50
Figura 20 –	Taxas de resistência aos antibióticos dos isolados MRSA e MSSA em valores relativos e absolutos.....	54
Figura 21 –	Mapa de calor das CIM de oxacilina obtidas pelo Vitek®2 e MDC dos 62 isolados de <i>S. aureus</i>	57
Figura 22 –	Média da CIM de oxacilina de isolados de <i>S. aureus</i> obtidas pelo Vitek®2 e MDC.....	58

Figura 23 –	Correlação de Pearson das CIM ($\mu\text{g/mL}$) de Oxacilina de isolados de <i>S. aureus</i> obtidas pelo Vitek [®] 2 e MDC.....	58
Figura 24 –	Mapa de calor das CIM de Vancomicina obtidos pelo Vitek [®] 2, MDC e E-test [®] dos 62 isolados de <i>S. aureus</i>	61
Figura 25 –	Média geométrica da CIM de vancomicina de isolados de <i>S. aureus</i> obtidas pelo Vitek [®] 2, MDC e E-test [®]	62
Figura 26–	Correlação de Pearson das CIM de Vancomicina de isolados de <i>S. aureus</i> obtidas pelo MDC vs Vitek [®] 2 e MDC vs E-test [®]	62
Figura 27 –	Correlação de Pearson das CIM de Vancomicina de isolados de <i>S. aureus</i> obtidas pelo Vitek [®] 2 vs E-test [®]	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação científica <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Tabela 2 –	Interpretação do coeficiente de Kappa de Cohen.....	51
Tabela 3 –	Interpretação da correlação de Pearson.....	51
Tabela 4 –	Características gerais dos pacientes com <i>S. aureus</i> (MRSA e MSSA) presentes em hemoculturas, no período de agosto de 2022 a julho de 2023	52
Tabela 5 –	Perfil de Sensibilidade dos <i>S. aureus</i> MSSA e MRSA isolados das hemoculturas, no período de agosto de 2022 a julho de 2023.....	55
Tabela 6 –	Concordância entre os métodos Vitek [®] 2 e MDC para determinação CIM de oxacilina de isolados de <i>S. aureus</i> (n=62).....	56
Tabela 7 –	Concordância entre os métodos Vitek [®] 2 e MDC para determinação CIM de Vancomicina de isolados de <i>S. aureus</i> (n=62).....	59
Tabela 8 –	Concordância entre os métodos Vitek [®] 2 e E-test [®] para determinação CIM de Vancomicina de isolados de <i>S. aureus</i> (n=62).....	60
Tabela 9 –	Concordância entre os métodos E-test [®] e MDC para determinação CIM de Vancomicina de isolados de <i>S. aureus</i> (n=62).....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
BrCAST	Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
CA-MRSA	<i>S. aureus</i> resistente à meticilina associadas à comunidade
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais
D-ala-D-ala	D-alanil-D-alanina
D-ala-D-lac	D-Alanil-D-lactato
DNase	Desoxirribonuclease
E-test®	Epsilometes test ®
EUCAST	Comitê Europeu de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana
HA-MRSA	<i>S. aureus</i> Resistente à Meticilina Adquirido no Hospital
HA-MSSA	<i>S. aureus</i> Sensível à Meticilina Adquirido no Hospital
hVISA	<i>S. aureus</i> Heterogêneo Intermediário à Vancomicina
ICS	Infecção de corrente sanguínea
LACT	Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas
MDC	Microdiluição em Caldo
MRSA	<i>S. aureus</i> Resistentes à Meticilina
MSCRAMMs	Componentes de superfície microbiana que reconhecem moléculas de matriz adesiva
MSSA	<i>S. aureus</i> Sensível à Meticilina
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PBP	Proteínas de Ligação à Penicilina
PBP-2 ^a	Proteína de Ligação à Penicilina 2 ^a
PRSA	<i>S. aureus</i> Resistente à Penicilina
PVL	Leucocidina Panton-Valentine
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SCCmec	Cromossômico Estafilocócico mec
SFD	Staphylococcal food-borne disease
UFC/mL	Unidades Formadoras de Colônias por mililitro
VISA	<i>S. aureus</i> Intermediário à Vancomicina

VRE	Enterococcus Resistente à Vancomicina
VRSA	<i>S. aureus</i> Resistente à Vancomicina
VS	Versus
VSSA	<i>S.aureus</i> Sensível à Vancomicina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.2	Patogenicidade.....	22
2.3	Epidemiologia.....	24
2.4	<i>Staphylococcus aureus</i> e bacteremia.....	26
2.5	<i>Staphylococcus aureus</i> e a resistência aos antimicrobianos.....	28
2.6	Testes de sensibilidade <i>in vitro</i>	36
3	OBJETIVOS.....	43
3.1	Geral.....	43
3.2	Específicos.....	43
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
4.1	Obtenção das cepas.....	45
4.2	Determinação da concentração inibitória mínima.....	46
4.2.1	Determinação de CIM por sistema comercial automatizado (Vitek®2)..	46
4.2.2	Determinação de CIM por Microdiluição em Caldo (MDC).....	48
4.2.3	Determinação de CIM por Etest®	49
4.2.4	Análise estatística.....	50
4.2.5	Aspectos éticos.....	51
5	RESULTADOS.....	52
5.1	Características dos pacientes.....	52
5.2	Resistência aos antimicrobianos pelas cepas MSSA e MRSA.....	54
5.3	Comparação dos métodos para determinação da CIM de oxacilina.....	55
5.4	Comparação dos métodos para determinação da CIM de vancomicina	59
6	DISCUSSÃO.....	64
7	CONCLUSÃO.....	72
	REFERÊNCIAS.....	73
	ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	84

1 INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é uma bactéria esférica que faz parte do grupo dos cocos Gram positivos, é comumente encontrada na microbiota humana e no meio ambiente. Embora geralmente não cause infecção em pele saudável, na presença de lesão pode adentrar na corrente sanguínea ou tecidos moles e causar infecções potencialmente graves (TAYLOR; UNAKAL, 2022). Dentre os estafilococos, o *S. aureus* é o agente de maior patogenicidade pois pode levar a infecções graves e de difícil tratamento devido sua alta virulência e mecanismos de resistência aos antimicrobianos (TAM; TORRES, 2019).

Infecções por esta bactéria estão associadas a uma taxa de frequência anual de 50 casos por 100.000 habitantes, podendo ter um prognóstico ruim, com mortalidade chegando a 20-30% em países desenvolvidos (LAM; STOKES, 2023). A bacteremia se destaca como uma manifestação grave das infecções estafilocócicas e que demanda tratamento urgente e eficaz com antimicrobianos (LEE *et al.*, 2018).

Desde os anos 1950, quando a penicilina foi introduzida para o tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus*, surgiram cepas resistentes a esse antibiótico. A meticilina, um antimicrobiano beta-lactâmico, desenvolvida como alternativa na década de 60, logo enfrentou resistência, com o surgimento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (AQUINO; SILVA, 2022). Diante disso, a vancomicina, um glicopeptídeo cuja descoberta se deu na década de 1950 se tornou o antibiótico de escolha para pacientes hospitalizados (GUIDO *et al.*, 2020; LEE *et al.*, 2018), entretanto, devido a sua larga utilização, as concentrações inibitórias mínimas (CIM) do antibiótico necessárias para combater esses estafilococos estão aumentando continuamente. Além disso, a bactéria pode apresentar menor sensibilidade ao antimicrobiano e este ter menos eficiência frente ao microrganismo, podendo resultar em falha terapêutica e aumento do tempo de internação (ROSSATO *et al.*, 2018).

A emergência de estafilococos resistentes à vancomicina (VRSA) tem gerado preocupação na comunidade médico-científica. Relatos iniciais nos Estados Unidos em 2002 e no Brasil e ainda cepas com resistência intermediária à vancomicina (VISA) encontradas no Japão no ano de 1997 (HAHN, 2019; LEE *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2007), destacam a necessidade de avaliar adequadamente a CIM deste antibiótico para garantir a eficácia do tratamento (FREDERICO *et al.*, 2017; TURNER *et al.*, 2019).

A determinação da CIM de vancomicina pode ser realizada por alguns métodos quantitativos como: sistemas automatizados, fitas gradientes de concentração de antibióticos e microdiluição em caldo (MDC). Embora a MDC seja considerada padrão ouro pelos comitês que padronizam a realização dos testes de sensibilidade das bactérias frente aos antibióticos, sua utilização é limitada devido a sua complexidade e demora de resultados. (ROSSATO *et al.*, 2014).

As diferentes técnicas para determinar a CIM de vancomicina podem apresentar variações na sensibilidade e especificidade, levantando preocupações sobre a precisão dos resultados e seu impacto na conduta clínica (KUO *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2014). Diante dessa problemática, este estudo propõe investigar o perfil de sensibilidade aos antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de hemoculturas de pacientes hospitalizados e realizar uma avaliação comparativa de três métodos de detecção de CIM (MDC, Vitek®2 e E-test®). O objetivo é fornecer informações relevantes para o manejo clínico e a prevenção do surgimento de bactérias multirresistentes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Staphylococcus aureus*

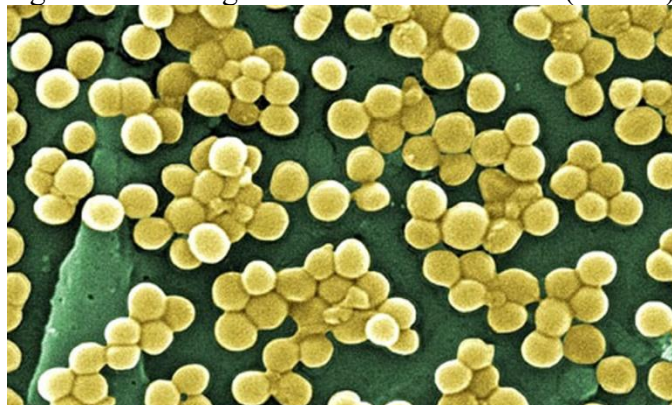
Staphylococcus aureus é uma bactéria de grande importância para a clínica médica, cuja classificação científica está descrita na tabela 1, é encontrada em forma de cocos, em cachos, Gram positivo e possui aproximadamente 0,5 a 1,5 micrômetros de diâmetro (figura 1) sem motilidade, não esporuladas e a maioria encontra-se não encapsulada (SANTANA *et al.*, 2020). É anaeróbica facultativa e produz um pigmento carotenóide que proporciona à bactéria uma coloração amarelada ou dourada (grego aureus = dourado) chamado de staphyloxanthin.

Tabela 1 – Classificação científica *taphylococcus aureus*

Categoria	Classificação
Reino	<i>Monera</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordem	<i>Bacillales</i>
Família	<i>Staphylococcaceae</i>
Gênero	<i>Staphylococcus</i>
Espécie	<i>S. aureus</i>

Fonte – Muller (2009).

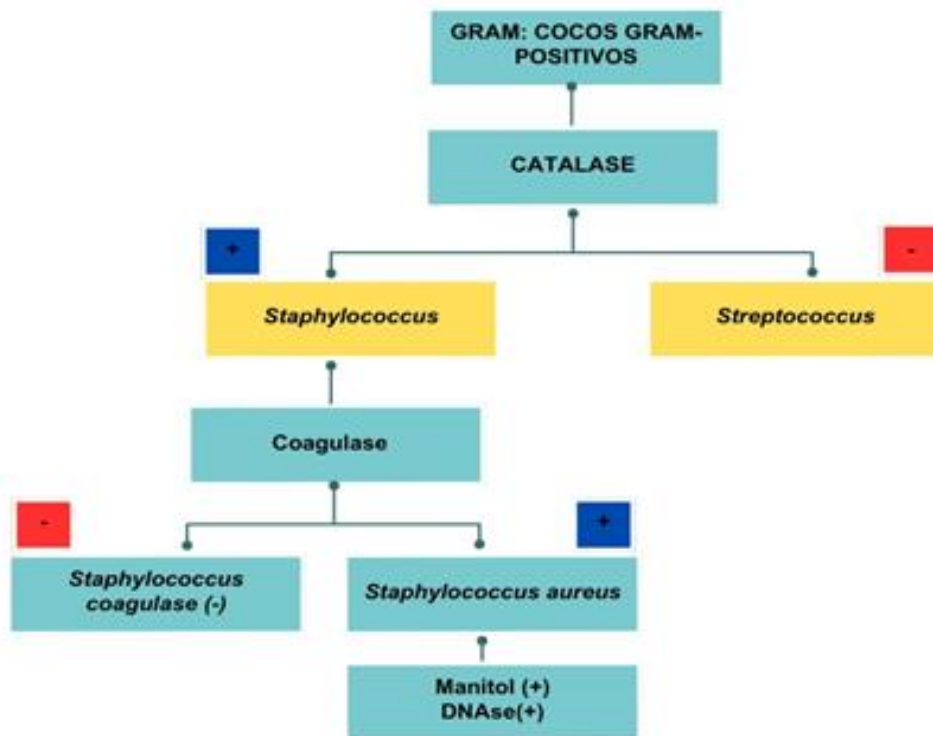
Figura 1 – Micrografia eletrônica *S. aureus* (MRSA)



Fonte: Pulse headlines.

Apresenta as provas de catalase, coagulase e DNase positivas (figura 2). Em ágar manitol salgado é capaz de fermentar o manitol, exibe sensibilidade a novobiocina (ANVISA 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2021). A bactéria pode ser isolada em meio de cultura como o ágar sangue, onde forma colônias normalmente beta-hemolíticas (figura 3) (CUSSOLIM; JUNIOR, 2021).

Figura 2 – Fluxograma de provas bioquímicas para identificação de *S. aureus*



Fonte: ANVISA 2020.

Figura 3 – *Staphylococcus aureus* em meio de cultura ágar sangue



Fonte: Elaborada pela autora..

S. aureus foi inicialmente identificado em material de abscesso em ferida por Ogston no ano de 1880, sendo posteriormente isolado por Rosenbach. É um microrganismo bem adaptado ao hospedeiro humano e aos ambientes relacionados aos cuidados em saúde (TURNER *et al.* 2019).

Dentre os estafilococos, o *S. aureus* é o agente de maior patogenicidade. A bactéria pode contaminar a pele e membranas mucosas do hospedeiro e ainda superfícies e outros indivíduos apenas por contato direto ou mesmo por aerossóis, levando a infecções graves e de difícil tratamento devido sua alta virulência e mecanismos de resistência aos antimicrobianos. Este potencial infeccioso está ligado a características do hospedeiro, como imunossupressão ou comorbidades. Além da própria bactéria altamente virulenta, ela ainda é capaz de liberar toxinas que também causam doenças, dentre elas: Síndrome do Choque Tóxico, Síndrome da Pele Escaldada, intoxicações alimentares, etc. (TAM; TORRES, 2019).

A presença de infecções por esta bactéria em hospitais ocorre mais comumente em pacientes de berçários e em UTI (Unidades de Terapia Intensiva), onde pode ser encontrada colonizando esses indivíduos. A bactéria também traz risco para pessoas que fazem diálise, queimados, diabéticos e HIV-positivos, causando desde infecções cutâneas crônicas a infecções sistêmicas graves e até fatais (BALABAN *et al.*, 1998).

2.2 Patogenicidade

S. aureus é capaz de causar doenças tanto em comunidade como em ambiente hospitalar, sendo considerada uma das principais causas de infecção sistêmica em todo o mundo. As manifestações da doença variam em gravidade e vão desde infecções de pele e tecido mole a abscessos em feridas, endocardite, pneumonia, necrose pulmonar fatal, bacteremia e ainda síndromes em decorrência de suas toxinas em indivíduos hígidos e também naqueles com comorbidades preexistentes (DOS SANTOS *et al.*, 2021; SHARIATI *et al.*, 2020).

Estudos apontam que o tempo de internação prolongado é um fator de risco para que a infecção se instale. Outros fatores incluem procedimentos em saúde invasivos como acesso venoso, realização de cirurgias, implantes ortopédicos, processos que comprometam a integridade da parede cutânea e ainda condições individuais como pacientes imunodeprimidos, doenças inflamatórias de pele e outras comorbidades como hipertensão arterial, pacientes diabéticos e outros (NEWSTEAD *et al.*, 2020).

Diferente de outras bactérias que produzem uma ou apenas algumas toxinas para estabelecer doença, o *Staphylococcus aureus* disponibiliza vários fatores de virulência que

incluem inúmeras toxinas e fatores de escape do sistema imunológico do hospedeiro. Possui também fatores proteicos e não proteicos que possibilitam a colonização do hospedeiro durante o processo infeccioso e contribuem para sua alta patogenicidade (CHEUNG *et al.*, 2021). Na maioria dos casos ocorre colonização antes de se instalar a infecção, mas pode infectar também através de cateteres contaminados ou feridas que promovem acesso da bactéria ao seu hospedeiro. Apesar de ser componente da microbiota nasal, *S. aureus* pode ser encontrado colonizando outros locais como garganta e períneo e isto favorece a probabilidade de infecções, pois com isso, existe o fato de se ter um reservatório do microrganismo (LEE *et al.*, 2018; LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

Dentre os fatores de virulência destes microrganismos são destacados: fatores de virulência secretados, entre eles toxinas e superantígenos; enzimas extracelulares, que têm como função a nutrição e promoção da sobrevivência e perpetuação bacteriana; proteínas de superfície que apresentam como função a adesão, invasão e mecanismo de escape do sistema imunológico e os PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos) cuja função é estabelecida nas respostas inflamatórias (CHEN *et al.*, 2022). Hemolisinas alfa, beta, gama, toxinas de leucocidina Panton-Valentine (PVL), exotoxinas e enterotoxinas são tipos de toxinas secretadas pela bactéria e provocam doenças como a Síndrome do Choque Tóxico, doenças estafilocócicas de origem alimentar (SFD) e a Síndrome da Pele Escaldada (CHEN *et al.*, 2018; SHOIAB *et al.*, 2023).

As proteínas chamadas de “componentes de superfície microbiana que reconhecem moléculas de matriz adesiva” (MSCRAMMs) se conectam ao fibrinogênio, à fibronectina e às fibras de colágeno das células alvo em seus hospedeiros para chegar aos tecidos, resultando em infecções de próteses, ósseas, articulações e no sistema endovascular. Esta proteína confere ainda proteção da bactéria contra a opsonização. *S. aureus* também tem o potencial de produzir biofilmes tanto nas superfícies corporais como em superfícies inorgânicas levando a um aumento da sua resistência aos antimicrobianos e promovendo uma maneira de escapar do sistema imunológico do hospedeiro (SHOIAB *et al.*, 2023).

2.3 Epidemiologia

Bacteremia em decorrência de *S. aureus* está no *ranking* das principais causas de doença com consequente morte a nível mundial com um número de casos que pode ultrapassar a 50 indivíduos em 100000 habitantes e com índices de mortalidade que chegam em torno de 20 a 30 % em países industrializados mesmo com o uso de antimicrobianos e métodos de

controle de infecção. A doença supera até mesmo os casos de infarto agudo do miocárdio cuja mortalidade chega a 10% (LAM; STOKES, 2023; KOURTIS *et al.*, 2019).

A epidemiologia da infecção de corrente sanguínea por *S. aureus* pode variar de acordo com a região geográfica. A incidência de MRSA envolvidos na doença teve uma redução significativa no Reino Unido na última década em decorrência de trabalhos de prevenção e promoção de controle de infecção em ambiente hospitalar com medidas incluindo o simples e não menos importante lavar das mãos. Em contrapartida, nos EUA houve um aumento do número de casos de bacteremia por MRSA em comparação com as bacteremias causadas por MSSA, fato este que pode ter sido em decorrência de cepas MRSA adquiridas na comunidade (LAM *et al.*, 2019).

O surgimento, em meados de 1980, de cepas MRSA na comunidade (CA-MRSA) envolvendo indivíduos saudáveis entre indígenas na Austrália e até mesmo em crianças sem hospitalização prévia nos EUA na década de 90, trouxeram modificações significativas na epidemiologia do MRSA. Houve ainda a aparição de cepas MRSA ligadas a animais nos anos de 2000 conhecidas como LA-MRSA (MRSA ligadas a exposição de gado) (LEE *et al.*, 2018). No Brasil, as primeiras cepas de CA-MRSA relacionadas a infecções em instituições de saúde foram relatadas em indivíduos com infecção de corrente sanguínea em hospitais do Rio Grande do Sul. A partir daí, houve a distribuição de cepas com clones SCCmec tipo IV em hospitais de todo território brasileiro (DOS SANTOS *et al.*, 2021).

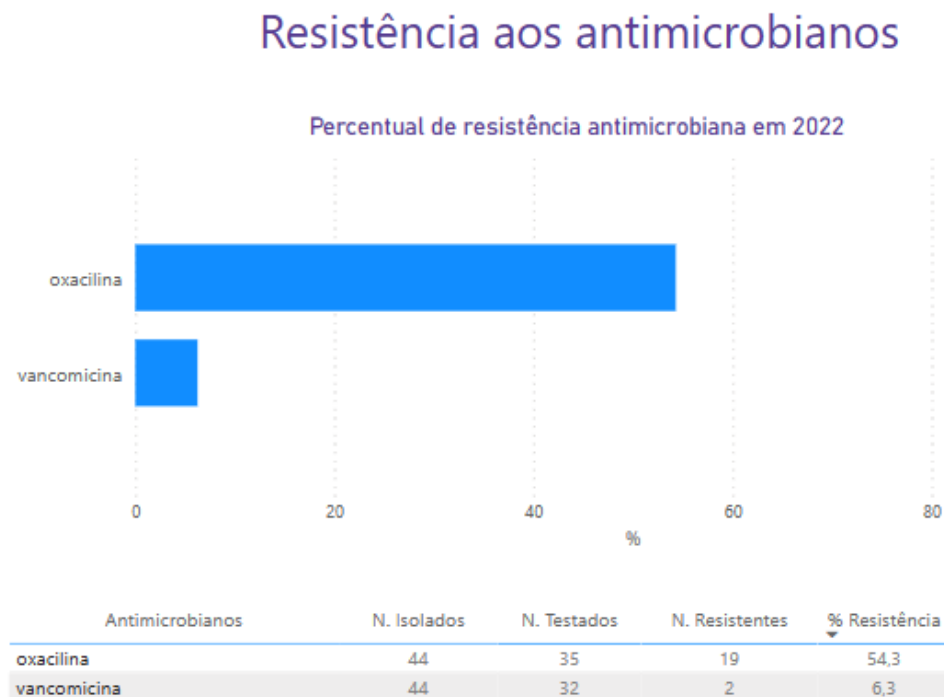
A capacidade da bactéria se instalar na narina e permanecer no local proporcionando colonização no hospedeiro é preocupante. *S. aureus* encontra-se colonizando esta região do corpo humano em 28-32% da população dos EUA, sendo que a incidência de cepas MRSA se encontra entre 0,9 a 1,5% neste país (TURNER *et al.*, 2019). Segundo demonstrado em estudos, essa colonização exerce importante fator de risco e pode anteceder uma infecção ativa. Pacientes com comorbidades como diabetes, doença pulmonar crônica, contato com equipamentos ou procedimentos invasivos, dias de internação aumentados, indivíduos colonizados ou infectados em convívio no mesmo ambiente e ainda internação prévia e administração de antibióticos constituem fatores de risco para infecção por MRSA (MENEGUIN *et al.*, 2020).

