



Artigo/Article

Bacteremias por *Staphylococcus* coagulase negativos oxacilina resistentes em um hospital escola na cidade de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul

Oxacillin-resistant coagulase-negative Staphylococci bacteremia at a teaching hospital in Santa Maria, State of Rio Grande do Sul, Brazil

Fabiane Rigatti¹, Máisa Kraulich Tizotti¹, Rosmari Hörner², Vanessa Oliveira Domingues³, Rosiéli Martini¹, Letícia Eichstaedt Mayer¹, Fábio Teixeira Khun⁴, Chirles Araújo de França⁵ e Mateus MatiuZZi da Costa⁵

RESUMO

Introdução: Neste estudo, objetivou-se caracterizar a prevalência e o perfil de suscetibilidade de cepas de *Staphylococcus* coagulase negativas resistentes à oxacilina isoladas de culturas de sangue, em um hospital escola, localizado na Cidade de Santa Maria. Além disso, buscou-se comparar ao teste genotípico de referência, diferentes metodologias fenotípicas para a caracterização da resistência mediada pelo gene *mecA*. **Métodos:** Após identificação (MicroScan® - Siemens), os isolados foram submetidos a testes de sensibilidade antimicrobiana a partir da difusão do disco e automação (MicroScan® - Siemens). A presença do gene *mecA* foi evidenciada através da técnica molecular de reação em cadeia da polimerase. **Resultados:** A espécie prevalente foi *Staphylococcus epidermidis* (67%). O gene *mecA* foi detectado em 90% das cepas e conforme análise dos perfis de sensibilidade, observou-se um índice elevado de resistência a várias classes de antimicrobianos. Contudo, todos os isolados mostraram-se uniformemente sensíveis à vancomicina e tigeciclina. O disco de ceftoxitina foi a metodologia fenotípica que melhor correlacionou-se com o padrão ouro. **Conclusões:** A análise da significância clínica de SCN isolados de hemoculturas e a detecção precisa da resistência à oxacilina representam fatores decisivos para a instituição correta da antibioticoterapia. Apesar da vancomicina constituir o tratamento usual na maioria dos hospitais brasileiros, tem a redução de seu emprego recomendada.

Palavras-chaves: Bacteremia. Infecção hospitalar. *Staphylococcus* coagulase negativos. Gene *mecA*. Cefoxitina.

ABSTRACT

Introduction: This study aimed to characterize the prevalence and susceptibility profile to oxacillin-resistant Coagulase-negative Staphylococci strains isolated from blood cultures in a teaching hospital, located in Santa Maria, RS. In addition, different methodologies for phenotypic characterization of *mecA*-mediated oxacillin resistance were compared with genotypic reference testing. **Methods:** After identification (MicroScan® - Siemens), the isolates were tested for antimicrobial sensitivity using disk diffusion and automation (MicroScan® - Siemens). The presence of *mecA* gene was identified by the polymerase chain reaction molecular technique. **Results:** The most common species was *Staphylococcus epidermidis* (n=40, 67%). The *mecA* gene was detected in 54 (90%) strains, while analysis of the sensitivity profiles revealed a high rate of resistance to multiple classes of antimicrobial drugs. However, all isolates were uniformly sensitive to vancomycin and tigecycline. The ceftoxitin disk was the phenotypic method that best correlated with the gold standard. **Conclusions:** Analysis of the clinical significance of CoNS isolated from hemocultures and the precise detection of oxacillin resistance represent decisive factors for the correct choice of antibiotic therapy. Although vancomycin constitutes the normal treatment in most Brazilian hospitals, reduction in its use is recommended.

Key-words: Bacteremia. Nosocomial infection. Coagulase-negative staphylococci. *mecA* gene. Cefoxitin.

1. Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 2. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 3. Farmacêutica Bioquímica, Santa Maria, RS. 4. Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 5. Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE.

Endereço para correspondência: Prof^a Rosmari Hörner. Lab Bacteriologia/DACT/UFMS. Prédio 26, sala 1201, Campus da UFMS, 97015-900 Santa Maria, RS.

Telefax: 55 55 3220-8751

e-mail: rosmari.ufsm@gmail.com

Recebido para publicação em 30/06/2010

Aceito em 01/09/2010

INTRODUÇÃO

As infecções da corrente sanguínea (ICS) estão entre as mais frequentes no ambiente hospitalar e representam uma grave complicação em pacientes críticos¹, neonatos e imunocomprometidos²⁻⁴, estando associadas a elevadas taxas de mortalidade e prolongamento do tempo de hospitalização¹⁻³.