A doença causada por estas cepas está relacionada a piores desfechos clínicos do que as ocasionadas por MSSA (WILCOX *et al.*, 2019). As infecções por estes microrganismos estão envolvidas com altos índices de mortalidade, morbidade e necessidade de internação. As taxas de resistência ao beta-lactâmico meticilina mudam de acordo com o país envolvido e variam de taxas mais baixas em países escandinavos a valores aumentados a exemplo dos

EUA e China. Apesar de uma diminuição de casos em infecções nosocomiais nestes países e também na Europa, este número está em crescimento em países não desenvolvidos como a África (CHEUNG *et al.*, 2021). Apesar dessa recaída nos números de casos na Europa, 10 dos 30 países da União Europeia ainda apresentavam índices acima de 25% da doença. Pacientes com infecção de corrente sanguínea por MRSA demonstraram uma taxa de letalidade maior (39%) do que aqueles acometidos por cepas MSSA (24%), de acordo com um estudo realizado no Canadá. Na Malásia outro estudo mostrou que MRSA foi a causa de 21% das bacteremias a nível hospitalar (SIT *et al.*, 2018).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em sua publicação no boletim de segurança do paciente e qualidade dos serviços de saúde do Brasil do ano de 2022, indicou uma incidência alta de MRSA em circulação, em que em um total de 2978 *Staphylococcus aureus* detectados em Infecções Primárias de Corrente Sanguínea Laboratorial (IPCSL) isolados em UTI adulta, 56,1% eram cepas com resistência à oxacilina. Esses dados demonstraram que no Ceará houve um total de 44 isolados de *S. aureus* com taxa de MRSA de 54,3% (figura 4) (“Boletins e relatórios”, [s.d.]).

Figura 4 – Percentual de *S. aureus* resistentes à oxacilina e vancomicina no estado do Ceará em 2022



Fonte: ANVISA, 2022

Autores como Arias e colaboradores (Arias *et al.*, 2018) realizaram um estudo de

coorte e exploraram o perfil epidemiológico de cepas MRSA em 9 países da América Latina. Eles demonstraram uma incidência de 45% de MRSA de todos os isolados em bacteremias que contemplavam ambiente hospitalar, sendo que no Brasil esses índices chegaram a 62% dos isolados (ARIAS *et al.*, 2018).

A resistência aos antimicrobianos traz sérios problemas a nível mundial. Trata-se de um grande problema para a saúde pública. Em 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou uma lista de bactérias que representam uma urgência na necessidade de desenvolvimento de novos antibióticos, com *Staphylococcus aureus* sendo classificado como prioridade 2: alta. Em decorrência da gravidade da situação, a OMS implementou o Sistema Global de Vigilância da Resistência Antimicrobiana (GLASS), um sistema com a responsabilidade de verificar e acompanhar de maneira eficaz todo o ensejo envolvendo o tema (PILONETTO *et al.*, 2021). O Brasil se uniu ao GLASS em 2017 e no ano seguinte lançou seu respectivo programa nacional de vigilância antimicrobiana, o BR-GLASS, com o objetivo de rastrear a repercussão da resistência a nível nacional. Segundo dados deste estudo, analisando a prevalência de *Staphylococcus aureus* em Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) foi visto que o microrganismo foi detectado em 30% das infecções de trato respiratório inferior (ITRI) e em 19,3% das bacteremias destacando o patógeno como o segundo isolado mais frequente em ambas as infecções de origem hospitalar. Os dados também mostraram que a incidência de MRSA entre os *S. aureus* no país está em torno de 23% e quando comparado aos números internacionais, a taxa brasileira é levemente aumentada em relação à média calculada de 19,9% (PILONETTO *et al.*, 2021; PROVENZI, 2022).

2.4 *Staphylococcus aureus* e bacteremia

Bacteremia significa a presença de bactérias viáveis no sangue. Ela pode ser assintomática em indivíduos hígidos, sendo transitórias e sem deixar sinais de infecção. Todavia, se houver hiperestimulação no sistema imunológico, a bacteremia pode progredir para uma infecção de corrente sanguínea, conhecida como sepse. Esta condição pode evoluir para diferentes estágios clínicos, incluindo síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), choque séptico e síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO), se não for tratada adequadamente. (SMITH; NEHRING, 2023).

As bacteremias são classificadas como primárias ou secundárias. As primárias ocorrem quando a fonte de infecção é desconhecida, sendo frequentemente associadas a dispositivos intravasculares, como cateteres venosos centrais (OPLUSTIL *et al.*, 2020). Por outro lado, as bacteremias secundárias resultam da disseminação de infecções de outros sistemas para a corrente sanguínea, sendo comuns focos primários no pulmão, trato urinário e região abdominal pós-cirúrgica (CUNHA; LINARDI, 2013).

Uma das mais graves infecções nosocomiais é a infecção de corrente sanguínea, pois aumenta o tempo de hospitalização, eleva os gastos em assistência médica e pode ocasionar desfechos não satisfatórios para os pacientes levando a uma alta taxa de mortalidade (ARATANI *et al.*, 2021).

Infecção de corrente sanguínea por *S. aureus* pode ser categorizada como de origem comunitária, quando ocorre dentro das 72 horas da admissão hospitalar, ou nosocomial, quando o paciente é diagnosticado com bacteremia 72 horas ou mais depois da admissão (LAM *et al.*, 2019). Neste contexto, é necessária a descoberta da causa inicial da infecção a fim de promover o manejo clínico adequado do paciente com quadro de bacteremia. Em pacientes de instituições hospitalares, elas podem ser originárias de trato respiratório, cateteres venosos centrais, infecções urinárias sem tratamento prévio ou ainda de infecções de partes moles e intra-abdominais (SMITH; NEHRING, 2023).

Um dos patógenos mais comuns de infecção da corrente sanguínea, tanto na comunidade como em ambiente hospitalar, é o *Staphylococcus aureus* e entre os cocos Gram positivos ele se destaca como a segunda maior causa de bacteremia, logo atrás dos estafilococos coagulase negativa, com uma mortalidade apresentando taxas que variam de 20 a 30% em 90 dias (NAMBIAR *et al.*, 2018).

Em estudos recentes, o número de mortes por bacteremia em decorrência de *S. aureus* nos Estados Unidos é de 20.000 ao ano. É evidência também que a bacteremia por este microrganismo apresenta número superior de mortes do que as relacionadas a AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), tuberculose e hepatite viral em conjunto. As infecções por este coco Gram positivo têm trazido sérios danos à saúde mundial devido ao *Staphylococcus aureus* apresentar com muita facilidade resistência aos antimicrobianos, tendo o MRSA como patógeno de alta relevância clínica (CHEUNG *et al.*, 2021).

2.5 *Staphylococcus aureus* e a resistência aos antimicrobianos

Um dos acontecimentos históricos para a ciência, a medicina e a farmácia no século XX foi a descoberta da penicilina em 1928 por Alexander Fleming. Este antimicrobiano beta lactâmico abriu portas para o estudo da antibioticoterapia e, em consequência, para a chegada de novos antibióticos e trabalhos investigativos na área (PEREIRA; PITA, 2018). O fármaco proporcionou uma opção terapêutica para as infecções bacterianas, tendo seu maior uso na década de 1940, mas houve uma resistência gradual ao uso deste medicamento antiestafilocócico. Em 1944, havia relatos de que a resistência seria mediada por um mecanismo enzimático codificado pelo gene *blaZ*, a partir do qual a enzima betalactamase seria responsável por quebrar o anel beta-lactâmico e promover a inativação do antimicrobiano (AGUAYO-REYES *et al.*, 2018). Conhecidas como *Staphylococcus aureus* resistentes à penicilina (PRSA) estas cepas promoveram infecções espalhadas não só em hospitais como surgiram também na comunidade no decorrer da década de 1950 e princípios dos anos 60 (MCGUINNESS *et al.*, 2017) alcançando nos dias atuais uma taxa de resistência superior a 90% frente a penicilina, o que torna atualmente o uso deste antibiótico obsoleto para infecções por este microrganismo (PEACOCK; PATERSON, 2015).

As infecções em decorrência de microrganismos multirresistentes resultam em cerca de 700.000 mortes ao ano e estima-se que, até 2050, chegará a cerca de 10 milhões de mortes anualmente, superando a mortalidade por agravos como o câncer e doenças cardiovasculares (FELIX *et al.*, 2023).

Staphylococcus aureus faz parte do grupo de bactérias chamadas ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Enterobacter* spp.) que consiste em microrganismos com alto padrão de resistência aos antimicrobianos em ambientes hospitalares, principalmente em unidades de terapia intensiva (UTI). A ampla resistência destas bactérias aos antibióticos é motivo de muita preocupação devido ao número gradativamente menor de opções terapêuticas, dificultando a melhoria no desfecho clínico (FELIX *et al.*, 2023; MIETHKE *et al.*, 2021).

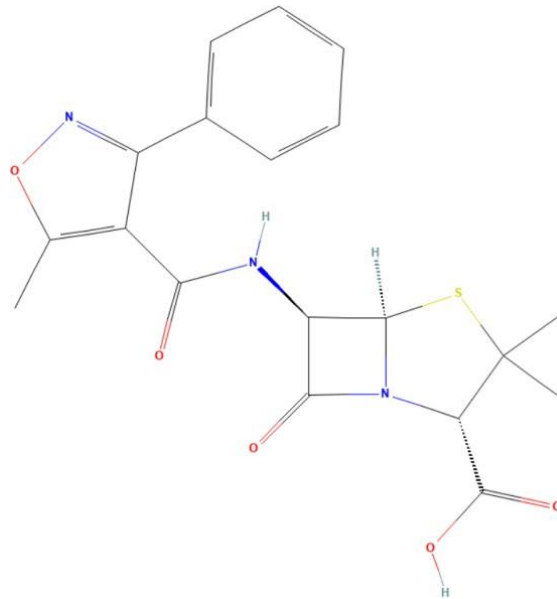
Em época prévia aos antibióticos, a bacteremia em decorrência de *S. aureus* foi marcada por uma mortalidade de 80% havendo uma melhoria considerável nessas porcentagens após o surgimento dos antimicrobianos (GOTO *et al.*, 2017).

A resistência aos antibióticos por parte do *Staphylococcus aureus* ocorre devido a mutações em seus genes e ainda por aquisição de genes de resistência advindos de outras bactérias que podem ser da mesma espécie ou ocasionalmente entre espécies diferentes. No caso da mutação, pode ser devido a modificações no sítio de ligação do antibiótico ao receptor e sendo por aquisição pode ocorrer destruição ou inativação do fármaco. Os plasmídeos e transposons tem contribuição importante para este último mecanismo (CUSSOLIM; JUNIOR, 2021).

No Reino Unido, em 1959, foi introduzida na prática clínica a meticilina, um beta-lactâmico semissintético resistente às beta-lactamases para uso em cepas PRSA (SHOIAB *et al.*, 2023). Essa resistência à enzima beta-lactamase se dá devido a presença do grupo ortodimetoxifenil que evita estericamente da penicilinase hidrolisar a ligação alvo (RUNGELRATH; DELEO, 2021). No ano seguinte ao início da sua utilização, foram isoladas cepas de *S. aureus* resistentes ao medicamento em três pacientes internados em um mesmo hospital de cidade do Reino Unido sem que nenhum destes indivíduos tivesse feito uso prévio de meticilina e que também apresentavam resistência a penicilina, estreptomicina e tetraciclina em comum. Nos dois anos seguintes, foram evidenciados MRSA também em países da Europa, sendo isolados de infecções invasivas originadas na Dinamarca (HARKINS *et al.*, 2017).

Estas cepas multirresistentes possuem resistência aos antibióticos beta-lactâmicos como as penicilinas (meticilina e oxacilina) e as cefalosporinas. Devido a sua toxicidade, a meticilina não é mais comercializada atualmente para uso em humanos e foi substituída por outras penicilinas de maior estabilidade como a oxacilina (figura 5), antibiótico β -lactâmico que possui mesmo mecanismo de ação da meticilina (ligação do antibiótico à PBP interrompendo a formação da parede celular bacteriana). Apesar disso ainda hoje estas cepas com resistência ao medicamento são conhecidas como *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (LEE *et al.*, 2018; ALGHAMDI *et al.*, 2023), no qual o ponto de corte para a determinação da resistência à oxacilina para cepas de *S. aureus* segundo o BrCAST (BrCAST 2023) é uma CIM de oxacilina $> 2 \mu\text{g/mL}$.

Figura 5 – Estrutura molecular da oxacilina

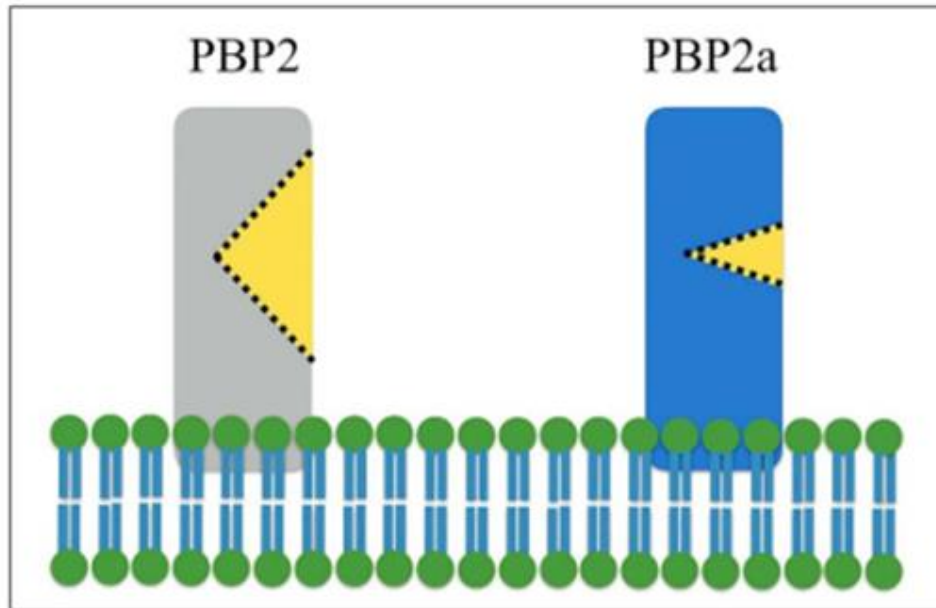


Fonte: Pub Chem (2024)

A década de 1960 foi marcada pelo surgimento de isolados MRSA em ambiente hospitalar, mas em meados de 1980 houve a disseminação destas cepas para a comunidade, incluindo indivíduos jovens sem passagem anterior em unidades de assistência à saúde tornando a infecção uma ameaça mundial (TURNER *et al.*, 2019; DI RUSCIO *et al.*, 2019). O CA-MRSA como é conhecida a cepa resistente de ocorrência na comunidade pode causar infecção de tecidos moles e de pele e estar relacionada também a infecções em ambientes de cuidados em saúde. Ele tem genética diferente do HA-MRSA (MRSA presente em ambiente hospitalar) pois apresenta menos resistência aos antimicrobianos e frequentemente produzem uma citotoxina chamada de leucocidina de Pantón-Valentine (PVL). Devido a presença de CA-MRSA já ser observada também em hospitais, estas cepas não são mais tão passíveis de serem distintas uma da outra tanto molecular como epidemiologicamente (LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

A resistência à metilina pelo *Staphylococcus aureus* ocorre devido à presença do gene *mecA*, responsável por codificar a proteína 2a de ligação da penicilina (PBP2a) (figura 6). Esta proteína está implicada na reação cruzada dos peptidoglicanos na parede celular da bactéria e proporciona baixa afinidade aos beta-lactâmicos o que promove a resistência dos MRSA a todos desta classe de antimicrobianos (TURNER *et al.*, 2019).

Figura 6 – Esquema representando a comparação dos domínios transpeptidase PBP2 e PBP2a



Fonte: Aguayo-Reyes (2018).

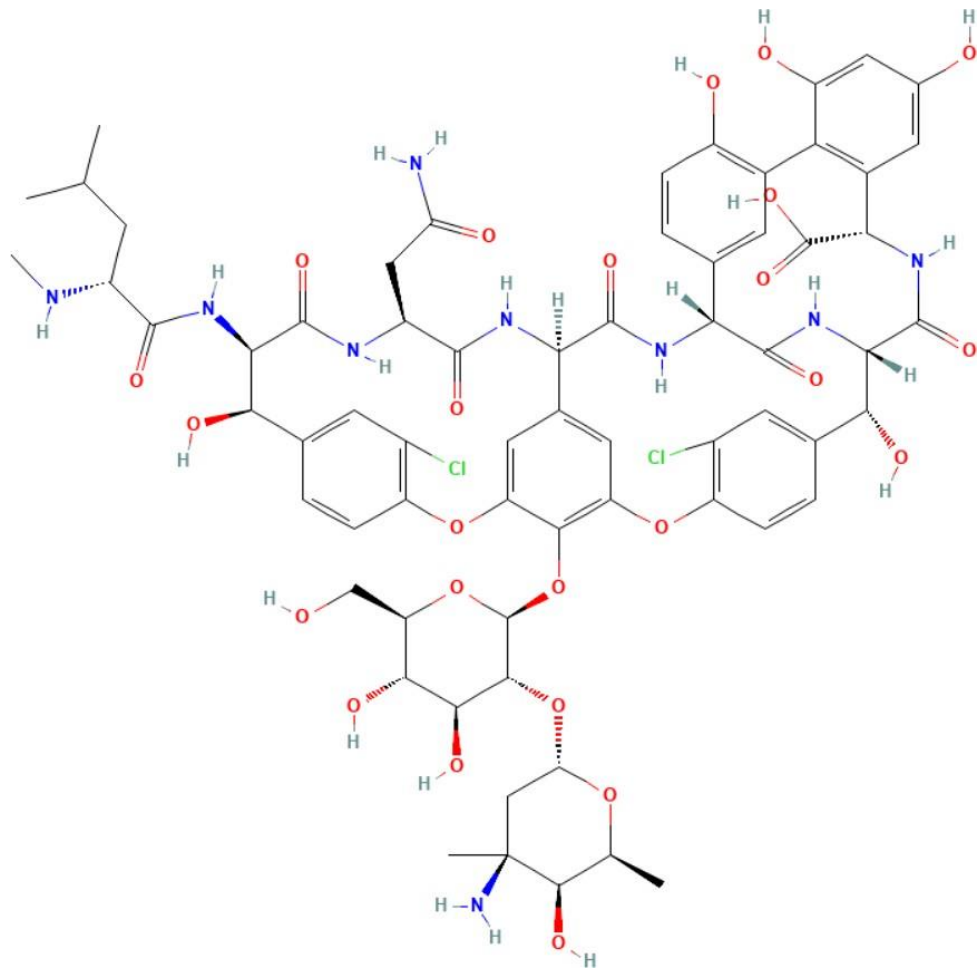
Legenda: Em evidência a porção mais estreita do local ativo em PBP2a, refletindo na baixa afinidade pelo beta-lactâmico

Este gene é carregado por um elemento móvel de estrutura complexa conhecido como cromossomo mec estafilocócico (SCCmec) que além de transportar os determinantes de resistência aos antibióticos, transporta determinantes de virulência e genes que são importantes para sobrevivência das bactérias em determinadas condições de estresse (ROLO *et al.*, 2017).

São encontradas oito formas de SCCmec (I-VIII). Os SCCmec I e IV em conjunto com os genes de resistência à meticilina possuem ainda genes que conferem resistência a outros antibióticos como eritromicina e tetraciclina. Nas cepas CA-MRSA está presente o tipo SCCmec IV, enquanto os outros tipos de SCCmec são menos comuns (ALI ALGHAMDI *et al.*, 2023).

Com o surgimento de *S. aureus* resistentes à meticilina outras opções terapêuticas precisaram ser consideradas. A vancomicina (figura 7), antimicrobiano da classe dos glicopeptídeos tem seu uso em evidência há mais de 50 anos e é de grande importância no tratamento destas cepas multirresistentes. Ela foi isolada em 1952 a partir da fermentação de *Streptomyces orientalis* e seu uso foi aprovado em 1958 após estudos confirmarem seu efeito contra bactérias Gram positivas, incluindo os MRSA. Contudo, com a adesão ao uso da meticilina e efeitos tóxicos envolvendo a própria vancomicina, seu uso foi reduzido para indivíduos alérgicos a fármacos da classe dos beta-lactâmicos ou bactérias resistentes a outros antibióticos, mas com sensibilidade ao glicopeptídeo (TERRA; DA SILVA, 2017).

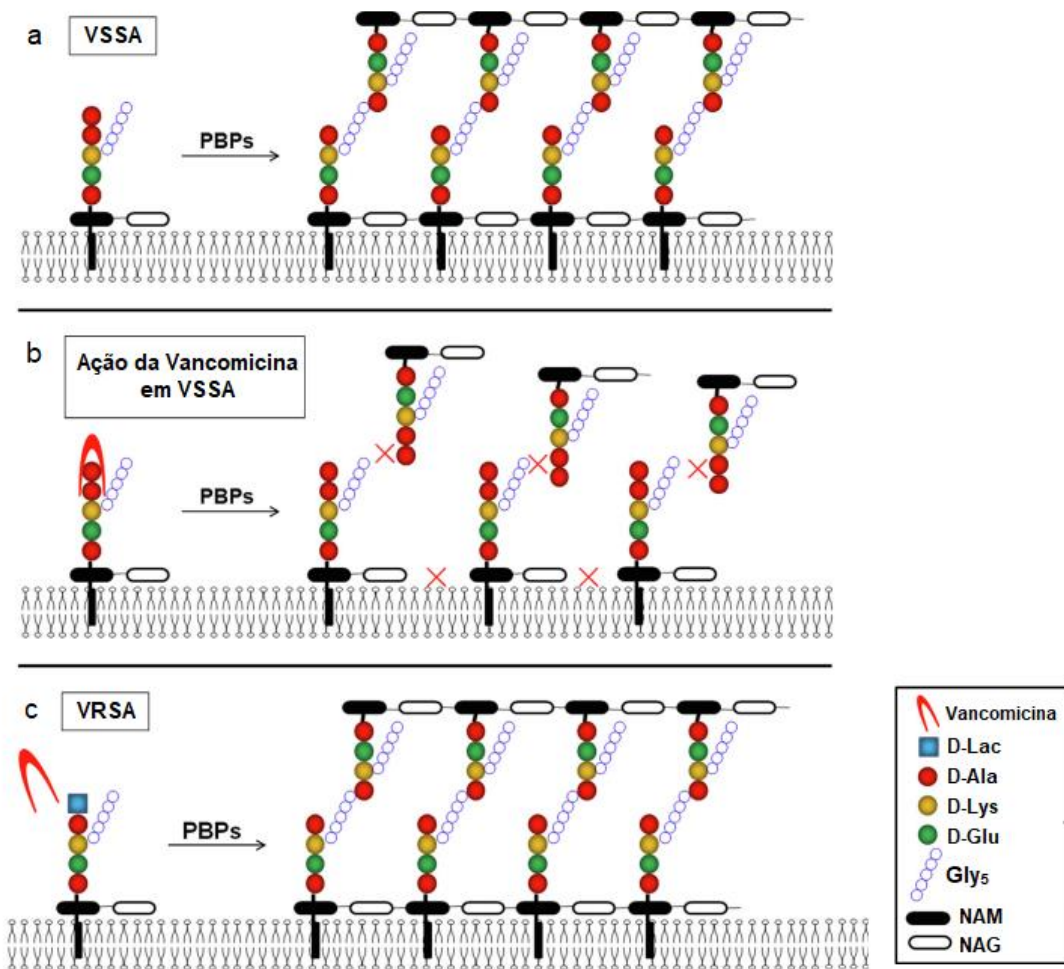
Figura 7 – Estrutura molecular da vancomicina



Fonte: PubChem (2024)

Quando acontece a reprodução bacteriana, o peptidoglicano que faz parte da estrutura da parede celular necessita ser sintetizado, isto ocorre por adição de precursores ao peptidoglicano em desenvolvimento através da transglicosilação e transpeptidação de PBP. Para promover sua ação o glicopeptídeo hidrofílico vancomicina se une a porção terminal D-ala-D-ala do precursor peptídico e irá promover mudanças na conformação, impossibilitando a junção do precursor nas cadeias de peptidoglicano em desenvolvimento e a posterior transpeptidação, causando prejuízo na formação da parede celular e morte bacteriana (figura 8) (DA CUNHA; BAIENSE, 2023).

Figura 8 – Mecanismo de ação da vancomicina



Fonte: adaptado de CONG; YANG; RAO (2020).

Legenda: (a) Síntese normal de peptidoglicano. (b) Inibição da síntese da parede celular bacteriana, por ligação da vancomicina (a azul) à extremidade terminal D-alanil-D-alanina. (c) Mecanismo de resistência à vancomicina: alteração do peptídeo terminal de D-alanil-D-alanina para D-alanil-D-lactato, formando igualmente, a parede celular bacteriana. D-Ala: D-Alanina; D-lac: D-lactato; L-Lisina: L-Lisina; D-Glu: D-glutamato; Gly5: Pentaglicina; NAM: ácido N-acetilmurâmico; NAG: N-acetilglucosamina.

Além de seu uso como terapia empírica para as infecções por MRSA, a vancomicina ainda é a base para o tratamento destes microrganismos multirresistentes (SHARIATI *et al.*, 2020; CHOO; CHAMBERS, 2016). Em meados de 1997 houve no Japão o primeiro relato de *Staphylococcus aureus* intermediário à vancomicina (VISA), uma cepa com concentração inibitória mínima (CIM) de 8 µg/mL e em 2002 o primeiro registro de *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (VRSA) em um paciente diabético nos EUA, com uma CIM acima de 128 µg/mL (SHARIATI *et al.*, 2020; CHUNG; LEE, 2022) e no Brasil, em 2012, foi relatado uma cepa de VRSA denominada de BR-VRSA em amostra de sangue de um homem de 35 anos com câncer de pele no Hospital da Clinicas de São Paulo

(Rossi et al.,2014). Foram registradas a partir de então em torno de 52 isolados de VRSA ao redor do mundo, os quais 16 foram na Índia, 14 nos EUA, 11 no Irã , 9 no Paquistão, 1 no Brasil e 1 em Portugal (CONG *et al.*, 2019).

Estudos sugerem que o principal mecanismo de resistência do MRSA à vancomicina é a bactéria possuir uma maior espessura da sua parede celular e uma menor permeabilidade, reduzindo assim a disponibilidade do glicopeptídeo no seu sítio alvo e interrompendo a sua ação (SHARIATI *et al.*, 2020; DA CUNHA; BAIENSE, 2023). Outro mecanismo seria por aquisição de genes de resistência ao antibiótico mediados por plasmídeos, no qual a resistência total de *S. aureus* à vancomicina se deve ao operon vanA, cuja codificação se dá pelo transposon Tn1546 transferido por espécies de enterococos resistentes a vancomicina (VRE). O operon vanA codifica as proteínas VanS, VanR, VanH, VanA, VanX, VanY e VanZ que assumem papel de grande importância para a resistência ao fármaco (DA CUNHA; BAIENSE, 2023).

Para que haja a resistência à vancomicina mediada por operon vanA dois acontecimentos devem estar presentes: a quebra de precursores de peptidoglicanos dipeptídicos D-Ala-D-Ala, os quais são responsáveis pela ligação ao glicopeptídeo e a formação de novos precursores de peptidoglicanos D-Ala-D-lactato que possuem afinidade reduzida em 1000 vezes pela vancomicina (MCGUINNESS *et al.*, 2017). Quanto às cepas de fenótipo VISA, estas ocorrem frequentemente pela preexistência do fenótipo intermediário chamado de VISA heterogêneo (hVISA). Este fenótipo está relacionado a uma população de células originadas de uma única colônia de *S. aureus* nas quais a maior parte delas possui ou não resistência à vancomicina, apresentando CIM dentro da sensibilidade ($CIM \leq 2 \mu\text{g/ml}$) e há também a presença de uma subpopulação destas cepas que demonstra fenótipo de resistência ao antibiótico ao nível de VISA com uma $CIM > 2 \mu\text{g/ml}$. Os mecanismos envolvidos no desenvolvimento do hVISA ainda estão em estudo (SHARIATI *et al.*, 2020; MCGUINNESS *et al.*, 2017).

As doenças estafilocócicas envolvendo cepas VISA e hVISA representam maiores taxas de falha terapêutica com vancomicina e se relacionam a maior número de dias de internação, a infecções que possam se tornar persistentes e causam onerosidade para as instituições hospitalares (SHARIATI *et al.*, 2020).

O *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) no ano de 2006 estabeleceu uma redução nos limites das CIM para vancomicina frente a *Staphylococcus aureus*, tendo como novos valores $\leq 2 \text{ mg/L}$ para cepas susceptíveis, de 4-8 mg/L para cepas intermediárias e $\geq 16 \text{ mg/L}$ para aquelas consideradas resistentes ao glicopeptídeo (CASAGRANDE *et al.*,

2022). Essas modificações foram importantes para aumentar a efetividade na captação de cepas não sensíveis ao medicamento e evitar problemas advindos do tratamento (DIAZ *et al.*, 2018). No entanto, uma atenção especial deve ser mantida devido a uma redução da sensibilidade das cepas MRSA à vancomicina relatadas em vários estudos ao longo do tempo, fenômeno este conhecido como “MIC creep” (SILVA; SILVA JUNIOR, 2015).

“MIC creep” ou crescimento da CIM em que a vancomicina teria menor efeito quando a CIM fica próximo ao valor limite da sensibilidade (2 mg/L), indicando que a CIM do fármaco teve aumento progressivo com o passar do tempo o que levaria a uma retirada precoce desta opção terapêutica e a falhas no tratamento apesar de determinado isolado ser considerado como sensível ao medicamento (TURNER *et al.*, 2019).

Em referência a isto, pesquisas (VAN HAL *et al.*, 2012; SORIANO *et al.*, 2008) demonstraram desfechos indesejáveis em indivíduos que apresentaram bacteremia por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina com uma CIM aumentada de vancomicina. Outros estudos também relataram que há maiores índices de mortalidade relacionados a este aumento da concentração inibitória mínima, independentemente do local de infecção (SILVA; SILVA JUNIOR, 2015). Além do fato dos MRSA terem uma tendência a apresentar essa sensibilidade reduzida à vancomicina, estudos mostraram que cepas de MRSA sensíveis ao glicopeptídeo se tornam resistentes após antibioticoterapia, o que é preocupante, pois pode com o decorrer do tempo, induzir a geração de *S. aureus* resistente à vancomicina (VRSA) de disseminação comunitária (ROSSI *et al.*, 2014)

A história da resistência dos estafilococos a várias classes de antibióticos, incluindo a vancomicina, é motivo de apreensão global há mais de 7 décadas. Apesar de poucos casos relatados ao redor do mundo, o VRSA é temido por sua alta capacidade virulenta o que limita as opções terapêuticas para estes microrganismos. As cepas resistentes de *S. aureus* (MRSA, VISA e VRSA) são destacadas como bactérias de alta prioridade e com poder de causar altas taxas de mortalidade a nível mundial se novas abordagens terapêuticas não surgirem (MAHARJAN *et al.*, 2021).

2.6 Testes de Sensibilidade *in vitro*

O exame que detecta a presença de prováveis microrganismos em amostras de sangue laboratoriais e é considerado padrão ouro para o diagnóstico de doenças infecciosas na corrente sanguínea é a hemocultura (FRIEDRICH *et al.*, 2022). Para realizar as hemoculturas existem disponíveis muitos aparelhos automatizados como BacT/ALERT® 3D 60/120/240

(BioMérieux, Durham, NC, EUA), BACTEC® modelos FX , série 9000 (9050, 9120, 9240) e BC120 (AutoBio Diagnostics,China) (figura 9), que utilizam método colorimétrico ou fluorescência para detectar crescimento dos microrganismos (GUAREZE; BORDIGNON, 2016).

Figura 9 – Aparelho BC120 (Autobio) para realização de hemoculturas



Fonte: autobio.com

A execução deste exame pelo laboratório de Microbiologia clínica torna possível isolar e identificar o patógeno, traçar o perfil de sensibilidade dos microrganismos frente aos antibióticos e é de grande importância para o uso correto dos antimicrobianos. Além disso, os antibiogramas fornecidos são fundamentais para o programa de gerenciamento do uso racional de antimicrobianos (FRIEDRICH *et al.*, 2022).

Tendo em vista a questão de que a resistência aos antibióticos é uma ameaça à saúde pública de destaque mundial e a importância do uso correto dos antimicrobianos, vários métodos foram elaborados e instalados para promover o controle, estimar o problema e conseguir maneiras de evitar que os patógenos adquiram resistência à esta classe de medicamentos (MACHADO *et al.*, 2021).

A vancomicina é o antimicrobiano de maior uso em doenças causadas por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em diversos países devido à sua ação contra MRSA. Todavia, sua utilidade na prática clínica está em observação crítica devido cada vez mais registros de seu uso estar vinculado a maiores taxas de mortalidade e falha terapêutica em indivíduos com infecção por cepas MRSA com CIM de vancomicina estando no limite superior da sensibilidade. Em vista disto, é importante que os laboratórios de Microbiologia

utilizem em sua rotina testes de sensibilidade que identifiquem com o máximo de seguridade a resistência *in vitro* do microrganismo a este medicamento e trazer opções terapêuticas adequadas *in vivo* (CHEN *et al.*, 2014).

Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos discorrem frequentemente a respeito dos valores da CIM nos resultados dos antibiogramas. Neste sentido, eles referem a menor concentração de antibiótico que inibe o crescimento visível de bactérias. Para este método são utilizadas soluções padrão de bactérias (0,5 escala de McFarland) inoculadas em ágar ou caldo com concentrações conhecidas dos antibióticos (SALAM *et al.*, 2023).

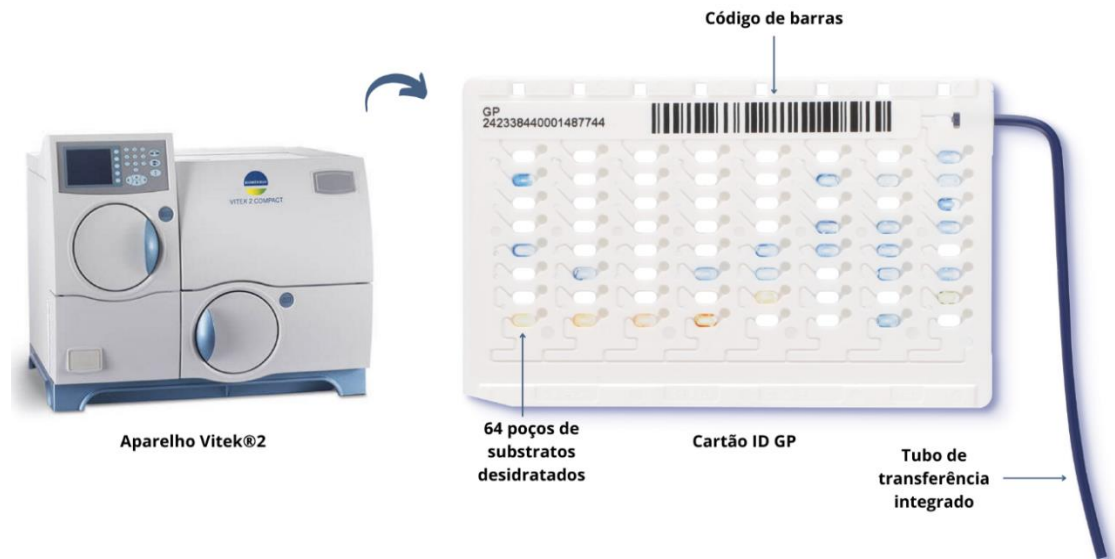
No caso da detecção da presença de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) indicada pelo CSLI (2019), uma triagem inicial é frequentemente feita pelo teste (*screening*) de cefoxitina, em que esta é uma cefamicina considerada de segunda geração que substitui a oxacilina para testar a resistência do *S. aureus* à meticilina devido ter melhor indução para *mecA* e *mecC* tendo maior estabilidade em relação à oxacilina (LEE *et al.*, 2018).

Um conjunto de fatores estão envolvidos para alcançar valores exatos da concentração inibitória mínima frente aos antimicrobianos tais como uso de metodologia apropriada, normas bem estabelecidas e a correta análise dos resultados finais. Dentre as metodologias disponíveis para fornecer a CIM, pode-se destacar métodos automatizados a exemplo do Vitek®2 (BioMérieux, França) e métodos manuais como as tiras gradientes (E-test®) e microdiluição em caldo (MDC) (SALAM *et al.*, 2023; KOWALSKA-KROCHMAL; DUDEK-WICHER, 2021).

O Vitek®2 (figura 10), de fabricação da bioMérieux, utiliza uma tecnologia baseada em métodos colorimétricos e em microdiluição em caldo para proceder com suas etapas de identificação e realização de antibiograma (SALAM *et al.*, 2023; JIMENEZ *et al.*, 2021). Para este sistema é preciso a preparação de uma suspensão de bactérias em salina no padrão de turbidez da escala de McFarland e a partir de então, todas as etapas envolvidas para identificação do microrganismo e Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA) serão feitas de maneira automática (BENKOVA *et al.*, 2020). As cartelas (figura 10) de testes do aparelho apresentam 64 poços contendo provas bioquímicas liofilizadas e usam, a cada 15 minutos três comprimentos de ondas diferentes para as leituras de crescimento dos microrganismos. Ele foi desenvolvido com um banco de dados para identificação de microrganismos e possui cartões de identificação que variam do tipo GN, para bacilos Gram negativo; GP, para cocos e bacilos Gram positivos; ANC, para anaeróbios e corinebactérias; NH, para espécies de *Neisseria* e *Haemophilus* e ainda cartões YST para leveduras (JIMENEZ

et al., 2021). Para o antibiograma os poços possuem concentrações conhecidas de antibióticos e também um poço contendo somente o meio liofilizado sem fármacos para servir de controle positivo (SALAM *et al.*, 2023).

Figura 10 – Ilustração do aparelho Vitek®2 e cartão ID GP



Fonte: Adaptado de BioMérieux Industry (2024).

O Vitek®2 é capaz de processar paralelamente um total de 30 a 240 testes e fornecer resultados em 4 a 8 horas (YAMIN *et al.*, 2023). O sistema foi um dos grandes avanços para a praticidade da obtenção de resultados (figura 11) e fluidez dos recursos laboratoriais (SALAM *et al.*, 2023).

Figura 11 – Exemplo de antibiograma de *Staphylococcus aureus* MRSA

```

RESULTADO DA CULTURA
ISOLADO: Staphylococcus aureus

ANTIBIOGRAMA

Antibiótico          MIC          Sensibilidade
-----
Tigeciclina          0,25        S
Gentamicina          <= 0,5      S
Ceftarolina          0,5         S
Vancomicina          <= 0,5      S
Teicoplanina         <= 0,5      S
Daptomicina          0,25        S
Linezolida           2            S
Trimetoprim/Sulfametoxazol <= 10       S
Benzilpenicilina     >= 0,5      R
Oxacilina             >= 4        R
Clindamicina         >= 4        R
Levofloxacina        >= 8        R
Rifampicina          >= 4        R
Screening de Cefoxitina (Pos)      Pos
Resistência Induzida a Clind (Neg)    Neg
Legenda: S - Sensível I - Sensível, aumentando exposição R - Resistente

Método: Automatizado - Vitek 2 Compact (Biomérieux)
Antimicrobianos testados e interpretados conforme documento BrCAST 2022.

```

Fonte: A autora

Devido ao grande número de antibióticos disponíveis, não é prático testar a sensibilidade a todos eles. Cada laboratório deve elaborar suas próprias opções de antibióticos com base no organismo isolado, local e tipo de infecção, condições do paciente e protocolos institucionais. A interpretação dos resultados é feita com base nos pontos de corte estabelecidos por sistemas de padronização global (GAJIC *et al.*, 2022).

Nos dias atuais, a realização dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos estão mais difíceis de manejo, pois as normas preconizadas pelos comitês de padronização dos mesmos como o *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), o CLSI e a versão brasileira *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST), estão em constantes inovações e acaba limitando algumas metodologias (KOWALSKA-KROCHMAL; DUDEK-WICHER, 2021). Além disso, estudos anteriores mostram que muitos fenótipos de resistência são de difícil detecção por parte dos métodos automatizados tão usados em muitos laboratórios atualmente para os testes de sensibilidade (GAJIC *et al.*, 2022).

É importante salientar que no Brasil, o Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde, através da Portaria nº 64 de 11 de dezembro de 2018 estabeleceu que todos os laboratórios, envolvendo a rede pública e rede privada no país, devem ter como base para a interpretação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) as normas preconizadas pelo documento da versão brasileira do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST/versão BrCAST), a fim de padronizar a realização destes testes (NACIONAL, [s.d.]).

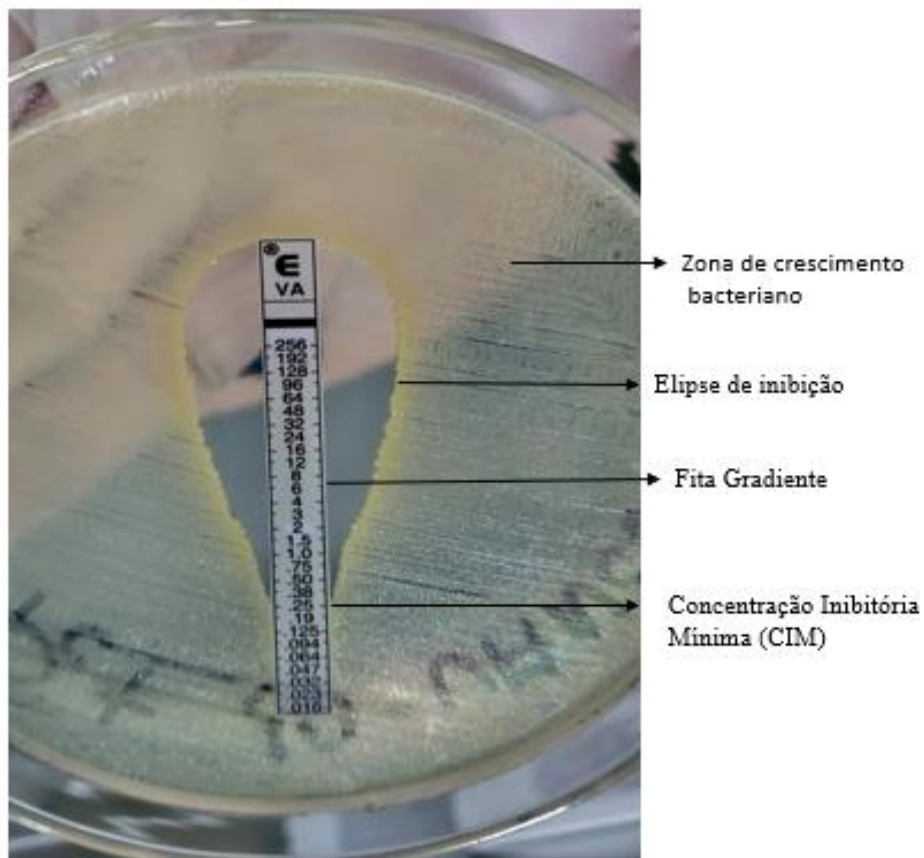
Assim como outras metodologias automatizadas, o Vitek®2 possui muitas vantagens, mas a sua credibilidade para obtenção da CIM está sendo contestada em alguns estudos principalmente em relação aos *Staphylococcus aureus* e isso acaba prejudicando a obtenção de resultados reais (KOWALSKA-KROCHMAL *et al.*, 2023). A superestimação de valores da CIM pelo sistema Vitek®2 em estudos têm se tornado bem evidentes. Este fato pode ser devido a uma adaptação matemática do método de interpolação no sistema e que não era validado pelo CLSI. Em atenção a esta possível falha, os resultados encontrados devem ser analisados com prudência, devendo então considerar que erros técnicos sejam uma limitação do sistema (KUO *et al.*, 2020).

Outra metodologia quantitativa para determinação da CIM dos antibióticos é o método epsilométrico (E-test®). Ele é uma versão comercial do método de gradiente de antimicrobiano e utiliza em conjunto as técnicas dos métodos de diluição e difusão para

encontrar os valores das concentrações inibitórias mínimas (BALOURI *et al.*, 2016). O método manual fenotípico foi desenvolvido por Bolmstrom e Eriksson no final da década de 1980.

O E-test® (figura 12) utiliza um tira plástica que possui impregnado um gradiente de concentração crescente de antibiótico e é colocada na superfície do ágar juntamente com o inóculo do patógeno em estudo. A leitura é feita após incubação de 24 horas e a interpretação da CIM é feita onde ocorre a interseção da tira e da elipse de inibição formada. A interpretação dos valores de CIM obtidos será considerada como “sensível”, “sensível aumentando a exposição” ou “resistente” de acordo com as referências dos comitês de padronização dos testes de sensibilidade (SALAM *et al.*, 2023).