Durante as décadas de 60 e 70, microrganismos gram-negativos foram mais frequentemente isolados de pacientes com ICS. Desde então, devido ao incremento no uso de dispositivos médicos invasivos e maior número de pacientes imunodeprimidos hospitalizados, os cocos gram-positivos, especialmente os *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN), têm emergido como um dos principais agentes etiológicos destas infecções^{3,5}.

No entanto, os SCN também constituem um dos contaminantes mais comuns em hemoculturas. Por este motivo, torna-se necessária a utilização de diferentes critérios clínicos e laboratoriais a fim de distinguir contaminação de bacteremias clinicamente significativas^{1,6,7}.

De acordo com dados americanos, os SCN são responsáveis por 20,2% das ICS⁸. Já no Brasil, este percentual varia entre 10% e 20%, sendo que 70% a 90% dos isolados apresentam resistência à oxacilina^{9,10}. Esta resistência está relacionada à presença do gene cromossômico *mecA*, o qual codifica a produção de proteínas ligadoras de penicilina (PBP) alteradas, denominadas PBP2a ou PBP2', com baixa afinidade por antibióticos β-lactâmicos^{4,11}.

Nos últimos anos, o aumento substancial nos índices de resistência à oxacilina em SCN, tem gerado maior preocupação acerca de diagnósticos laboratoriais precisos, visto que são fundamentais para orientar a terapêutica e promover o uso racional de antimicrobianos glicopeptídeos¹².

Em decorrência disso, diferentes metodologias fenotípicas têm sido empregadas para caracterizar a resistência à oxacilina em SCN. Contudo, a emergência de cepas com resistência heterogênea

dificulta a interpretação dos testes de difusão do disco na rotina laboratorial^{9,13,14}.

A partir de 2004, o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) passou a recomendar o uso do disco de cefoxitina (30µg) em conjunto com o disco de oxacilina (1µg) para a detecção da resistência à oxacilina mediada pelo gene *mecA*. Em 2009, o CLSI excluiu o disco de oxacilina na previsão da resistência dos SCN frente aos agentes β-lactâmicos¹⁵.

A detecção do gene *mecA* por métodos moleculares é considerada *gold standard* para avaliação qualitativa da resistência à oxacilina. No entanto, estes métodos ainda encontram-se pouco difundidos na rotina diagnóstica^{9,16}.

O objetivo deste estudo foi avaliar as bacteremias e os perfis de sensibilidade de SCN isolados nas hemoculturas de pacientes admitidos no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), durante o período de janeiro de 2008 a janeiro de 2009. Além disso, buscou-se comparar metodologias fenotípicas com o teste genotípico de referência na detecção da resistência à oxacilina mediada pelo gene *mecA*.

MÉTODOS

Isolamento e identificação

Durante o período de janeiro de 2008 a janeiro de 2009, foram selecionadas, de forma consecutiva, 60 amostras de SCN isolados de hemoculturas efetuadas no sistema automatizado Bactec 9240® (Becton Dickinson, Sparks, MD), de pacientes atendidos no HUSM. A identificação dessas cepas foi realizada utilizando-se o sistema automatizado MicroScan® (Siemens). Na sequência, as cepas foram estocadas a -20°C em caldo simples com 15% de glicerol.

Crterios de inclusão

Foram selecionadas as cepas provenientes de hemoculturas monomicrobianas e que apresentavam resistência à oxacilina em pelo menos um dos testes fenotípicos realizados previamente (automação e/ou difusão do disco).

Significância clínica dos isolados

A análise foi efetuada com base nos prontuários médicos dos pacientes. Foram avaliadas variáveis como: aspectos clínicos, doenças de base, resultados de testes laboratoriais, terapia antimicrobiana empregada, tempo de internação e fatores de risco relacionados à ICS (imunossupressão e uso de dispositivos médicos invasivos).