Figura 12 – Ilustração do método da fita gradiente para detecção de CIM



Teste por fita graduada

Fonte: a autora

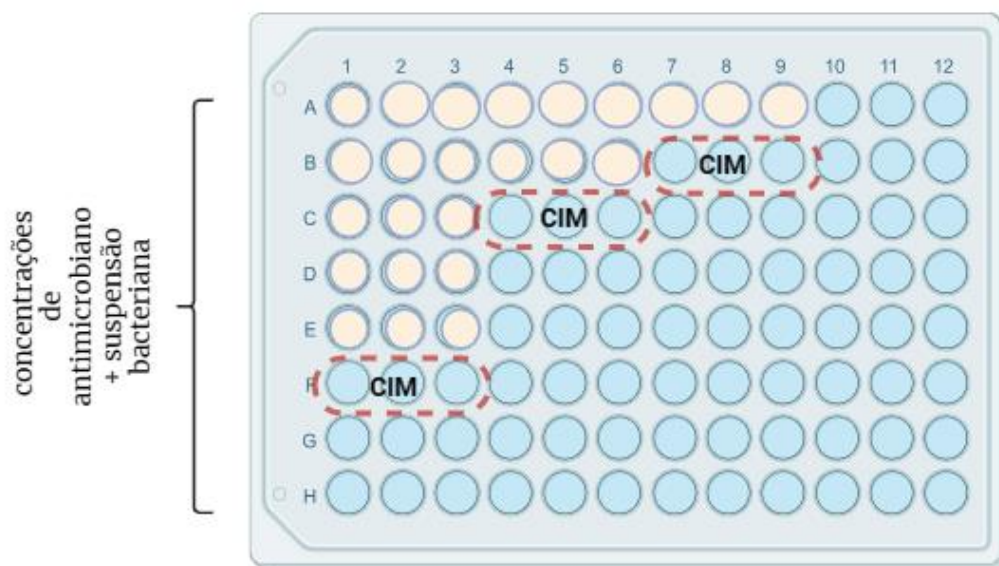
Apesar do E-test® facilitar a identificação e demonstração dos fenótipos de resistência bacteriana por ser um método rápido e descomplicado e trazer praticidade para a rotina do laboratório de microbiologia atualmente ele tem caído em desuso. Isto porque estudos têm revelado que as CIM obtidas por este método variam de acordo com outras

metodologias o que pode levar a valores inconsistentes incluindo para vancomicina frente a *Staphylococcus* spp. (KOWALSKA-KROCHMAL *et al.*, 2021) (KOWALSKA-KROCHMAL; DUDEK-WICHER, 2021).

O método quantitativo considerado padrão ouro para a determinação da sensibilidade de isolados de *S. aureus* à vancomicina é a microdiluição em caldo, cujos critérios para interpretação encontram-se em documentos atualizados pelos comitês de padronização (OPLUSTIL *et al.*, 2020). Este método é o mais confiável para avaliar a sensibilidade aos antimicrobianos, pois demonstra resultados quantitativos e não tem interferência da velocidade de crescimento dos microrganismos segundo Ostrosky *et al.* (2008). No entanto, devido a sua robustez, é considerado de difícil procedimento não se adaptando bem a rotina laboratorial (ROSSATO *et al.*, 2014) (ROSSATO *et al.*, 2014).

A microdiluição trouxe benefícios ao método de macrodiluição em 1977, pois otimizou o volume utilizado ($\sim 100 \mu\text{L}$) e melhorou sua capacidade. O método consiste em avaliar diluições dos antibióticos em placas de plástico descartáveis contendo 96 poços (figura 13). Após ajustes a concentração final de inóculo nos poços deve estar em 5×10^5 UFC/mL. A placa é incubada de 12 a 24 h a 37°C e após esse período observa-se a presença ou não de turbidez de maneira visual ou utilizando um leitor automático (SALAM *et al.*, 2023).

Figura 13 – Placa com 96 poços de microdiluição em caldo



Fonte: Elaborada pela autora (Biorender).

Estudos relacionados com o desempenho dessas metodologias de determinação da concentração inibitória mínima de *Staphylococcus aureus* frente à vancomicina têm apontado que os sistemas automatizados tendem a obter resultados inexatos quando esta CIM de vancomicina chega a 2 µg/mL (KUO *et al.*, 2020). Já outras pesquisas, demonstraram que os resultados das CIM obtidas de E-test[®] tiveram uma concordância baixa em relação aos valores da microdiluição em caldo principalmente em isolados de *Staphylococcus* spp. frente aos glicopeptídeos (KOWALSKA-KROCHMAL *et al.*, 2023). Em vista disto, resultados errôneos da CIM podem acarretar no uso indevido de medicamentos de segunda escolha para o tratamento de bacteremia por *S. aureus*. Esses fatos levam a indagação de que os profissionais médicos devem então, ao avaliarem as opções de manejo clínico disponíveis, levar em consideração a realização de exames que se complementem a fim de embasar a decisão da mudança da terapêutica (KUO *et al.*, 2020; BOBENCHIK *et al.*, 2014).

Assim sendo, além da compreensão dos mecanismos de resistência aos antimicrobianos ser de grande relevância para o uso racional dos mesmos e para a produção de novos fármacos (CUSSOLIM; JUNIOR, 2021), o conhecimento precoce e assertivo dos perfis de resistência é também uma ferramenta imprescindível para a elaboração de planos de gerenciamento de antimicrobianos evitando assim o surgimento de cepas resistentes (KUO *et al.*, 2020).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Comparar o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus* isolados de hemoculturas em hospital terciário obtido por diferentes métodos laboratoriais de determinação da concentração inibitória mínima.

3.2 Específicos

- a) Determinar a frequência de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) em amostras de sangue de um hospital terciário;
- b) Analisar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de cepas MRSA e MSSA em amostras de hemocultura em ambiente hospitalar;
- c) Determinar a CIM de oxacilina e vancomicina para *S. aureus* pelo método automatizado Vitek®2
- d) Determinar a CIM de oxacilina e vancomicina para *S. aureus* por microdiluição em caldo
- e) Determinar a CIM de vancomicina para *S. aureus* pelo método de fita gradiente
- f) Comparar as metodologias do Vitek®2, microdiluição em caldo e fita gradiente quanto a determinação da sensibilidade de MRSA e MSSA frente a oxacilina e vancomicina

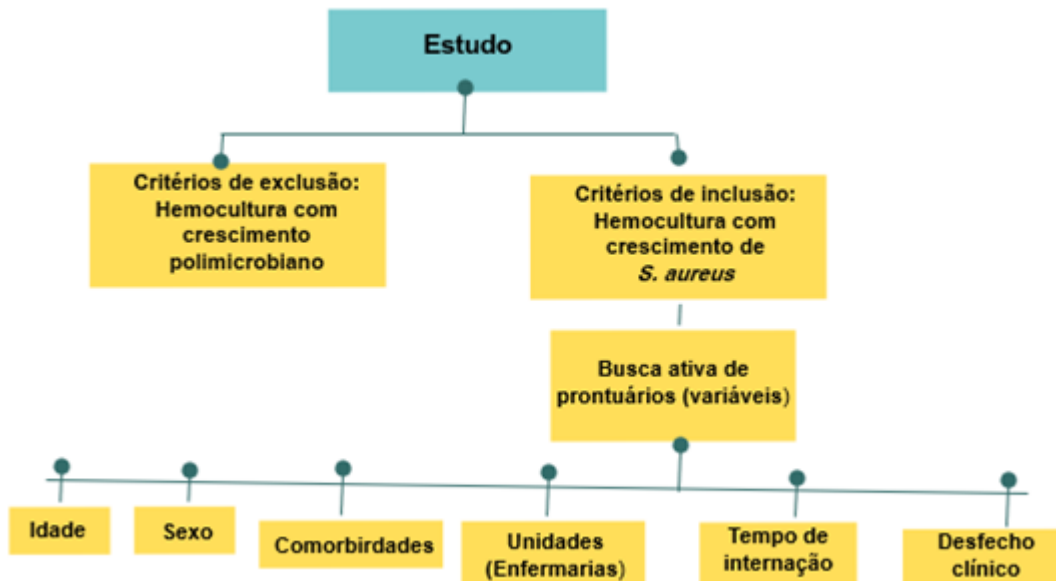
4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de um estudo de caráter transversal analítico de abordagem quantitativa, no qual foram avaliados 62 isolados de *Staphylococcus aureus* de amostras de hemoculturas coletadas de pacientes do Hospital Carlos Alberto Studart (Hospital do Coração de Messejana) no Ceará, no período de agosto de 2022 a julho de 2023. O hospital é uma instituição pública terciária especializada no diagnóstico e tratamento de doenças cardíacas e pulmonares que conta com 491 leitos de internação, incluindo 70 leitos de UTI e realiza procedimentos de alta complexidade, como transplantes cardíacos adulto e pediátrico. Foram incluídas no estudo somente hemoculturas positivas para *S. aureus* e excluídas as que apresentaram crescimento polimicrobiano.

O estudo foi realizado em 4 etapas: inicialmente foram selecionadas as hemoculturas dos pacientes que eram amostras positivas para *Staphylococcus aureus* e realizada a análise de prontuários. Foram observadas as seguintes variáveis para análises: sexo, idade, enfermarias, comorbidades, tempo de internação (data de entrada do paciente no hospital, até a alta hospitalar) e desfecho clínico (alta hospitalar/óbito). Na segunda etapa, ainda no hospital referido no estudo, foram observadas as sensibilidades aos antimicrobianos por método automatizado Vitek[®]2 (BioMerieux, França) e averiguados dados do sistema do laboratório a fim de verificar o perfil de sensibilidade e resistência aos antibióticos. Na terceira etapa, os isolados de *S. aureus* foram encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas Professor Doutor Eurico Litton Pinheiro de Freitas (LACT/FFOE/UFC) onde foram feitas as determinações de CIM por método de microdiluição em caldo e Etest. Por fim, foram comparadas as CIM da vancomicina obtidas das cepas com as diferentes metodologias abordadas (automação, E-test e microdiluição em caldo).

As análises foram feitas em triplicatas e foram utilizadas como controle as cepas ATCC MRSA 33591 e MSSA 6538p. No estudo foram incluídas apenas amostras de hemoculturas e que tivessem crescimento de *Staphylococcus aureus*, sendo excluídas aquelas hemoculturas com crescimento polimicrobiano.

Figura 14 – Fluxograma demonstrando critérios de inclusão e exclusão e variáveis consideradas para o estudo



Fonte: Elaborada pela autora

4.1 Obtenção das cepas

Para identificação das cepas de *S. aureus*, as hemoculturas dos pacientes foram incubadas em aparelho BC120 (AutoBio Diagnostics, China) para detecção microbiológica na realização das culturas de sangue. Após indicação de crescimento pelo aparelho, foram feitas sementeiras do material nos meios ágar chocolate e ágar sangue para posterior identificação dos microrganismos e realização de antibiograma em automação no aparelho Vitek[®]2 (BioMerieux, França), utilizando cartão GP ID (Figura 14) e cartão AST-P585 respectivamente. Todos os isolados foram testados por essa metodologia automatizada, de acordo com as normas do BrCAST (2022), cujo ponto de corte para interpretar a sensibilidade de *S. aureus* à vancomicina é uma CIM ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$ a bactéria é considerada sensível e para uma CIM > 2 $\mu\text{g/mL}$ é relatada resistência ao antibiótico.

Figura 15 – Cartão de Identificação e antibiograma do Vitek[®]2



Fonte BioMerieux

As cepas foram transportadas refrigeradas para o LACT-UFC, armazenadas em meio inclinado (Mueller-Hinton) e congeladas a -80°C para depois processar os testes de microdiluição em caldo e método de Etest.

4.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

4.2.1 Determinação de CIM por Sistema Comercial Automatizado (Vitek[®]2)

Após a detecção do microrganismo, utilizando-se cepas recém-isoladas durante a rotina laboratorial, foi feita uma inoculação padronizada e adicionada aos cartões de identificação GP (Gram positivo) e no cartão de antibiograma do aparelho Vitek[®]2 utilizando diluição seguindo escala de McFarland. O inóculo foi preparado com o auxílio de uma alça estéril sendo transferida uma quantidade suficiente da colônia da bactéria após 24/48 h de cultivo para um tubo de ensaio de material poliestireno transparente 12×5 mm com 3 ml de salina estéril. Com aparelho densitômetro Densichek (BioMerieux, França) (Figura 15) ajustou-se a turbidez entre 0,50 a 0,63 unidades escala de McFarland para bactérias Gram positivas.

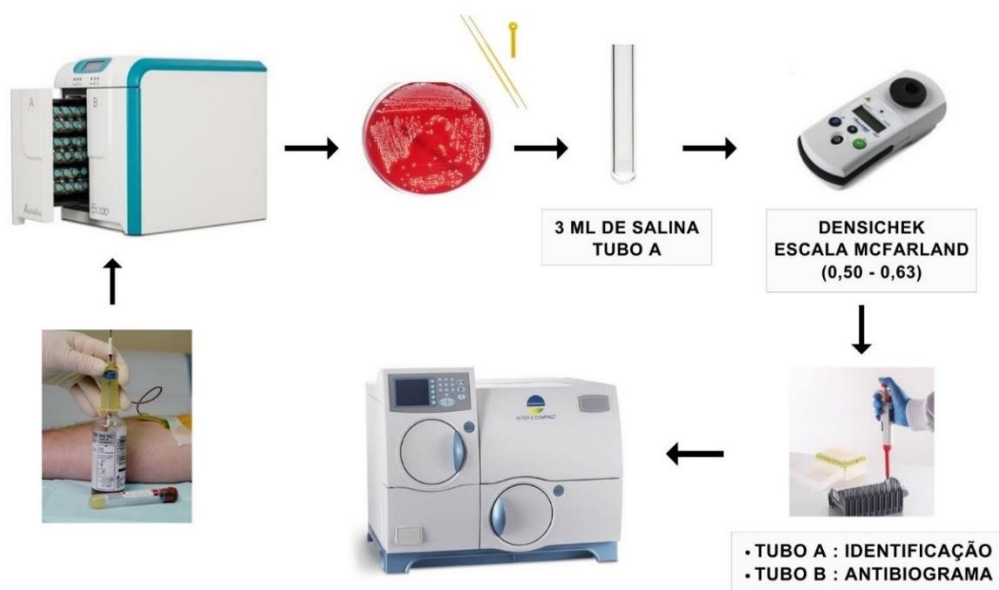
Figura 16 – Densicheck



Fonte: BioMerieux

Para o preparo da realização do teste de sensibilidade foram adicionados 3 ml de salina estéril em outro tubo de mesma referência e transferido com pipeta automática um volume de 280 μL proveniente do tubo de identificação. Os tubos de ensaio com as suspensões bacterianas foram colocados em cassetes com os referidos cartões de identificação e antibiograma e introduzidas no aparelho (Figura 16).

Figura 17 – Desenho esquemático da identificação e antibiograma da bactéria utilizando o Vitek[®]2



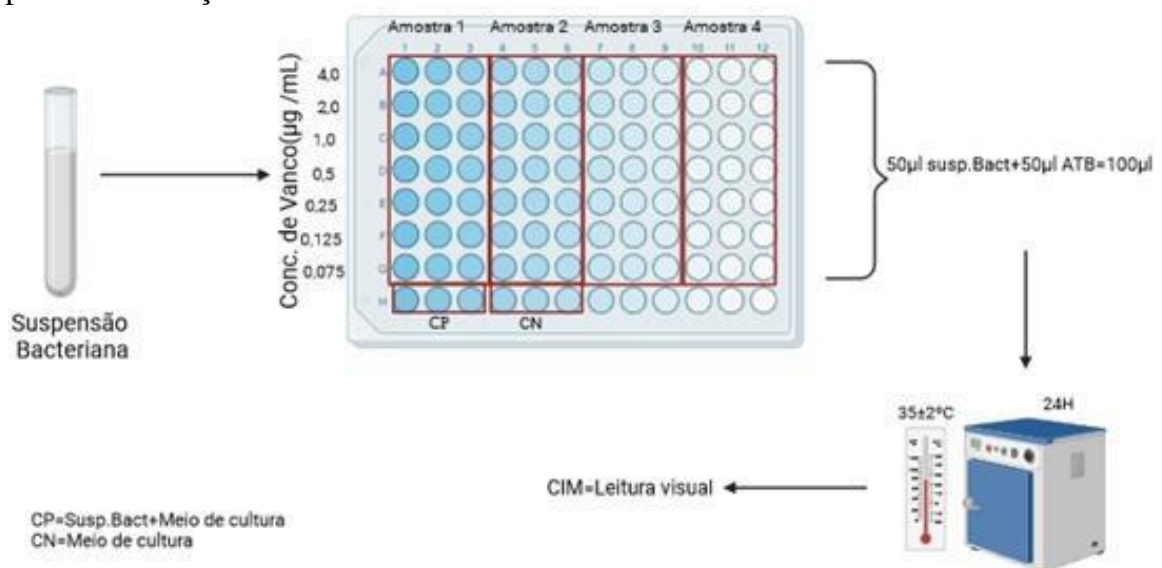
Fonte: Elaborado pela autora (Canva).

Os resultados ficaram disponíveis após período de incubação, com a probabilidade em porcentagem (%) de ser reconhecido como determinado microrganismo, revelando gênero/espécie.

4.2.2 Determinação de CIM por Microdiluição em Caldo (MDC)

Segundo o CLSI (2019) este método quantitativo é o padrão ouro para determinar a CIM dos isolados de *S. aureus* frente à vancomicina. Para o teste foram utilizadas placas de microdiluição com 96 poços e uma suspensão bacteriana preparada em caldo Mueller Hinton (MH), onde a concentração foi ajustada a 0,5 da escala de McFarland por comparação visual através de um tubo de ensaio comercial com turbidez devidamente padronizada. Em seguida, obteve-se uma suspensão de diluição (1×10^6 UFC/mL) em caldo MH de onde foram pipetados 50 μ L da suspensão bacteriana em cada poço da placa aos quais foram acrescentados 50 μ L do antimicrobiano, totalizando 100 μ L de volume por poço. As diluições para oxacilina e vancomicina usadas foram de 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125 e 0,075 μ g/mL, estas concentrações foram determinadas a partir das distribuições de CIM para MSSA e MRSA informados pelo BrCAST e CLSI. As placas foram devidamente inoculadas e incubadas por 18 a 24 horas em estufa bacteriológica a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ em atmosfera adequada (Figura 17).

Figura 18 – Desenho esquemático da detecção da concentração inibitória mínima por microdiluição em caldo



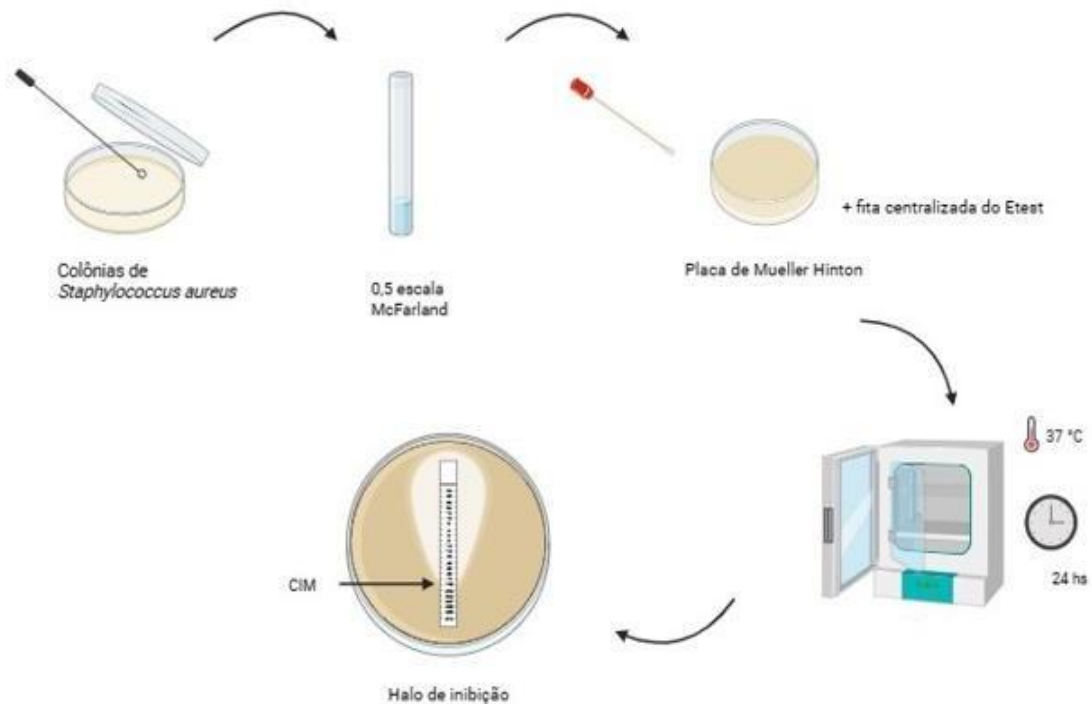
Fonte: Elaborado pela autora (Biorender).

Após a incubação, foi feita leitura da CIM. Para interpretação, é avaliada a presença ou não de turbidez, na qual a presença indica crescimento bacteriano e a ausência de turbidez é indicativa de que o antimicrobiano foi eficaz. Na interpretação final, a menor concentração do antibiótico que não houver turvação é considerada a CIM. Para o estudo foram determinadas as CIM por microdiluição em caldo para vancomicina e oxacilina.

4.2.3 Determinação de CIM por Etest®

O Etest® (BioMérieux, França) é um teste comercial manual quantitativo para avaliar a sensibilidade aos antimicrobianos. Ele apresenta tiras de gradiente onde a concentração de vancomicina varia de 0,016 a 256 µg/mL. As bactérias armazenadas foram ativadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI). Para a CIM por Etest® foi inoculada uma suspensão bacteriana após ajuste em 0,5 de McFarland em ágar Mueller Hinton (BioMerieux Brasil) utilizando um swab estéril, depois foi depositada a fita na parte central da placa e realizada a incubação por $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa bacteriológica. Após 24 h de incubação, a leitura da CIM é realizada de maneira visual no local onde a elipse toca a tira do Etest (Figura 18). Este método foi utilizado apenas para detecção de CIM da vancomicina.

Figura 19 – Esquema da realização do Etest para vancomicina



Fonte: Elaborado pela autora (Biorender).

4.2.4 Análise estatística

Os dados foram analisados nos *softwares* estatísticos IBM-SPSS® versão 20 e GraphPad Prism® versão 9.5.1, tendo sua normalidade verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Dessa forma, foram analisadas as concordâncias entre os métodos (Vitek®2 vs MDC; MDC vs E-test; Vitek®2 vs E-test) e sua confiabilidade pelo teste de Kappa de Cohen, utilizando como parâmetros de interpretação a Tabela 2. Além disso, para avaliação quantitativa paramétrica foi realizado a correlação de Pearson, utilizando como base para interpretação a Tabela 3, e para a análise das variáveis quantitativas independentes de distribuição normal foi realizado o Teste T não paramétrico, para 2 categorias, e ANOVA, para mais de duas categorias. E ainda, as variáveis categóricas tiveram suas distribuições verificadas por teste de Qui-quadrado. Portanto, um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Tabela 2 – Interpretação do coeficiente de Kappa de Cohen

Valor de Kappa	Nível de concordância	% de dados que são confiáveis
0 – 0.2	Nenhum	0 – 4%
0.21 – 0.39	Mínimo	4 – 15%
0.40 – 0.59	Fraco	15 – 35%
0.60 – 0.79	Moderado	35 – 63 %
0.80 – 0.90	Forte	64 – 81 %
Acima de 0.90	Quase perfeito	82 – 100%

Fonte:
McHugh,
2012.

Tabela 3 – Interpretação da correlação de Pearson

Valor de r	Correlação
0.1 – 0.3	Fraco
0.4 – 0.6	Moderado
0.7 – 1	Forte

Fonte: Brito *et al.*, 2009.

4.2.5 Aspectos éticos

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição sob Número do Parecer: 5.557.687/2022, seguindo todas as normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde, através da Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012, que incorpora projetos de pesquisa envolvendo seres humanos (Anexo A) (BRASIL, 2012).

5 RESULTADOS

5.1 Características dos pacientes

Durante o período do estudo, o hospital teve um total de 7361 solicitações de hemoculturas. Destas, 1299 (17,65%) apresentaram resultado positivo, sendo 62 (4,80%) positivas para *S. aureus*. Dos pacientes atendidos, 40 (64,52%) eram do sexo masculino e 22 (35,48%) eram pacientes do sexo feminino. Analisando a distribuição por sexo para cepas resistentes à oxacilina obteve-se uma porcentagem aproximada de MRSA para ambos os sexos (20,97% masculino e 16,13% feminino), mostrando que não houve diferença entre eles ($p = 0,079$) (Tabela 4).

Tabela 4 – Características Gerais dos pacientes com *S. aureus* (MRSA e MSSA) presentes em hemoculturas, no período de agosto de 2022 a julho de 2023

	MRSA n=23 (37,10%)	MSSA n = 39 (62,90%)	P
Sexo n(%)			
Masculino	13 (20,97%)	27 (43,55%)	0,0788 ^a
Feminino	10 (16,13%)	12 (19,35%)	
Idade (anos)	51,46 ± 5,092	55,25 ± 4,379	0,5860 ^b
Faixa etária (anos)			
0-10	3 (4,84%)	4 (6,45%)	0,0045 ^a
11-19	0 (0,00%)	2 (3,23%)	
20-39	1 (1,61%)	4 (6,45%)	
40-59	9 (14,52%)	8 (12,90%)	
>60	10 (16,13%)	21 (33,87%)	
Desfecho n(%)			
Alta	12 (19,36%)	28 (45,16%)	0,1188 ^a
Óbito	11 (17,74%)	11 (17,74%)	
Tempo de internação (dias)	50,91 ± 5,069	32,13 ± 3,084	0,0014 ^b
Unidade n(%)			
Emergência	3 (4,84%)	11 (17,74%)	0,0247 ^a
UTI	3 (4,84%)	3 (4,84%)	
Unidades de internação	17 (27,42%)	25 (40,32%)	
Comorbidades n(%)			
Insuficiência Cardíaca Congestiva	9 (40,90%)	13 (59,10%)	0,469 ^a
Hipertensão Arterial Sistêmica	7 (36,84%)	12 (63,16%)	
Diabetes Mellitus	3 (30%)	7 (70%)	
Insuficiência Renal Crônica	2 (28,57%)	5 (71,43%)	
Cardiopatias	3 (42,86%)	4 (57,14%)	
Doença Arterial Crônica	0 (0,0%)	7 (100%)	

Fonte: Elaborado pela autora

Legenda: * $p < 0,05$; ^aQui-quadrado; ^bTeste T não pareado.

Quanto ao perfil de sensibilidade à meticilina verificou-se que 23 (37,10%) foram caracterizadas como MRSA e 39 (62,90%) apresentaram sensibilidade à oxacilina (MSSA). Ao analisar o tempo de internação dos pacientes, foi visto que as cepas MRSA estão associadas a um maior período de permanência hospitalar ($p= 0,014$). No entanto, não foi observada diferença em relação ao desfecho clínico, uma vez que 22 pacientes (35,48%) foram a óbito sendo que dentre estes 50% foram de pacientes acometidos por bacteremia por MRSA ($p= 0,1188$) (tabela 4).

Em se tratando da média de idade dos internos acometidos por infecção por MRSA e MSSA correspondeu a $51,46 \pm 5,092$ e $55,25 \pm 4,379$ anos, respectivamente. Observou-se que indivíduos com uma faixa etária acima de 60 anos foram os mais associados à bacteremia tanto por cepas MRSA (16,13%) como pelas MSSA (33,87%) ($p = 0,045$). Ao se analisar em quais unidades do hospital houve maior número de casos de infecção de corrente sanguínea por este microrganismo, foi visto que houve uma maior incidência para as unidades de internação (incluindo Posto IV, Unidade H, Unidade I, Unidade G, Estabilização e outros) (67,74%), seguida da Emergência (22,58%) e Unidades de Terapia Intensiva (UTI) (9,68%) ($p = 0,0247$) (Tabela 4).

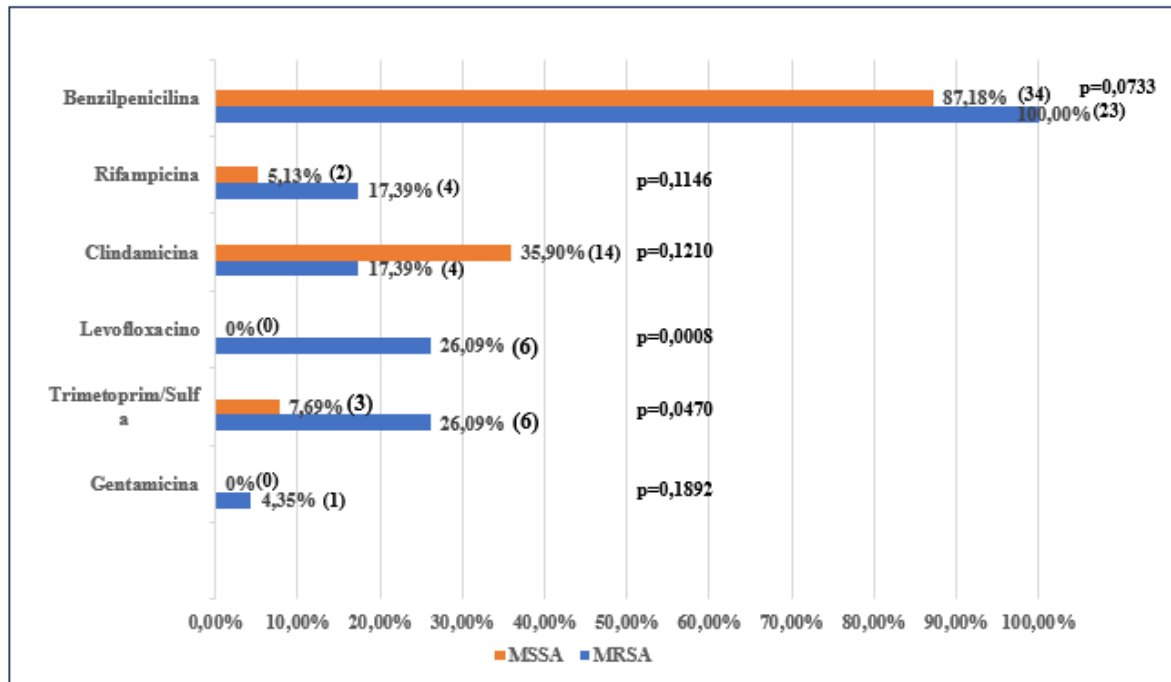
A presença de doenças preexistentes também foi analisada e foi visto que apenas 2 pacientes (3,23%) não tinham doença prévia à hospitalização. A maioria dos pacientes tinha entre 1 e 2 doenças relatadas (80,65%) e 16,13% apresentavam histórico de mais de 3 agravos clínicos. Dentre estas foram destacadas: insuficiência cardíaca congestiva (ICC), hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), insuficiência renal crônica (IRC), cardiopatias e doença arterial crônica (DAC). Todas elas tiveram maior frequência em pacientes com infecção por MSSA, mas não houve uma diferença significativa entre os dois grupos MSSA e MRSA ($p= 0,469$) (Tabela 4).

5.2 Resistência aos antimicrobianos pelas cepas MSSA e MRSA

Staphylococcus aureus fenótipo MRSA apresentaram maiores taxas de resistência, no geral. Para os antimicrobianos levofloxacino ($p= 0,0008$) e trimetoprim/sulfametoxazol ($p= 0,0470$) a incidência de resistência foi significativamente maior em comparação com as cepas de MSSA, conforme ilustrado na figura 19. Foi observado que 88,68% dos isolados MSSA foram sensíveis a todos os antibióticos testados e que suas taxas de resistência foram maiores para Benzilpenicilina, clindamicina e trimetoprim/sulfametoxazol. Um percentual considerável de cepas de *Staphylococcus aureus* foi sensível a gentamicina (fig. 19). Todas

as cepas tiveram sensibilidade de 100% à vancomicina, teicoplanina, linezolida, daptomicina e tigeciclina (tabela 5).

Figura 20 – Taxas de resistência aos antibióticos dos isolados MRSA e MSSA em valores relativos e absolutos



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: *p<0,05; Qui-quadrado.

Tabela 5 – Perfil de Sensibilidade dos *S. aureus* MSSA e MRSA isolados das hemoculturas, no período de agosto de 2022 a julho de 2023

Antimicrobiano		MRSA (n=23)	MSSA (n = 39)	P
Benzilpenicilina	Sensível	0 (0,00%)	5 (12,82%)	0,0733
	Resistente	23 (100%)	34(87,18%)	
Oxacilina	Sensível	0 (0,00%)	39 (100%)	< 0,0001
	Resistente	23 (100%)	0 (0,00%)	
Vancomicina	Sensível	23 (100%)	39 (100%)	-
	Resistente	0 (0,00%)	0 (0,00%)	
Gentamicina	Sensível	22 (95,65%)	39 (100%)	0,1892
	Resistente	1 (4,35%)	0 (0,00%)	
Levofloxacino	Sensível	17 (73,91%)	39 (100%)	0,0008
	Resistente	6 (26,09%)	0 (0,00%)	
Clindamicina	Sensível	19 (82,61%)	25(64,10%)	0,1210
	Resistente	4 (17,39%)	14(35,90%)	
Linezolida	Sensível	23 (100%)	39 (100%)	-
	Resistente	0 (0,00%)	0 (0,00%)	
Daptomicina	Sensível	23 (100%)	39 (100%)	-
	Resistente	0 (0,00%)	0 (0,00%)	
Teicoplanina	Sensível	23 (100%)	39 (100%)	-
	Resistente	0 (0,00%)	0 (0,00%)	
Tigeciclina	Sensível	23 (100%)	39 (100%)	-
	Resistente	0 (0,00%)	0 (0,00%)	
Rifampicina	Sensível	19 (82,61%)	37 (94,87%)	0,1146
	Resistente	4 (17,39%)	2 (5,13%)	
Trimetoprim/Sulfametoxazol	Sensível	17 (73,91%)	36 (92,31%)	0,0470
	Resistente	6 (26,09%)	3 (7,69%)	

Fonte: Elaborado pela autora,

Legenda: *p<0,05; Qui-quadrado.

5.3 Comparação dos métodos para determinação da CIM de Oxacilina

Na determinação da CIM de oxacilina a partir do método de MDC foram obtidos resultados de CIM entre 0,125 e 4 µg/ml, sendo 7 isolados com CIM de 4 µg/mL, 5 isolados com CIM de 2 µg/mL, 7 isolados com CIM de 1 µg/mL, 6 isolados com CIM de 0,5 µg/mL, 34 isolados com CIM de 0,25 µg/mL e 3 isolados com CIM de 0,125 µg/mL (Tabela 6). A concordância atribuída entre eles foi de 59,7 %, valor que expressa a quantidade em percentual de resultados idênticos alcançados pelos métodos; sendo 45,2% concordantes com CIM igual a 0,25 µg/mL, 3,2% para 0,5 µg/mL e 11,3% para 4 µg/mL.

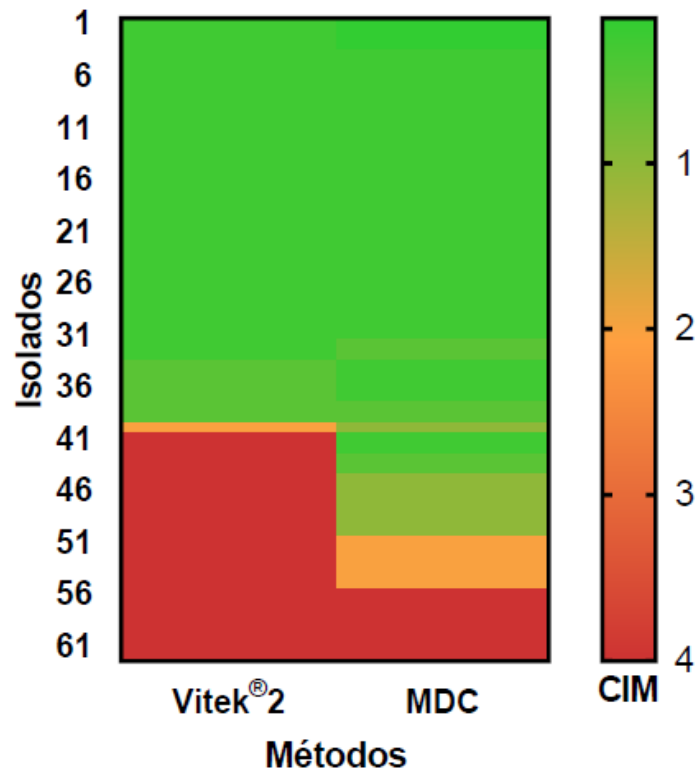
As CIM de oxacilina obtidas pelo método automatizado Vitek®2 variaram entre 0,25 e 4 µg/ml, sendo 22 isolados com CIM de 4 µg/mL, 1 isolados com CIM de 2 µg/mL, 6 isolados com CIM de 0,5 µg/mL e 33 isolados com CIM de 0,25 µg/mL. Dessa forma, ao comparar esses resultados, foi identificado divergência nas CIM de 25 dos 62 isolados (40,32%), com variação de até 4 diluições, podendo ser identificado visual no mapa de calor que o Vitek tende a apresentar valores mais altos de CIM (Figura 20).

Tabela 6 – Concordância entre os métodos Vitek®2 e MDC para determinação CIM de oxacilina de isolados de *S. aureus* (n=62)

Vitek®2	MDC						Total
	0,125	0,25	0,5	1	2	4	
0,125	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
0,25	3 (4,8%)	28 (45,2%)	2 (3,2%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	33 (53,2%)
0,5	0 (0%)	4 (6,5%)	2 (3,2%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (9,7%)
1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1,6%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1,6%)
4	0 (0%)	2 (3,2%)	2 (3,2%)	2 (3,2%)	6 (9,7%)	7 (11,3%)	22 (35,5%)
Total	3 (4,8%)	34 (54,8%)	6 (9,7%)	7 (11,3%)	5 (11,3%)	7 (11,3%)	62 (100%)
Concordância							59,7 %

Fonte: Elaborada pela autora

Figura 21 – Mapa de calor das CIM de oxacilina obtidas pelo Vitek®2 e MDC dos 62 isolados de *S. aureus*

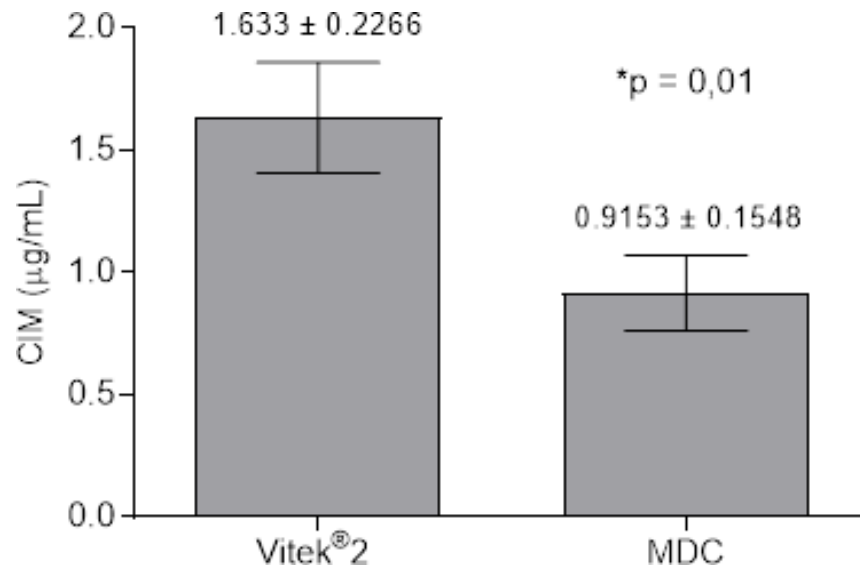


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: MDC – Microdiluição em Caldo; CIM – Concentração Inibitória Mínima

No geral, os resultados emitidos pelo Vitek®2 apresentaram uma média mais elevada de CIM ($1.633 \pm 0.2266 \mu\text{g/mL}$) que a MDC ($0.9153 \pm 0.1542 \mu\text{g/mL}$) ($p = 0,01$) (Figura 21).

Figura 22 – Média da CIM de oxacilina de isolados de *S. aureus* obtidas pelo Vitek®2 e MDC

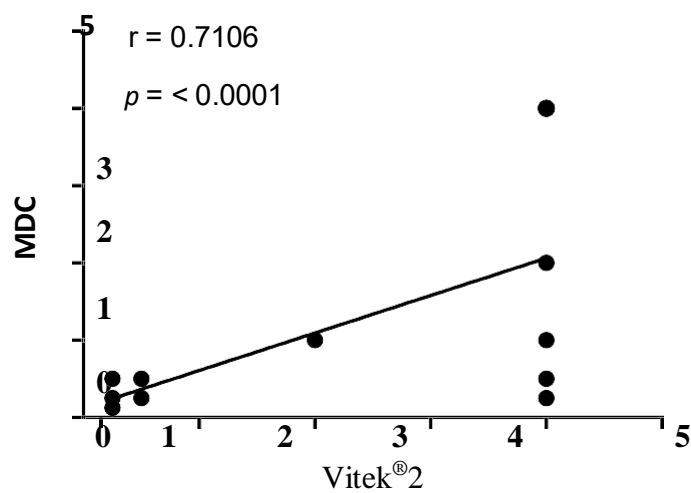


Fonte: Elaborada pela autora.

Teste t não pareado (* $p < 0,05$); CIM – Concentração Inibitória Mínima; MDC – Microdiluição em Caldo. resultados mostrados como média \pm erro padrão da média.

Buscando avaliar a correlação entre os métodos MDC e Vitek®2, foi realizado o teste de correlação de Pearson, identificando uma correlação positiva forte entre os métodos ($r = 0.7106$; $p = <0.0001$), sugerindo que o aumento da CIM no Vitek®2 está sendo acompanhado pelo aumento da CIM na MDC (Figura 22).

Figura 23 – Correlação de Pearson das CIM (µg/mL) de Oxacilina de isolados de *S. aureus* obtidas pelo Vitek®2 e MDC



Fonte: Elaborada pela autora.

Correlação de Pearson ($p < 0,05$); MDC – Microdiluição em Caldo.

O teste de Kappa de Cohen aplicado às CIM de oxacilina obtidas por esses métodos mostrou uma confiabilidade mínima entre Vitek[®]2 e MDC ($K= 0,387$; $P < 0,001$; concordância= 59,7%), com intervalo de confiança entre 4% e 15%.

5.4 Comparação dos métodos para determinação da CIM de vancomicina

As CIM da Vancomicina foram determinadas para os 62 isolados a partir de três diferentes métodos (MDC, Vitek[®]2 e E-test[®]), a fim de avaliar seu grau de concordância, média geométrica, correlação e confiabilidade.

Na determinação da CIM de vancomicina a partir do método de MDC foram obtidos resultados de CIM entre 0,5 e 2 µg/ml, sendo 1 isolado com CIM de 2 µg/mL, 8 isolados com CIM de 1 µg/mL e 53 isolados com CIM de 0,5 µg/mL. No que tange as CIM de vancomicina obtidas pelo Vitek[®]2, também houve variação entre 0,5 e 2 µg/ml, sendo 2 isolados com CIM de 2 µg/mL, 17 isolados com CIM de 1 µg/mL e 43 isolados com CIM de 0,5 µg/mL. Assim, ao analisar os resultados das CIM de vancomicina obtidas pela MDC e Vitek[®]2, foi identificado divergência nas CIM de 13 dos 62 isolados, com variação de 1 diluição, obtendo-se uma concordância de 79% dos resultados (Tabela 7).

Tabela 7 – Concordância entre os métodos Vitek[®]2 e MDC para determinação CIM de Vancomicina de isolados de *S. aureus* (n=62)

Vitek [®] 2	MDC			Total
	0,5	1	2	
0,5	42 (67,7%)	1 (1,6%)	0 (0%)	43 (27,4%)
1	11 (17,7%)	6 (9,7%)	0 (0%)	17 (27,4%)
2	0 (0%)	1 (1,6%)	1 (1,6%)	2 (3,2%)
Total	53 (85,5%)	2 (12,9%)	1 (1,6%)	62 (100%)
Concordância				79 %

Fonte: Elaborada pela autora.

Adicionalmente aos métodos mencionados, ao determinar a CIM de vancomicina pelo método manual E-test[®] foram obtidas CIM entre 0,25 e 1 µg/ml, sendo 4 isolados com CIM de 1 µg/mL, 41 isolados com CIM de 0,5 µg/mL e 17 isolados com CIM de 0,25 µg/mL. Ao comparar esses resultados com os obtidos pelo Vitek[®]2, foram identificadas divergências em CIM de 29 dos 62 isolados, com variação de até 2 diluições. Além disso, a concordância obtida foi de 38,7 % (Tabela 8).

Tabela 8 – Concordância entre os métodos Vitek[®]2 e E-test[®] para determinação CIM de Vancomicina de isolados de *S. aureus* (n=62)

Vitek [®] 2	E-test [®]			
	0,5	1	2	Total
0,5	13 (21%)	30 (48,4%)	0 (0%)	43 (69,4%)
1	4 (6,5%)	10 (16,1%)	3 (4,8%)	17 (27,4%)
2	0 (0%)	1 (1,6%)	1 (1,6%)	2 (3,2%)
Total	17 (27,4%)	41 (66,1%)	4 (6,5%)	62 (100%)
Concordância				38,7 %

Fonte: Elaborada pela autora.

Ao comparar as CIM de vancomicina obtidas pelo E-test[®] e MDC, identificou-se discordância em 27 dos 62 dos isolados, com variação de até 2 diluições. Logo, a concordância obtida foi de 35,5 % (Tabela 9).

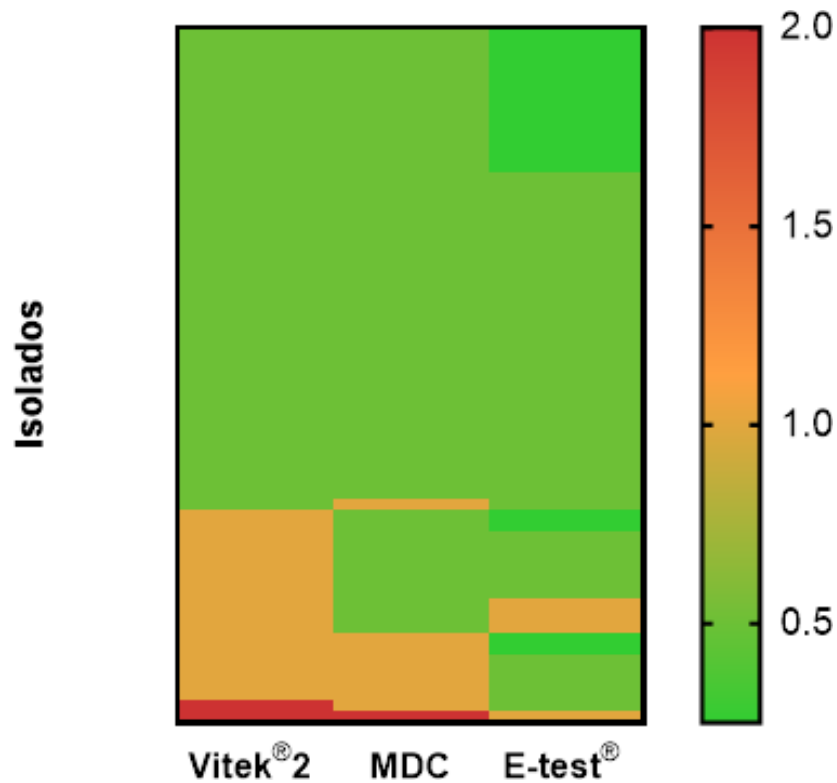
Tabela 9 – Concordância entre os métodos E-test[®] e MDC para determinação CIM de Vancomicina de isolados de *S. aureus* (n=62)

E-test [®]	MDC			
	0,5	1	2	Total
0,25	15 (24,2%)	2 (3,2%)	0 (0%)	17 (27,4%)
0,5	35(56,5%)	6 (9,7%)	0 (0%)	41 (66,1%)
1	3 (4,8 %)	0 (0%)	1 (1,6%)	4 (6,5%)
Total	53 (85,5 %)	8 (12,9%)	1 (1,6%)	62 (100%)
Concordância				35,5 %

Fonte: Elaborada pela autora.

O mapa de calor contido na figura 23 representa graficamente as distribuições das CIM de acordo com o teste realizado. Ao analisar as médias geométricas das CIM obtidas entre esses métodos, os resultados do Vitek[®]2 produziram uma maior média ($0.6855 \pm 0.04183 \mu\text{g/mL}$), seguido pela MDC ($0.5887 \pm 0.03154 \mu\text{g/mL}$) e uma menor média atribuída ao E-test[®] ($0.4637 \pm 0.02289 \mu\text{g/mL}$). Dessa forma, houve diferença estatística entre as médias obtidas pelo Vitek[®]2 e E-test[®], bem como entre o MDC e E-test[®] ($p < 0,01$) (Figura 24).

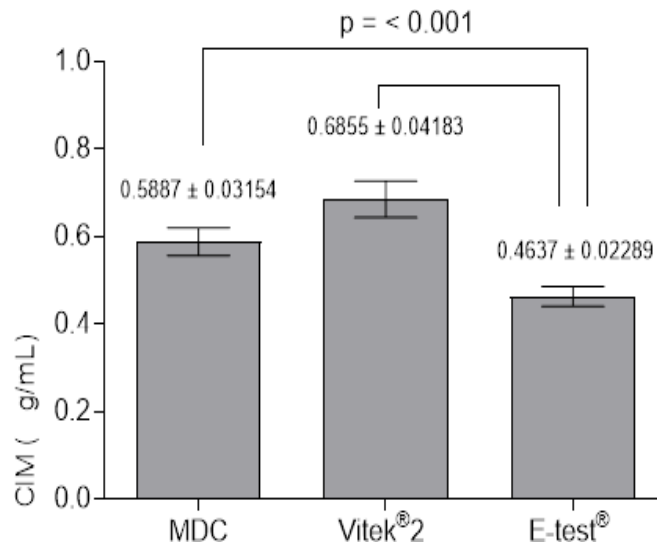
Figura 24 – Mapa de calor das CIM de Vancomicina obtidos pelo Vitek[®]2, MDC e E-test[®] dos 62 isolados de *S. aureus*



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: MDC – Microdiluição em Caldo; CIM – Concentração Inibitória Mínima; E- test[®] - Epsilon test[®].

Figura 25 – Média geométrica da CIM de Vancomicina de isolados de *S. aureus* obtidas pelo Vitek[®]2, MDC e E-test[®]



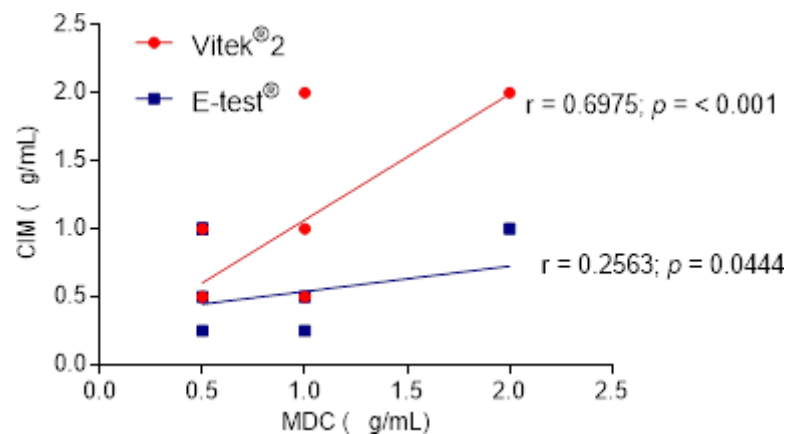
Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: ANOVA ($p < 0,05$); CIM – Concentração Inibitória Mínima;

MDC – Microdiluição em Caldo; E-test[®] - Epsilometes test[®].

Ao avaliar a correlação entre os métodos MDC e Vitek[®]2, obteve-se uma correlação positiva e moderada ($r = 0.6975$, $p = <0.0001$); entre MDC e E-test[®] houve uma correlação positiva e fraca ($r = 0.2563$; $p = 0.0444$) (Figura 25). Já entre E-test[®] e Vitek[®]2 houve uma correlação positiva fraca ($r = 0.3915$; $p = 0.0017$) (Figura 26).

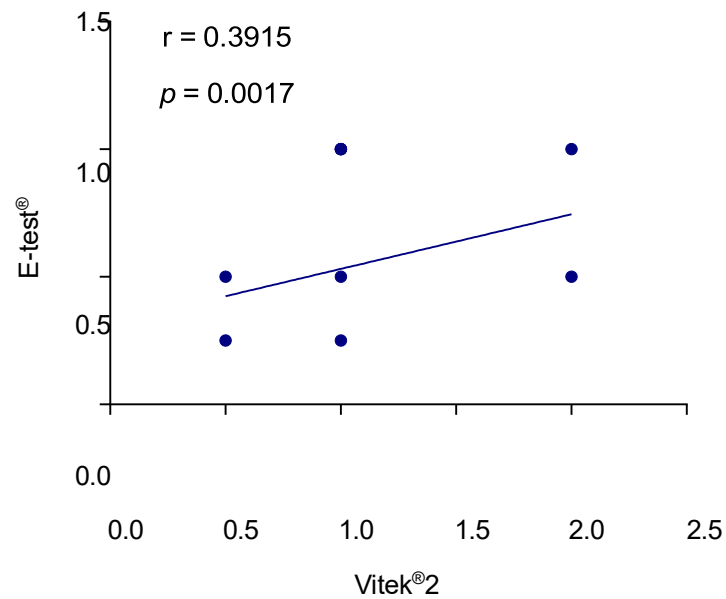
Figura 26 – Correlação de Pearson das CIM de Vancomicina de isolados de *S. aureus* obtidas pelo MDC vs Vitek[®]2 e MDC vs E-test[®]



Fonte: Elaborada pela autora.

Correlação de Pearson ($p < 0,05$); CIM – Concentração Inibitória Mínima; MDC – Microdiluição em Caldo; E-test[®] - Epsilometes test[®].

Figura 27 – Correlação de Pearson das CIM de Vancomicina de isolados de *S. aureus* obtidas pelo Vitek[®]2 vs E-test[®]



Fonte: Elaborada pela autora.

Correlação de Pearson ($p < 0,05$); E-test[®] - Epsilometes test[®].

O teste de Kappa de Cohen aplicado às CIM de vancomicina obtidas por esses métodos mostrou uma confiabilidade fraca entre Vitek[®]2 e MDC ($K = 0,435$; $P < 0,001$; concordância = 79%), com intervalo de confiança entre 15% e 35%. Não houve uma confiabilidade considerável entre Vitek[®]2 e Etest[®] ($K = 0.107$; $P > 0,05$; concordância = 38,7%), com intervalo de confiança de 0% a 4%. O valor de Kappa para o cruzamento de Etest[®] e MDC foi negativo, não sendo possível enquadrar esse resultado nos parâmetros de confiabilidade ($K < 0.01$; $P > 0,05$; concordância = 35,5%).

6 DISCUSSÃO

A determinação do perfil e da prevalência dos microrganismos presentes em hospitais é um parâmetro importante para o auxílio de medidas de prevenção e controle de infecções, e através destes dados são elaborados critérios para o uso racional de antimicrobianos adotados nas instituições (DE WAELE, 2018).

O presente trabalho mostrou que infecção de corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* acometeu uma porcentagem maior de pacientes do sexo masculino. Em estudo temporal na Dinamarca (THORLACIUS-USSING *et al.*, 2019) entre os anos de 2008 a 2015, foram encontrados 11054 casos de ICS por este agente, em que 62% dos pacientes eram do sexo masculino e a idade mediana foi de 68 anos. Dallacort e colaboradores (DALLACORT *et al.*, 2016) também demonstraram incidência maior em indivíduos masculinos (59,54%). Com relação a idade dos participantes neste estudo, foi visto maior número de pacientes acima de 50 anos (70,29%). Nossa pesquisa acompanhou essas evidências visto que os resultados mostraram que o fator idade está relacionado a ser de maior risco para adquirir infecção de corrente sanguínea por esta bactéria, apresentando uma frequência maior em indivíduos acima de 60 anos, visto que essa população, juntamente com pacientes de sexo masculino fazem parte do atendimento do referido hospital os quais são mais acometidos por doenças de base como doenças cardíacas e hipertensão.

Nossa pesquisa constatou que as UTIs tiveram uma incidência menor de casos (9.68%) devido ao menor número de leitos disponíveis no hospital. Estudos de outros autores (FERREIRA *et al.*, 2015; AQUINO; SILVA, 2022) corroboram a vulnerabilidade dos pacientes de unidades de terapia intensiva (UTI) à maior frequência desse tipo de infecção associada a fatores como procedimentos invasivos (cateteres, cirurgias complexas), uso de antimicrobianos potentes, uso de imunossupressores, dentre outros. No presente estudo a maior frequência de *S. aureus* ficou distribuída entre as unidades de internação, em que estas são unidades pós cirúrgicas cujos pacientes permanecem maior tempo de hospitalização e ficam mais propensos às IRAS (Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde), devido a exposição de equipamentos e procedimentos invasivos, condições nutricionais, presença de pacientes colonizados ou infectados no mesmo local ou ainda pelas mãos dos profissionais de saúde que podem contribuir para a disseminação de cepas multirresistentes (MENEQUIN *et al.*, 2020).

Aratani e colaboradores (Aratani *et al.*, 2021) relataram em seu trabalho que a identificação de fatores inerentes aos pacientes podem ser utilizados e são indicativos de infecção por MRSA, sendo de importância para definição do tratamento de indivíduos com infecção por estas cepas. Um estudo recente sobre saúde na região canadense buscou analisar a epidemiologia e os fatores de risco relacionados à mortalidade por infecção de corrente sanguínea causada por *Staphylococcus aureus* (LAM *et al.*, 2019). Em comparação com o período anterior a década de 2010, quando pacientes em hemodiálise enfrentavam um maior risco dessa infecção pelo referido patógeno, observa-se que os riscos atuais estão mais vinculados a outras condições, tais como doenças cardíacas, pulmonares e crônicas como o diabetes mellitus. Essa constatação foi corroborada por nosso estudo, que identificou essas comorbidades como as mais prevalentes entre os pacientes analisados.

A resistência dessas cepas aos antimicrobianos dentre eles as penicilinas, fluoroquinonas, lincosaminas, oxacilina e até mesmo a vancomicina, leva a diminuição das opções terapêuticas para tratar as infecções por *S. aureus* (CLSI, 2019; KUO *et al.*, 2020). Os dados do presente estudo demonstram que os perfis de resistência frente aos antimicrobianos observados para as cepas MRSA merecem ser avaliados em destaque visto que apresentaram uma frequência maior e que requer atenção.

Este trabalho avaliou a sensibilidade de *Staphylococcus aureus* a 13 antimicrobianos pelo aparelho Vitek 2 e mostrou que para essas cepas multirresistentes algumas taxas de resistência foram altas como as observadas frente a Benzilpenicilina (100%), clindamicina (17,39%), rifampicina (17,39%), levofloxacino (26,09%) e sulfametoxazol/trimetoprim (26,09%); sendo que, para as taxas destes dois últimos antimicrobianos houve diferença da frequência de cepas resistentes entre MRSA e MSSA. Dados com frequências mais altas de resistência frente a estes antimicrobianos para as bactérias relacionadas foram encontrados em um estudo de vigilância e epidemiologia de infecções hospitalares pelo mesmo microrganismo em hospital universitário em Minas Gerais (DALLACORT *et al.*, 2016).

Todas as cepas foram sensíveis à vancomicina, o que é muito favorável, pois este glicopeptídeo é a opção de escolha para tratamento de cepas MRSA, embora já se tenha relatos de casos de resistência ao medicamento (DUARTE *et al.*, 2018). Ambos os fenótipos (MSSA e MRSA) tiveram sensibilidade de 100% frente a daptomicina, linezolida e tigeciclina, medicamentos tidos como opções para infecções por MRSA (TURNER *et al.*, 2019).

A daptomicina é outro agente de primeira linha para bacteremias por MRSA com aprovação pelo Food and Drug Administration (FDA), mas já existem relatos na literatura de

resistência cruzada entre cepas de CIM aumentada de vancomicina e daptomicina (VAN HAL *et al.*, 2012). É importante ainda salientar que mesmo diante de fatos que revelem falha terapêutica em relação à vancomicina em infecções por cepas VISA ou hVISA, estudos mostraram não haver melhores resultados com outros antibióticos ((LEE *et al.*, 2018; DOS SANTOS *et al.*, 2021).

Apesar do perfil de sensibilidade para vancomicina das cepas MRSA, trabalhos relatam que estas podem apresentar CIM aumentada mesmo estando inserida na faixa de sensibilidade (ROSSATTO *et al.*, 2014). Este fenômeno cujo nome foi dado de “*MIC creep*” foi observado em uma análise de quinze anos relacionada a sensibilidade de antimicrobianos e é relatada em estudos (LAM; STOKES, 2022), podendo ser responsável pelo sério risco de falha de êxito da antibioticoterapia. Em decorrência disso é de fundamental importância o uso de métodos de detecção de CIM adequados dentre a variabilidade de metodologias utilizadas para se chegar a valores assertivos do perfil de sensibilidade dessas cepas multirresistentes de menor sensibilidade a vancomicina (DUARTE *et al.*, 2018).

A junção de terapias antimicrobianas corretas e medidas de controle de infecção são de grande importância para a redução do surgimento de bactérias com alta resistência aos antibióticos. A epidemiologia de ICS pode variar de acordo com a localidade ou entre países desenvolvidos ou não. Um estudo feito em amostras de hemocultura no Canadá (LAM *et al.*, 2019) mostrou que a distribuição de *S. aureus* MRSA aumentou na última década, enquanto no Reino Unido houve uma queda significativa. Este trabalho mostrou a incidência de MRSA no Canadá como sendo de 20% dentre as bacteremias e 80% para MSSA. No Brasil tem-se relatos (DUARTE *et al.*, 2018) de frequência de MRSA de 43,7%, podendo variar de 34,1% a 46%, o que foi de acordo com nossos dados, onde 23 (37,10%) isolados de *S. aureus* apresentaram resistência à metilina.

Outro parâmetro analisado em nosso estudo foi o tempo de internação no qual foi verificado um período de internação mais prolongado nos pacientes com bacteremia por cepas MRSA, que ficou em torno de 50 dias, quando comparado com o fenótipo sensível (MSSA). Esse resultado pode implicar que infecções por estas bactérias mais resistentes tragam mais ônus para os sistemas de saúde devido a longa permanência dos pacientes em hospitais (MENEGUIN *et al.*, 2020). Lee e colaboradores (LEE *et al.*, 2018), em trabalho epidemiológico sobre MRSA, não demonstraram diferença quanto ao tempo de internação entre bacteremias pelos 2 grupos já que para ambos o tempo foi prolongado. Dados analisados em estudo sobre fatores que podem estar relacionados a infecções por MRSA em unidades de

terapia intensiva (MENEQUIN *et al.*, 2020) corroboraram com nosso estudo, mostrando diferença significativa para a maior quantidade de dias de internação relacionados a ICS por estas bactérias multirresistentes.

No Japão foi relatado que a taxa de mortalidade de ICS por *S. aureus* MRSA ocorre 1,5 a 2 vezes mais do que ICS pelas cepas MSSA, entretanto outros estudos tiveram resultados divergentes quanto a associação de bacteremias por estes agentes às taxas de mortalidade (ARATANI *et al.*, 2021). Em nosso trabalho 35,48% dos pacientes tiveram óbito como desfecho, mas estes tiveram porcentagens iguais para ambos os fenótipos de *S. aureus*. Já Horvath e colaboradores (HORVÁTH *et al.*, 2020) em seu estudo sobre a população de *Staphylococcus aureus* em hospital terciário na Hungria identificou que a mortalidade geral em 30 dias foi de 39,9% para MRSA e 30,7% para MSSA mostrando uma diferença significativa entre os grupos.

O presente trabalho buscou também avaliar a concordância das CIM de oxacilina e vancomicina obtidas por diferentes metodologias. Um dos achados deste estudo foi a identificação de maiores médias geométricas obtidas pelo método automatizado Vitek[®]2 para as CIM de oxacilina (1.633 ± 0.2266) e vancomicina (0.6855 ± 0.04183), quando comparado a MDC. Em conformidade a isso, o estudo realizado por Chung identificou que 69,5% dos resultados de CIM de vancomicina obtidos pelo Vitek[®]2 foram superiores aos resultados determinados pela MDC (CHUNG; LEE, 2022). Entretanto, não foi identificado na literatura registros sobre a superestimação da CIM de oxacilina pelo Vitek[®]2.

Um estudo conduzido por Madhavan avaliou a capacidade do Vitek[®]2 em identificar cepas MRSA em 100 isolados de amostras clínicas, obteve-se uma especificidade de 100% e sensibilidade de 97,2%, identificando corretamente os isolados de MRSA com CIM de oxacilina $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ (MADHAVAN *et al.*, 2021). No entanto, nossos resultados diferem do estudo mencionado no grau de concordância (59,7%), mesmo apresentando uma correlação positiva e forte ($r = 0.7106$; $p = <0.0001$). Apesar de ser considerado o padrão ouro para determinação da CIM, a MDC apresenta limitações por utilizar um método de diluições duplas, não identificando pequenas alterações nos valores de CIM e fornecendo valores mais baixos, além disso a consistência nas leituras da CIM pode resultar em divergência, principalmente por se tratar de uma análise visual (WILCOX *et al.*, 2019).

Todos os isolados analisados neste estudo foram identificados como VSSA (CIM $\leq 2 \mu\text{g/mL}$) (BrCAST, 2020) pelos métodos de MDC, Vitek[®]2 e E-test[®]. Contudo, os resultados de CIM de vancomicina determinados pelo Vitek[®]2 apresentaram uma melhor correlação com a MDC (Correlação de Pearson $r = 0.6975$) quando comparado aos resultados obtidos pelo E-test[®] (Correlação de Pearson $r = 0.2563$), indicando que o Vitek[®]2 (concordância = 79%) apresentou

uma maior concordância com a MDC na determinação da CIM de vancomicina em comparação ao E-test[®] (concordância = 35,5 %), mesmo assim, a comparação apresentou um nível de confiabilidade fraco e não foi possível atribuir parâmetros de confiabilidade entre MDC e E-test[®]. De maneira semelhante, o estudo conduzido por Phillips e colaboradores identificou um nível baixo de concordância entre a MDC e esses dois métodos (PHILLIPS *et al.*, 2016).

A média geométrica obtida pelas CIM de vancomicina de MDC (0.5887 ± 0.03154) e a faixa de concentração identificada para esses isolados (0,5 e 2 µg/ml) foi maior em comparação ao E-test[®], cuja média foi de 0.4637 ± 0.02289 e faixa de concentração da CIM dos isolados foi de 0,25 e 1 µg/ml, havendo uma tendência a do E-test[®] a subestimar os valores de CIM de vancomicina.

Um estudo conduzido por Song e colaboradores, demonstrou uma concordância de 56,9% entre o E-test[®] e MDC, identificando uma tendência de superestimação pelo E-test[®] em isolados que apresentaram baixas CIM de vancomicina identificadas pela MDC (0,5 µg/mL), e uma tendência a subestimar em isolados que apresentaram elevadas CIM de vancomicina pelo MDC (2 µg/mL) (SONG *et al.*, 2017). Ademais, o estudo realizado por Kuo e colaboradores também identificou uma tendência do E-test[®] em subestimar as CIM reais de vancomicina (KUO *et al.*, 2020). Em contrapartida, outros estudos descreveram uma tendência a superestimação da CIM de vancomicina pelo E-test[®] (COSTA, 2021; HIMANI *et al.*, 2015; MANFREDINI *et al.*, 2011; HOS *et al.*, 2017).

Uma hipótese a essa variação nas CIM de vancomicina obtidas pela E-test[®], pode estar relacionada ao momento da realização do teste, pois foi observado CIM mais elevadas de vancomicina de amostras recém isoladas de MRSA ao comparar as que foram armazenadas (até 6 meses) para determinação posteriormente (WILCOX *et al.*, 2019). Outro ponto importante está relacionado ao analista, sendo a interpretação do teste de caráter subjetivo, este fato relatado por estudo realizado por Bouiller e colaboradores em que foi identificada uma discordância em 18% nas leituras das placas. Assim, resultando em uma superestimação ou subestimação da CIM de vancomicina (BOUILLER *et al.*, 2018).

Uma das limitações ao comparar a MDC com o E-test[®] é a inexistência de uma faixa de concentração equivalente entre os testes, uma vez que a MDC depende de uma diluição dupla que representa limitações quantitativas, e o E-test[®] possui uma extensa faixa de concentração, variando de 0,016 a 256 µg/ml (MANFREDINI *et al.*, 2011). Portanto, é importante estar ciente dessa possibilidade de subestimação nas determinações nas CIM de vancomicina, dado que essa CIM menor que a real pode resultar em falha terapêutica (COSTA, 2021).

Além disso, o presente estudo identificou uma concordância de 38,7 % das CIM de vancomicina obtidas pelo Vitek[®]2 e E-test[®], maior percentual que o identificado pelo estudo Bloomgren, cuja concordância na determinação da CIM de vancomicina em isolados MRSA entre esses dois métodos foi de apenas 12%, sendo identificados maiores CIM de vancomicina pelo E-test[®] em 85,3% dos isolados (BLOOMGREN; LAIBLE, 2013). Outro estudo demonstrou discordância em mais de 30% dos resultados obtidos pelo E-test[®] e Vitek[®]2 (HSU *et al.*, 2008).

No presente trabalho, houve variação de 1 (uma) diluição nas CIM de vancomicina de 13 dos 62 isolados obtidos pelo Vitek[®]2 comparado a MDC. Esse resultado chama atenção, visto que o ponto de corte para modificação do tratamento com vancomicina para antibióticos de segunda linha é a identificação de CIM superiores a 2 µg/mL (BROWN *et al.*, 2021), estando bem documentado a ocorrência de superestimação nas CIM de vancomicina obtidas pelo Vitek[®]2 e a maior chance de substituição da antibioticoterapia. Corroborando esses dados, o estudo realizado por Kuo e colaboradores, mostrou que 47% dos pacientes incluídos na sua pesquisa podem ter recebido um antibiótico de segunda linha sem necessidade, pois apenas 53,57% das CIM elevadas de vancomicina era concordante com os resultados identificado pela MDC. Seus resultados mostraram que o Vitek[®]2 tendeu a superestimar isolados com elevadas CIM de vancomicina, em torno de 1 e 2 µg/mL (KUO *et al.*, 2020).

Portanto, já está muito bem documentado que a pressão seletiva das cepas resistente está diretamente relacionada ao aumento do consumo e uso irracional de antibióticos (I.K *et al.*, 2023). Um levantamento recente realizado por Massarine e colaboradores, identificou um aumento de quase 30% em 2021 do consumo de antibióticos no ambiente hospitalar após o início da pandemia em 2019, assim como o aumento nos registros das bactérias multirresistente (MASSARINE *et al.*, 2023).

Conforme descrito nas diretrizes práticas da Infectious Diseases Society of America (IDSA) e diretrizes do Reino Unido sobre o manejo de infecções por MRSA, o antibiótico de escolha para bacteremia por MRSA é a vancomicina. Seu uso deve ser continuado caso o isolado apresente um CIM de vancomicina ≤ 2 µg/mL ou resposta clínica do paciente. Caso o isolado apresente um CIM de vancomicina > 2 µg/mL, deve recorrer a antibióticos alternativos, como a Linezolida ou Daptomicina, visto que dosagens mais elevadas de vancomicina podem levar à toxicidade renal. Além disso, mesmo o isolado apresente uma CIM de vancomicina ≤ 2 µg/mL e o paciente não esteja apresentando resposta clínica, recomenda-se alterar sua antibioticoterapia. Dessa forma, é importante que os resultados de CIM de vancomicina ≥ 2 µg/mL sejam avaliados com um teste complementar, exigindo mais atenção antes que seja

decidido modificar o esquema de antibióticos do paciente, visto que os métodos automatizados apresentam limitações, além da possibilidade de ocorrência de erros técnicos (BROWN *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2011).

Alguns fatores podem estar relacionados ao aumento CIM identificada pelo Vitek[®]2. Em primeiro lugar, sua metodologia utilizada na determinação da CIM dos antibióticos é baseada na avaliação da curva de crescimento do isolado em comparação com as curvas de isolados conhecidos. Essa interpretação é realizada pelo Advanced Expert System (AES), cujo desempenho é questionado quanto a determinação da CIM em algumas espécies de bactérias (ALI ALGHAMDI *et al.*, 2023; CHEN *et al.*, 2014; FRIEDRICH *et al.*, 2018).

A diminuição da precisão dos métodos na determinação das CIM também pode estar relacionada ao fenômeno descrito como *Vancomycin MIC creep*, que representa um aumento lento e gradual da CIM de vancomicina nos isolados em todos os países. Esse aumento pode estar relacionado a disseminação clonal, intensidade do uso de vancomicina e inconsistência dos métodos de análise, podendo haver subestimação ou superestimação a depender do método utilizado (HO *et al.*, 2010; KUO *et al.*, 2020).

Um estudo realizado com 247 isolados clínicos de MRSA, coletados em três períodos diferentes ao longo de 10 anos, identificou um aumento da CIM de vancomicina ao longo dos anos, identificado individualmente e pelo aumento da média geométrica ao longo dos três períodos do estudo. Uma hipótese para o aumento CIM de vancomicina, principalmente nos isolados de hemocultura, está atrelado ao aumento do uso de vancomicina parenteral. Além disso, indivíduos com uso prévio de vancomicina tendem a apresentar CIM do antibiótico superior em infecções de recorrência (HO *et al.*, 2010). Corroborando esse achado, o estudo realizado com 140 isolados de MRSA, identificou diferença considerável no aumento da CIM de vancomicina de 2001 a 2009 (YEH *et al.*, 2012).

Em 2006, o CLSI diminuiu o ponto de corte de sensibilidade à vancomicina de 4 para 2,0 µg/ml, e da resistência de 32,0 µg/ml a 16,0 µg/ml, pelo aumento dos registros de ineficácia terapêutica da vancomicina frente a isolados de *S. aureus* com CIM > 4 µg/ml (TOMCZAK *et al.*, 2013). Visto disso, estudos apontam que pacientes com bacteremia por MRSA com elevadas CIM de vancomicina ($\geq 1,5$ µg/mL), mesmo consideradas susceptíveis a vancomicina, apresentavam uma maior chance de desenvolver bacteremia recorrente e maior tempo de internação, em comparação a pacientes com isolados que apresentam uma menor CIM de vancomicina ($\leq 1,5$ µg/mL), estando a menor CIM relacionada a uma maior chance de sucesso terapêutico (BLOOMGREN; LAIBLE, 2013; OTHMAN *et al.*, 2019;

PHILLIPS *et al.*, 2016). Em contrapartida, é importante mencionar que a presença de CIM elevadas de vancomicina ($\geq 1,5$ mg), de acordo com os estudos conduzidos por Hos, Yeh, Son e seus respectivos colaboradores, não apresentou correlação com aumento da mortalidade (HOS *et al.*, 2017; SONG *et al.*, 2017; YEH *et al.*, 2012).

Ademais, a ausência de resposta ou resposta reduzida a vancomicina mesmo em isolados suscetíveis (CIM ≤ 2 $\mu\text{g/mL}$) representa uma séria dificuldade no manejo das bacteremias principalmente quando há presença de heteroresistência, cuja identificação dessas subpopulações resistentes à vancomicinas são de difícil detecção pelos métodos de MDC, Vitek[®]2 e E-test[®]. (HIMANI *et al.*, 2015; MANFREDINI *et al.*, 2011).

Vale salientar, a MDC consiste em uma metodologia demorada e de difícil implementação na rotina dos laboratórios de microbiologia, sendo usual a utilização de sistemas automatizados, como o Vitek[®]2, e o E-test[®], que apresentam especificidade de sensibilidade variável. A determinação real da CIM de vancomicina é complexa, visto as limitações inerentes a cada método (HIMANI *et al.*, 2015; WILCOX *et al.*, 2019).

De acordo com os dados obtidos foi verificado que os resultados das concentrações inibitórias mínimas de vancomicina apresentaram variação de concordância entre os métodos indicando que deve ser feita avaliação segura desses resultados e teste confirmatório (microdiluição em caldo) de casos suspeitos de superestimação, além da realização de controle de qualidade periódico dos métodos utilizando cepas ATCC, com CIM conhecidas, a fim de validar o processo interno e correção de falhas segundo recomendações de outros estudos (TOMCZAK *et al.*, 2013; WILCOX *et al.*, 2019).

Nosso estudo teve como limitação a não realização da investigação da presença do gene *mecA* nas amostras classificadas como resistentes à metilina pelo screening de cefoxitina. Para preencher essa lacuna e promover uma avaliação mais abrangente dos métodos de detecção de resistência, é importante conduzir estudos prospectivos amplos. Esses estudos devem incluir a análise do gene *mecA*, juntamente com uma avaliação detalhada dos vários métodos de medição das concentrações inibitórias mínimas (CIM). Essa abordagem permitirá uma compreensão mais completa da resistência à metilina e auxiliará na otimização das estratégias de diagnóstico e tratamento.

7 CONCLUSÃO

A presente pesquisa destaca a relevância do entendimento da epidemiologia das infecções por cepas multirresistentes, fornecendo uma base para o desenvolvimento de estratégias preventivas eficazes e métodos de tratamento adequados.

Os dados do estudo demonstraram que as bacteremias causadas pelo fenótipo MSSA predominaram, destacando a idade e a presença de doenças preexistentes como fatores de risco relevantes para este tipo de infecção. A análise ainda evidenciou que as bacteremias por cepas MRSA estão associadas a períodos prolongados de hospitalização dos pacientes, embora não tenham influenciado significativamente o desfecho clínico em comparação com os isolados MSSA.

Foi observado um alto índice de mortalidade entre indivíduos com bacteremia por *S. aureus*, ressaltando a necessidade de estudos de vigilância para minimizar a propagação de microrganismos multirresistentes. Além disso, a alta taxa de resistência à Benzilpenicilina foi comum entre os isolados de *S. aureus*, indicando a ineficácia desse antibiótico contra essas infecções. A resistência antimicrobiana foi mais pronunciada entre as cepas MRSA, especialmente frente ao levofloxacino e trimetoprim/sulfametoxazol.

Quanto à determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), os resultados sugerem que o Vitek®2 e o método de microdiluição em caldo (MDC) possuem uma correlação positiva e forte para oxacilina, embora observada a superestimação das CIM pelo Vitek®2. Para vancomicina, o Vitek®2 demonstrou uma melhor correlação com a MDC do que o E-test®, indicando uma tendência do E-test® em subestimar a CIM deste antibiótico. No entanto, é recomendada uma abordagem cautelosa na interpretação dos resultados do Vitek®2, visto que foi identificada superestimação na CIM de vancomicina, sugerindo a realização de métodos complementares, como a microdiluição em caldo, para confirmação.

Dessa forma, os achados deste estudo contribuem para ressaltar a importância da vigilância contínua e do uso prudente de antimicrobianos para combater o surgimento de cepas resistentes. A investigação adicional é necessária para validar e aprimorar os métodos de determinação da CIM, visando uma abordagem mais eficaz no tratamento dessas infecções.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Boletim segurança do paciente e qualidade em serviços de saúde nº 23** - Avaliação dos indicadores nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) e resistência microbiana. Brasília: ANVISA, 2020.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Deteção e identificação de bactérias de importância médica**. Brasília: ANVISA, 2020.

AGUAYO-REYES, A. *et al.* Bases moleculares de la resistencia a meticilina en Staphylococcus aureus. **Rev. chil. infectol.**, Santiago, v. 35, n. 1, p. 7-14, 2018. Disponível em: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182018000100007&lng=es&nrm=iso. Acesso em: 22 jan. 2024.

ALI ALGHAMDI, B. *et al.* Antimicrobial resistance in methicillin-resistant staphylococcus aureus. **Saudi Journal of Biological Sciences Elsevier**, [S. l.], abr. 2023.

AL-SAAD, Z. N. Bactericidal activity of new silver nanoparticles biosynthesized from methicillin-resistant staphylococcus aureus against clinical mrsa and mssa isolates. **Biochemical & Cellular Archives**, [S. l.], v. 20, n. 2, 2020.

AQUINO, M. S.; SILVA, C. M. Staphylococcus Aureus and its importance in the context of nosocomial infections: literature review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 14, e519111436568, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/36568>. Acesso em: 11 jan. 2024.

ARATANI, T.; TSUKAMOTO, H.; HIGASHI, T.; KODAWARA, T.; YANO, R.; HIDA, Y.; GOTO, N. Association of methicillin resistance with mortality of hospital-acquired Staphylococcus aureus bacteremia. **Journal of International Medical Research**, [S. l.], v. 49, n. 11, p. 03000605211058872, 2021.

ARIAS, C. A. *et al.* A prospective cohort multicenter study of molecular epidemiology and phylogenomics of staphylococcus aureus bacteremia in nine latin american countries. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 62, n. 3, 2018.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. **J Pharm Anal.**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 71-79, abr. 2016.

BENKOVA, M.; SOUKUP, O.; MAREK, J. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. **J Appl Microbiol.**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 806-822, out. 2020.

BLOOMGREN, B. J.; LAIBLE, B. R. Etest versus vitek 2 vancomycin minimum inhibitory concentration testing methods for methicillin-resistant staphylococcus aureus: An antimicrobial stewardship initiative to evaluate the degree of discordance among methods at a rural tertiary hospital. **Journal of Pharmacy Practice**, [S. l.], v. 26, n. 4, p. 415-419, 2013.

BOBENCHIK, A. M. *et al.* Performance of vitek 2 for antimicrobial susceptibility testing of staphylococcus spp. and enterococcus spp. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 52, n. 2, p. 392-397, fev. 2014.

BOLETINS e relatórios. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/boletins-e-relatorios-das-notificacoes-de-iras-e-outros-eventos-adversos-1/boletins-e-relatorios-das-notificacoes-de-iras-e-outros-eventos-adversos>. Acesso em: 27 nov. 2022.

BOUILLER, K. *et al.* No effect of vancomycin MIC ≥ 1.5 mg/L on treatment outcome in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteraemia. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S. l.], v. 51, n. 5, p. 721-726, maio 2018.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Versão 2.0. 2020.

BRCAS. Brazilian Committee Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos –2023. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-BrCAST-15-03-2023.pdf>. Acesso em: 18 jul. 2022.

BRITTO, D. *et al.* Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r)*. **Revista Política Hoje**. [S. l.], 2009.

BROWN, N. M. *et al.* Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Updated guidelines from the UK. **JAC-Antimicrobial Resistance Oxford University Press**, [S. l.], mar. 2021.

CASAGRANDE, L.; OLIVEIRA BERNARDO, C. C.; PASTRE, M. J.; CAPARROZ ASSEF, S. M. Estratégias para a otimização do uso da vancomicina na terapia de infecções causadas por *staphylococcus aureus* resistentes à meticilina. **Arquivos do Mudi**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 131-142, 16 abr. 2022.

CHEN, H.; ZHANG, J.; HE, Y.; LV, Z.; LIANG, X.; CHEN, J.; LI, P.; LIU, J.; YANG, H.; TAO, A.; LIU, X. Exploring the role of *staphylococcus aureus* in inflammatory diseases. **Toxins (Basel)**, [S. l.], v. 4, n. 7, p. 464, 2022.

CHEN, S. Y. *et al.* Method-specific performance of vancomycin MIC susceptibility tests in predicting mortality of patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. 211-218, jan. 2014.

CHEN, S. Y.; LIAO, C. H.; WANG, J. L.; CHIANG, W. C.; LAI, M. S.; CHIE, W. C.; CHANG, S. C.; HSUEH, P. R. Method-specific performance of vancomycin MIC susceptibility tests in predicting mortality of patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. **J Antimicrob Chemother**. [S. l.], v. 69, n. 1, p. 211-218, 2014.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S., OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 547-569, dez. 2021.

CHOO, E. J.; CHAMBERS, H. F. Treatment of methicillin-resistant staphylococcus aureus bacteremia. **Infect Chemother**. [S. l.], v. 48, n. 4, p. 267-273, dez. 2016.

CHUNG, H. S.; LEE, M. Different antimicrobial susceptibility testing methods to determine vancomycin susceptibility and mic for staphylococcus aureus with reduced vancomycin susceptibility. **Diagnostics**, [S. l.], v. 12, n. 4, 1 abr. 2022.

CLINICAL AND LABORATORY STANDART INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty- seventh informational supplement**. Wayne, PA: CLSI, 2019.

CONG, Y.; YANG, S.; RAO, X. Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features. **J Adv Res**. [S. l.], v. 21, p. 169-176, out. 2019.

COSTA, A. P. P. *et al.* Avaliação comparativa do Phoenix®, VITEK® 2, Etest® e Teste de Microdiluição em Caldo, para determinação do perfil de sensibilidade à vancomicina em *Staphylococcus aureus* isolado de infecção da corrente sanguínea. 2021.

CUNHA, H. P.; BAIENSE, A. S. R. Uso de vancomicina no tratamento de infecções causadas por staphylococcus aureus resistente à metilina (MRSA). **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 9242-9258, 2023.

CUNHA, M. N.; LINARDI, V. R. Incidência de bacteriemia em um hospital terciário do leste de Minas Gerais. **Revista de Medicina de Minas Gerais**, [S. l.], v. 23, n. 2, 149-153, 2013.

CUSSOLIM, P. A.; JUNIOR, A. S. Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos. **Revista faculdades do saber**, [S. l.], v. 6, n. 12, p. 831-843, 2021.

DALLACORTE, T. S.; INDRAS, D. M.; TEIXEIRA, J. J. V.; PEDER, L. D.; SILVA, C. M. da. Prevalência e perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de hemoculturas realizadas em hospitais particulares. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [S. l.], v. 75, p. 1–11, 2016. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/33515>. Acesso em: 12 fev. 2024.

DI RUSCIO, F.; GUZZETTA, G.; BJØRNHOLT, J. V.; LEEGAARD, T. M.; MOEN, A. E. F, MERLER, S.; FREIESLEBEN DE BLASIO, B. Quantifying the transmission dynamics of MRSA in the community and healthcare settings in a low-prevalence country. **Proc Natl Acad Sci U S A**, [S. l.], v. 116, n. 29, p. 14599-14605, jul. 2019.

DIAZ, R.; AFREIXO, V.; RAMALHEIRA, E.; RODRIGUES, C.; GAGO, B. Evaluation of vancomycin MIC creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections-a systematic review and meta-analysis. **Clin Microbiol Infect**. [S. l.], v. 24, n. 2, p. 97-104, fev. 2018.

FELIX, F. B.; ALVES, A. K. S. T. R.; DE SOUZA, R. D.; CRUZ, R. F.; COELHO, A. C. O.; PITTELLA, C. Q. P.; NASCIMENTO, T. C. Perfil epidemiológico, clínico e microbiológico de infecções por bactérias do grupo *eskape* em pacientes internados em uma unidade de terapia intensiva de um hospital de ensino de Minas Gerais. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, [S. l.], v. 27, n. 5, p. 3230-3242, 2023. Disponível em:

<https://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/9962>. Acesso em: 19 jan. 2024.

FERREIRA, M.; LIMA, P.; AZEVEDO BORGES, M.; PARENTE, R. S.; CALDEIRA, R, JÚNIOR V, *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections-literature review. **Revista Uninga**, [S. l.], v. 21, n. 1, 2015. Disponível em: <http://www.ccih.med.br/portaria2616.html>. Acesso em: 14 ago. 2022.

FREDERICO, Marilia Pinto et al. Noções sobre parâmetros farmacocinéticos / farmacodinâmicos e sua utilização na prática médica. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 201-205, 2017.

FRIEDRICH, J. V.; FRIEDRICH, J. M.; DARONCO, A.; FRIEDRICH, J. L.; UHDE, S. P. R. Profile of blood cultures of patients hospitalized in intensive care unit in teaching hospital of Paraná. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 13, e132111335325, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/35325>. Acesso em: 4 feb. 2024.

FRIEDRICH, R. *et al.* Comparative analysis of the wako B-glucan test and the fungitell assay for diagnosis of candidemia and *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 56, n. 9, set. 2018.

GAJIC, I.; KABIC, J.; KEKIC, D.; JOVICEVIC, M.; MILENKOVIC, M.; MITIC CULAFIC, D.; TRUDIC, A.; RANIN, L.; OPAVSKI, N. Teste de suscetibilidade antimicrobiana: uma revisão abrangente dos métodos atualmente utilizados. **Antibióticos (Basileia)**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 427, mar. 2022.

GONÇALVES, M. D. **Impacto clínico da monitorização farmacocinética de gentamicina, amicacina e vancomicina e a sua relação com a função renal**. 2019. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de ciências e tecnologias, Universidade do algarve, algarve, 2019.

GOTO, M.; SCHWEIZER, M. L.; SARRAZIN, M. S. V.; PERENCEVICH, E. N.; LIVORSI, D. J.; DIEKEMA, D. J.; RICHARDSON, K. K.; BECK, B. F.; ALEXANDER, B.; OHL, M. E. Association of evidence-based care processes with mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia at veterans health administration hospitals, 2003 – 2004. **JAMA Internal Medicine**, [S. l.], v. 177, p. 1489 - 1497, 2017.

GUAREZE, G. M.; BORDIGNON, J. C. Estudo comparativo entre hemocultura automatizada e manual em um laboratório do sudoeste do Paraná, Brasil. **RBAC**, [S. l.], v. 48, n. 3, p. 223-228, 2016.

GUIDO, P. C.; PAVAN, C. H.; OTAMENDI, E.; BRAMUGLIA, G. F. Principles of Bayesian statistics and its relationship with applied pharmacokinetics. **Revista chilena de pediatria**, [S. l.], v. 91, n. 5, p. 828-837, 2020.

HAHN, S. R. **Protocolos de monitorização terapêutica de vancomicina**: impacto nos resultados clínicos dos doentes e contributos para a sua melhoria. 2019. 322 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portom 2019.

HARKINS, C. P.; PICHON, B.; DOUMITH, M.; PARKHILL, J.; WESTH, H.; TOMASZ, A.; de LENCASTRE, H.; BENTLEY, S. D.; KEARNS, A. M.; HOLDEN, M. T. G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. **Genome Biology**, [S. l.], v. 130, p. 1 - 11, 2017.

HIMANI, A. C.; MADAN, M.; PANDEY, A.; THAKURIA, B. Methicillin resistant staphylococcus aureus: Inconsistencies in vancomycin susceptibility testing methods, limitations and advantages of each method. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, [S. l.], v. 9, n. 10, p. 1-4, out. 2015.

HO, P. L. *et al.* Vancomycin MIC creep in MRSA isolates from 1997 to 2008 in a healthcare region in Hong Kong. **Journal of Infection**, [S. l.], v. 60, n. 2, p. 140-145, 2010.

HORVÁTH, A. *et al.* Characterisation of antibiotic resistance, virulence, clonality and mortality in MRSA and MSSA bloodstream infections at a tertiary-level hospital in Hungary: a 6-year retrospective study. **Ann Clin Microbiol Antimicrob**, [S. l.], v. 19, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12941-020-00357-z>. Acesso em: 22 jul. 2022.

HOS, N. J. *et al.* Determining vancomycin Etest MICs in patients with MRSA bloodstream infection does not support switching antimicrobials. **Journal of Infection**, [S. l.], v. 74, n. 3, p. 248- 259, mar. 2017.

HSU, D. I. *et al.* Comparison of method-specific vancomycin minimum inhibitory concentration values and their predictability for treatment outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 378-385, nov. 2008.

I.K, K. *et al.* Perspectives on systematic generation of antibiotic resistance with special emphasis on modern antibiotics. **Total Environment Research Themes**, [S. l.], v. 8, p. 100068, dez. 2023.

JIMENEZ, M. G. S.; NETO, F. A. B.; SILVEIRA, I. A.; ABRANTES, M. R.; FREITAS, J. C. O. C.; DANTAS, D. S. Comparação entre o método manual e automatizado na identificação de staphylococcus coagulase negativa novobiocina resistente / Comparison between the manual and automated method in the identification of negative staphylococcus coagulase novobiocin resistant. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 7, n. 12, p. 120194-120213, 2021. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/41965>. Acesso em: 5 fev. 2024.

KOTTNER, J. *et al.* Guidelines for reporting reliability and agreement studies (GRRAS) were proposed. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 64, n. 1, p. 96-106, 2011.

KOURTIS, A. P.; HATFIELD, K.; BAGGS, J.; MU, Y.; SEE, I.; EPSON, E.; NADLE, J.; KAINER, M. A.; DUMYATI, G.; PETIT, S.; RAY, S. M. Epidemiology and recent trends in methicillin-resistant and in methicillin-susceptible staphylococcus aureus bloodstream infections - United States. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.** [S. l.], v. 68, n. 9, p. 214-219, mar. 2019.

KOWALSKA-KROCHMAL, B.; DUDEK-WICHER, R. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: methods, interpretation, clinical relevance. **Pathogens.** [S. l.], v. 10, n. 2, p. 165, fev. 2021.

KOWALSKA-KROCHMAL, B. *et al.* Reliability of e-tests and the phoenix automated method in assessing susceptibility to iv fosfomicin comparative studies relative to the reference method. **Pathogens**, [S. l.], v. 12, n. 5, maio 2023.

KUO, C. F. *et al.* Discordance of vancomycin minimum inhibitory concentration for methicillin-resistant Staphylococcus aureus at 2 µg/mL between Vitek II, E-test, and Broth Microdilution. **PeerJ**, [S. l.], v. 2020, n. 3, 2020.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-resistant staphylococcus aureus: molecular characterization, evolution, and epidemiology. **Clin Microbiol Rev.**, [S. l.], v. 31, n. 4, e00020-18, set. 2018.

LAM, J. C.; GREGSON, D. B.; ROBINSON, S.; SOMAYAJI, R.; CONLY, J. M.; PARKINS, M. D. Epidemiology and outcome determinants of staphylococcus aureus bacteremia revisited: a population-based study. **Infection**, [S. l.], v. 47, n. 6, p. 961-971, dez. 2019.

LAM, J. C.; STOKES, W. The golden grapes of wrath - Staphylococcus aureus bacteremia: a clinical review. **The American Journal of Medicine**, [S. l.], v. 136, n. 1, p. 19-26, 2023.

LEE, A.S.; LENCASTRE, H., GARAU, J.; KLUYTMANS, J; MALHOTRA-KUMAR, S.; A PESCHEL, A.; HARBARTH, S. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Nat Rev Dis Primers**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 18033, 2018.

LIU, C. *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. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 52, n. 3, 1 fev. 2011.

MACHADO, H.; SEIF, Y.; SAKOULAS, G.; OLSON, C. A.; HEFNER Y.; ANAND, A., JONES, Y. Z.; SZUBIN, R.; PALSSON, B. O.; NIZET, V.; FEIST, A. M. Environmental conditions dictate differential evolution of vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. **Commun Biol.**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 793. jun. 2021.

MADHAVAN, A. *et al.* **Comparison of PCR and phenotypic methods for the detection of methicillin resistant staphylococcus aureus.** [S. l.]: [s.n.], 2021. Disponível em: <http://ijm.tums.ac.ir>. Acesso em: 19 fev. 2023.

MAHARJAN, M.; SAH, A. K.; PYAKUREL, S.; THAPA, S.; MAHARJAN, S.; ADHIKARI, N.; RIJAL, K. R.; GHIMIRE, P.; THAPA SHRESTHA, U. Molecular confirmation of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* with *vanA* Gene from a Hospital in Kathmandu. **Int J Microbiol.**, [S. l.], dez. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34899917/>. Acesso em: 13 mar. 2023.

MANFREDINI, C.; PICOLI, A. U.; BECKER, A. P. Comparison of methods to determination of vancomycin sensitivity in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. [S. l.], **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 47, n. 2, p. 141-145, abr. 2011.

MASSARINE, N. C. M. *et al.* How Did COVID-19 Impact the Antimicrobial Consumption and Bacterial Resistance Profiles in Brazil? **Antibiotics**, [S. l.], v. 12, n. 9, p. 1374, ago. 2023.

MCGUINNESS, W. A.; MALACHOWA, N.; DELEO, F.R. Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale J Biol Med.*, [S. l.], v. 90, n. 2, p. 269-281, jun. 2017.

MCHUGH, M. L. Interrater reliability: the kappa statistic. **Biochem Med (Zagreb)**. [S. l.], v. 22, n. 3, p. 276-82, 2012.

MENEGUIN, S.; TORRES, E. A.; POLLO, C. F. Fatores associados à infecção por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em unidade de terapia intensiva. **Rev Bras Enferm.**, [S. l.], v. 73, n. 6, e20190483, set. 2020.

MIETHKE, M.; PIERONI, M.; WEBER, T.; BRÖNSTRUP, M.; HAMMANN, P.; HALBY, L.; ARIMONDO, P. B.; GLASER, P.; AIGLE, B.; BODE, H. Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics. **Nat Rev Chem.**, [S. l.], v. 5, n. 10, p. 726-749, 2021.

MULLER, Rodrigo *et al.* Pesquisa de anticorpos anti-PBP2a em pacientes colonizados por *Staphylococcus Aureus* resistente à metilina (MRSA). 2009. Tese de Doutorado. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos.

NACIONAL, I. **Portaria n 64, de 11 de dezembro de 2018 - Imprensa nacional**. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/55217765/do1-2018-12-14-portaria-n-64-de-11-de-dezembro-de-2018-55217696. Acesso em: 24 abr. 2024.

NAMBIAR, K.; SEIFERT, H.; RIEG, S.; KERN, W. V.; SCARBOROUGH, M.; GORDON, N. C.; BARLOW, G. Survival following *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: a prospective multinational cohort study assessing the impact of place of care. **Journal of Infection**, [S. l.], v. 77, n. 6, 516-525, 2018, .

NEWSTEAD, L. L.; VARJONEN, K.; TIM NUTTALL, T.; GAVIN, K. P. Staphylococcal-produced bacteriocins and antimicrobial peptides: Their potential as alternative treatments for *staphylococcus aureus* infections. **Antibiotics**, [S. l.], v. 9, 40, 2020.

OPLUSTIL *et al.* **Procedimentos básicos em microbiologia clinica**. 4. ed. São Paulo: Savir, 2020.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANECO, T. M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B. R. Métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 2, 2008.

OTHMAN, H. B. *et al.* Vancomycin MIC distribution among methicillin-resistant staphylococcus aureus. Is reduced vancomycin susceptibility related to MIC creep? **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 12-18, 15 jan. 2019.

PEACOCK, S. J.; PATERSON, G. K. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. **Annual Review of Biochemistry**, [S. l.], v. 84, p. 577 - 601, 2015.

PEREIRA, A. L.; PITA, J. R. Alexander Fleming (1881-1955): da descoberta da penicilina (1928) ao prémio Nobel (1945). **História: revista da Faculdade de Letras da Universidade do Porto**, [S. l.], v. 6, 2018. Disponível em: <https://ojs.letras.up.pt/index.php/historia/article/view/3787>. Acesso em: 6 mar. 2023.

PHILLIPS, C. J. *et al.* Optimizing the detection of methicillin-resistant staphylococcus aureus with elevated vancomycin minimum inhibitory concentrations within the susceptible range. **Infection and Drug Resistance**, [S. l.], v. 9, p. 87-92, 31 maio 2016.

PILLONETTO, M. *et al.* The Experience of implementing a national antimicrobial resistance surveillance system in Brazil. *Frontiers in Public Health*, [S. l.], v. 8, p. 993, 2021.

PROVENZI, M. A. **Caracterização do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e genes de virulência de amostras clínicas de staphylococcus aureus resistentes à meticilina (MRSA) isoladas no Estado de Santa Catarina**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Centro de Ciências da Saúde Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.

ROLO, J.; WORNING, P.; NIELSEN, J. B.; BOWDEN, R.; BOUCHAMI, O.; DAMBORG, P.; GUARDABASSI, L.; PERRETEN, V.; TOMASZ, A.; WESTH H, DE LENCASTRE H, M. M. Origem evolutiva do estafilocócico *Cromossomo mec* (SCCmec). **Agentes Antimicrobianos Quimioterápicos**, [S. l.], v. 61, n. 6, e02302, maio 2017.

ROSSATO, A. M. *et al.* Características moleculares de Staphylococcus aureus susceptível à vancomicina poderiam ajudar a prever falhas no tratamento devido à reduzida susceptibilidade à vancomicina. **Rev. Epidemiol. Controle Infecç.**, Santa Cruz do Sul, v. 8, n. 4, p. 422-427, 2018.

ROSSATTO, F. C.; PROENÇA, L. A.; BECKER, A. P.; SILVEIRA, A. C.; CAIERÃO, J.; D'AZEVEDO, P. A. Evaluation of methods in detecting vancomycin MIC among MRSA isolates and the changes in accuracy related to different MIC values. **Rev Inst Med Trop.**, Sao Paulo, v. 56, n. 6, p. 469-72, nov./dez. 2014.

ROSSI, F *et al.* Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 370, n. 16, p. 1524-1531, 2014.

RUNGELRATH, V.; DELEO, F. R. Staphylococcus aureus, Antibiotic Resistance, and the Interaction with Human Neutrophils. **Antioxidants and Redox Signaling**, [S. l.], v. 34, n. 6, p. 452-470, 2021.

SALAM, M. A.; AL-AMIN, M. Y.; PAWAR, J. S.; AKHTER, N.; LUCY, I. B. Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. **Saudi J Biol Sci.**, [S. l.], v. 30, n. 3, e103582, mar. 2023.

SANTANA, M. T. P.; GOMES, L. L.; SANTOS, T. A.; LIMA, F. O.; MORAIS, S. R.; SOUSA, A. P.; ALVES, M. A. S. G.; GUÊNES, G. M. T.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Atividade antibacteriana do óleo essencial da Lavandula Híbrida Grosso associada à gentamicina contra cepas de Staphylococcus aureus. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, [S. l.], v. 9, n. 4, 2020. Disponível em: <https://archhealthinvestigation.com.br/ArcHI/article/view/5034>. Acesso em: 11 jan. 2024.

SANTOS, A. L. D.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C. D.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. Staphylococcus aureus: visiting a strain of clinical importance. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S. l.], v. 43, p. 413-423, 2007.

SANTOS, S. C. G.; BARONI, L. N.; NETA, M. R. A. A.; LEAL-BALBINO, T. C.; ANDRADE-FIGUEIREDO, M. Epidemiologia molecular de Staphylococcus aureus no Brasil: elevada frequência de clones epidêmicos|pandêmicos, CA-MRSA e perspectivas futuras. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 35734-35751, 2021. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/27816>. Acesso em: 15 jan. 2024.

SHARIATI, A.; DADASHI, M.; MOGHADAM, M. T.; VAN BELKUM, A.; YASLIANIFARD, S.; DARBAN-SAROKHALIL, D. Global prevalence and distribution of vancomycin resistant, vancomycin intermediate and heterogeneously vancomycin intermediate Staphylococcus aureus clinical isolates: a systematic review and meta-analysis. **Sci Rep.**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 12689, 2020.

SHI, C.; YE, J.; XU, R.; JIN, W.; XU, S.; TENG, F.; LIN, N. Effect of the vancomycin minimum inhibitory concentration on clinical outcomes in patients with methicillin-susceptible Staphylococcus aureus bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. **BMJ open**, [S. l.], v. 11, n. 1, e040675, 2021.

SHOAIB, M.; AQIB, A. I.; MUZAMMIL, I.; MAJEED, N.; BHUTTA, Z. A.; KULYAR, M. F.; FATIMA, M.; ZAHEER, C. F.; MUNEER, A.; MURTAZA, M.; KASHIF, M.; SHAFQAT, F.; PU, W. MRSA compendium of epidemiology, transmission, pathophysiology, treatment, and prevention within one health framework. **Front Microbiol.**, v. 13, p. 1067284, 2023.

SILVA, C. D. R. D.; SILVA JÚNIOR, M. Strategies for appropriate antibiotic use in intensive care unit. **Einstein**, Sao Paulo, v. 13, p. 448-453, 2015.

SILVA, C. F.; GONÇALVES, G. R.; SILVA, K. S. B.; LIMA, R. S.; NAUE, C. R. Perfil bacteriano de hemoculturas coletadas em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva de um Hospital Universitário do Sertão de Pernambuco. **Revista UNIANDRADE**, [S. l.], v. 21, n. 2, p. 97-107, 2020.

SILVA, C. F.; GONÇALVES, G. R.; SILVA, K. S. B.; LIMA, R. S.; NAUE, C. R. Perfil

bacteriano de hemoculturas coletadas em pacientes internados na unidade de terapia intensiva de um Hospital Universitário do Sertão de Pernambuco. **Revista UNIANDRADE**, [S. l.], v. 21, n. 2, p. 97-107, 2020.

SIT, P. S.; THE, C. S. J.; IDRIS, N.; PONNAMPALAVANAR, S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteremia: Correlations between clinical, phenotypic, genotypic characteristics and mortality in a tertiary teaching hospital in Malaysia. **Infect Genet Evol.**, [S. l.], v. 59, p. 132-141, abr. 2018.

SMITH, D. A.; NEHRING, S. M. **Bacteremia**. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing, 2023.

SONG, K. H. *et al.* Impact of vancomycin MIC on treatment outcomes in invasive *Staphylococcus aureus* infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 61, n. 3, mar. 2017.

SORIANO, A.; MARCO, F.; MARTÍNEZ, J. A.; PISOS, E.; ALMELA, M.; DIMOVA, V. P.; ALAMO, D.; ORTEGA, M.; LOPEZ, J.; MENSA, J. Influência da concentração inibitória mínima de vancomicina no tratamento da bacteremia por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Clin Infect Dis.**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 193-200, jan. 2008.

STUDY FINDS THAT ANTIBIOTICS CAN MAKE SUPERBUG MRSA STRONGER. Disponível em: <https://www.pulseheadlines.com/study-finds-antibiotics-superbug-mrsa-stronger/10392/>. Acesso em: 18 fev. 2024.

TAM, K.; TORRES, V. J. *Staphylococcus aureus* secreted toxin and extracellular enzymes. **Microbiol Spectr.**, [S. l.], v. 7, n. 2, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6422052>. Acesso em: 14 jan. 2022.

TAYLOR, T. A.; UNAKAL, C. G. **Staphylococcus aureus**. Treasure Island, FL: Stat Pearls Publishing, 2022. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mecanismos.htm. Acesso em: 29 fev. 2022.

TERRA, M. R.; SILVA, R. S. Vancomicina-um antimicrobiano de importância nosocomial. **Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research**, [S. l.], v. 19, n. 3, 2017.

THORLACIUS-USSING, L.; SANDHOLDT, H.; LARSEN, A. R.; PETERSEN, A.; BENFIELD, T. Age-dependent Increase in incidence of *staphylococcus aureus* bacteremia, denmark, 2008-2015. **Emerg Infect Dis.**, [S. l.], v. 25, n. 5, p. 875-882, maio 2019.

TOMCZAK, H. *et al.* Summary. **Postepy Hig Med Dosw (online)**, [S. l.], v. 67, p. 921-925, 2013.

TURNER, N. A.; SHARMA-KUINKEL, B. K.; MASKARINEC, S. A.; EICHENBERGER, E. M.; SHAH, P. P.; CARUGATI, M.; HOLLAND, T. L.; FOWLER JR, V. G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. **Nat Rev Microbiol.**, [S. l.], v. 17, n. 4, p. 203-218, 2019.

VAN, H. A. L.; LODISE, T. P.; PATERSON, D. L. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. **Clin Infect Dis.** [S. l.], v. 54, n. 6, p. 755-771, mar. 2012.

WAELE, J. J. What every intensivist should know about the management of peritonitis in the intensive care unit. **Rev Bras Ter Intensiva**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 9-14, jan. 2018.

WILCOX, M.; AL-OBEID, S.; GALES, A.; KOZLOV, R.; MARTÍNEZ-OROZCO, J. A.; ROSSI, F.; SIDORENKO, S.; BLONDEAU, J. Reporting elevated vancomycin minimum inhibitory concentration in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: consensus by an International Working Group. **Future Microbiol.** [S. l.], v. 14, n. 4, p. 345-352, mar. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.** 2017. Disponível em: https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf. Acesso em: 22 abr. 2022.

YAMIN, D.; USKOKOVIĆ, V.; WAKIL, A. M.; GONI, M. D.; SHAMSUDDIN, S. H.; MUSTAFA, F. H.; ALFOUZAN, W. A. Tecnologias atuais e futuras para a detecção de bactérias resistentes a antibióticos. **Diagnóstico (Basileia)**, [S. l.], v. 13, n. 20, p. 3246, out. 2023.

YEH, Y. C. *et al.* Impact of vancomycin MIC creep on patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 45, n. 3, p. 214-220, jun. 2012.

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

HOSPITAL DE MESSEJANA
DR. CARLOS ALBERTO
STUDART GOMES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do perfil de sensibilidade a vancomicina em isolados de *Staphylococcus aureus* Resistentes a Meticilina (MRSA) em amostras de hemocultura no Hospital do Coração de Messejana, Fortaleza-CE.

Pesquisador: Tiago Sampaio

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 60508622.1.0000.5039

Instituição Proponente: Hospital de Messejana Dr. Carlos Alberto Studart Gomes

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.557.687

Apresentação do Projeto:

O presente estudo prospectivo observacional irá avaliar o perfil de resistência à vancomicina em isolados de MRSA do Hospital do Coração de Messejana, Fortaleza-CE e comparar com os isolados não-MRSA em amostras de hemocultura nos anos de 2022 e 2023. Além disso, serão comparados também MRSA que usaram e não usaram vancomicina, incluindo a observação dos valores de vancocinemia em pacientes que tiveram dosagem sérica do fármaco realizada por coleta de sangue de acesso venoso periférico de acordo com protocolos seguidos pelo hospital. Avancocinemia será realizada em aparelho Architect I 1000 SR (aparelho de imunologia e quimioluminescência). Serão feitas coletas de dados referentes aos dados do laboratório de microbiologia e, em seguida, as bactérias isoladas serão levadas ao Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas Professor Doutor Eurico Litton Pinheiro de Freitas (LACT/FFOE/UFC) onde serão feitas as determinações de CIM por método de microdiluição em caldo. Haverá ainda coleta de dados referentes à sensibilidade/resistência aos outros fármacos citados, a fim de verificar se existe relação do aumento da resistência com o uso de vancomicina. Serão incluídos no estudo os isolados de hemoculturas com resultado positivo para *Staphylococcus aureus*, sendo excluídos os pacientes que não façam parte do atendimento no Hospital do Coração de Messejana.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar o perfil de sensibilidade à vancomicina em isolados de *Staphylococcus*

Endereço: Av. Frei Cirilo 3480

Bairro: Messejana

UF: CE

Município: FORTALEZA

CEP: 60.840-285

Telefone: (85)3247-3342

E-mail: comitedeetica@hm.ce.gov.br

HOSPITAL DE MESSEJANA
DR. CARLOS ALBERTO
STUDART GOMES



Continuação do Parecer: 5.557.687

aureus resistentes à metilina (MRSA) em amostras de hemoculturado Hospital do Coração de Messejana, Fortaleza-CE. Objetivo Secundário: a) Determinar a frequência de Staphylococcus aureus resistentes à metilina (MRSA) em amostras de hemocultura; b) Comparar a concentração inibitória mínima (CIM) da vancomicina em isolados de Staphylococcus aureus resistentes à metilina (MRSA) e sensíveis (MSSA); c) Avaliar o perfil de sensibilidade do MRSA a outros fármacos destinados a cocos resistentes como linezolida, daptomicina e tigeciclina; d) Avaliar o desvio padrão da média aos se comparar a obtenção da CIM por diferentes métodos laboratoriais como automatização, E-test emicrodiluição em caldo; e) Associar a influência dos valores de CIM para vancomicina no desfecho terapêutico de pacientes com bacteremia por S. aureus em Hospital de referência na área cardiovascular e de pneumologia para o Estado do Ceará.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: O presente estudo apresenta riscos mínimos ao paciente, visto que trata apenas da utilização de amostras de culturas já solicitadas e isoladas pelo laboratório de microbiologia do hospital. Os riscos podem estar relacionados à divulgação de dados pessoais ou contaminação dos manipuladores associada ao manejo dos microrganismos. Os riscos serão minimizados através da assinatura do termo de compromisso e confidencialidade dos pesquisadores e seguimento das normas de biosegurança. **Benefícios:** O projeto apresenta benefícios em potencial quanto ao melhor entendimento acerca do gerenciamento de antimicrobianos, melhorando a questão social associada à multirresistência bacteriana que gera alta mortalidade, gastos em saúde e impactos na saúde pública.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será utilizado, após aprovação do comitê de ética, amostras de sangue total (hemoculturas) para coleta e identificação de Staphylococcus aureus, além disso o seu perfil de sensibilidade/resistência aos antimicrobianos, e a incidência da bactéria em estudo será analisada a partir de dados fornecidos pelo setor de laboratório. Posteriormente, as bactérias isoladas serão encaminhadas para o LACT-UFC a fim de realizar os métodos de E-test e microdiluição em caldo, para comparação das CIM (concentração inibitória mínima) encontradas nesses métodos e a CIM obtida pela automação do aparelho vitek 2.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos solicitados estão presentes

Recomendações:

Sem recomendações

Endereço: Av. Frei Cirilo 3480

Bairro: Messejana

CEP: 60.840-285

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3247-3342

E-mail: comitedeetica@hm.ce.gov.br

HOSPITAL DE MESSEJANA
DR. CARLOS ALBERTO
STUDART GOMES



Continuação do Parecer: 5.557.687

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1957180.pdf	26/07/2022 14:53:38		Aceito
Outros	TERMODEGUARDA.pdf	26/07/2022 14:52:57	Tiago Sampaio	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	INFRAESTRUTURA.pdf	26/07/2022 14:52:42	Tiago Sampaio	Aceito
Outros	GUARDAMATERIALBIOLOGICO.pdf	26/07/2022 14:52:16	Tiago Sampaio	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	BIORREPOSITORIO.pdf	26/07/2022 14:51:43	Tiago Sampaio	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMAADAPp.pdf	26/07/2022 14:50:54	Tiago Sampaio	Aceito
Outros	CARTEANUENCIA.pdf	26/07/2022 14:49:44	Tiago Sampaio	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DISPENSATCLE.pdf	26/07/2022 14:48:25	Tiago Sampaio	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	26/07/2022 14:47:45	Tiago Sampaio	Aceito
Outros	FIELDPOSITARIO.pdf	26/07/2022 14:47:05	Tiago Sampaio	Aceito
Outros	CONFIDENCIALIDADE.pdf	26/07/2022 14:45:00	Tiago Sampaio	Aceito
Declaração de concordância	Aceitepesquisa.pdf	07/07/2022 23:24:26	Tiago Sampaio	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	07/07/2022 23:09:43	Tiago Sampaio	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoOF.pdf	07/07/2022 23:07:17	Tiago Sampaio	Aceito

Endereço: Av. Frei Cirilo 3480

Bairro: Messejana

CEP: 60.840-285

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3247-3342

E-mail: comitedeetica@hm.ce.gov.br

HOSPITAL DE MESSEJANA
DR. CARLOS ALBERTO
STUDART GOMES



Continuação do Parecer: 5.557.687

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 02 de Agosto de 2022

Assinado por:
Armênia Uchôa de Mesquita
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Frei Cirilo 3480

Bairro: Mesejana

CEP: 60.840-285

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3247-3342

E-mail: comitedeetica@hm.ce.gov.br