Testes de sensibilidade

Os isolados foram testados para suscetibilidade à oxacilina, eritromicina, ciprofloxacina, clindamicina, rifampicina, levofloxacina, gentamicina, cefoxitina e sulfametoxazol/trimetoprima pelo método de difusão do disco em ágar Mueller Hinton (Himedia®) de acordo com o CLSI 2009¹⁵. Apesar do disco de oxacilina não ser mais recomendado para previsão da resistência à oxacilina desde 2009, incluímos neste estudo com o objetivo de comparar o seu desempenho com o disco de cefoxitina. A suscetibilidade ao novo antimicrobiano tigeciclina também foi avaliada na técnica de difusão do disco. Porém, ainda não há critérios interpretativos definidos pelo CLSI e, portanto, foram considerados os valores aprovados pelo U. S. *Food and Drug Administration* (FDA)¹⁷. Testes de sensibilidade utilizando automação MicroScan® (Siemens) também foram efetuados. Nesta análise, não foram avaliadas cefoxitina e tigeciclina, mas incluiu-se o antimicrobiano vancomicina. Microdiluição em caldo para vancomicina, conforme documento M7-A6- NCCLS/CLSI 2003, também foi realizada.

Detecção do gene *mecA*. Extração do DNA

Foi efetuada através de aquecimento com posterior choque térmico, onde o DNA foi mantido em banho de gelo por 4min¹⁸. Em seguida, procedeu-se a centrifugação do material, retirando o sobrenadante, que foi armazenado a -20°C até o momento da análise.

Reação em cadeia da polimerase

Realizada para detectar o gene *mecA*, utilizando a metodologia previamente descrita por Kearns e cols¹⁹. Empregou-se o seguinte par de *primers*: SA-1 (5' CGG TAA CAT TGA TCG CAA CGT TCA 3') e SA-2 (5' CTT TGG AAC GAT GCC TAA TCT CAT 3') (Ludwig Biotec®). Todas as reações foram realizadas com dois microlitros do DNA e 48µl do mix, o qual continha 15pmol dos iniciadores, 200µM dos desoxirribonucleotídeos (Ludwig Biotec®), Tampão de *Taq* 1x (Ludwig Biotec®) e 5U de *Taq* DNA polimerase (Ludwig Biotec®).

Avaliação do padrão dos amplicons de DNA

O produto amplificado de cada reação foi submetido à eletroforese em gel de agarose 2% (Pronadisa®) com brometo de etídio (0,5µg/mL) durante uma hora e visualizado em UV (312nm) com auxílio de transiluminador Fusion - FX7 - 7026 - WL/LC/26MX (Vilber Lourmat®). O resultado positivo para a presença do gene *mecA* foi evidenciado através da amplificação do fragmento com 214 pares de base. O que foi confirmado pelo controle positivo e pelo marcador de peso molecular.

Microorganismo controle

A cepa de *S. aureus* ATCC 43330 foi utilizada como controle.

Ética

O presente estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, sob número 0117.0.243.000-08.

RESULTADOS

Durante o período de janeiro de 2008 a janeiro de 2009, foram solicitadas, aproximadamente, 4.379 hemoculturas ao Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do HUSM. Deste total, 625 (14%) foram positivas e destas, 124 (19,8%) resultaram em isolados de SCN. Para a elaboração deste estudo, foram selecionadas 60 cepas de SCN resistentes à oxacilina (60 de 124/48,4%).

Dentre as 60 cepas selecionadas, a espécie prevalente foi o *S. epidermidis* (40 de 60/67%). As demais foram identificadas como *S. haemolyticus* (12 de 60/20%), SCN (7 de 60/11%) e *S. hominis subs. novobiosepticus* (1 de 60/2%).

Os setores hospitalares nos quais houve a prevalência das cepas selecionadas foram os centros de terapia intensiva (CTIs) adulto (15 de 60/25%) e neonatal (12 de 60/20%), seguidos pelo Centro de transplante de medula óssea (CTMO) (5 de 60/8%) e centro de tratamento de criança com câncer (CTCRIAC) (5 de 60/8%), totalizando 61% dos isolados.

A avaliação da significância clínica pôde ser efetuada para 38 cepas (38 de 60/63,3%). Já para 22 cepas, houve dificuldades na realização desta análise devido a dados clínicos insuficientes. Dessa forma, verificou-se que grande parte dos isolados avaliados foi responsável por bacteremia verdadeira (30 de 38/78,9%) e que somente oito mostraram-se contaminantes (8 de 38/21,1%).

De acordo com a sensibilidade a agentes antimicrobianos, efetuada pelo método de difusão do disco (**Tabela 1**), as cepas de SCN apresentaram resistência significativa a várias classes de antimicrobianos. As maiores sensibilidades obtidas foram frente aos antimicrobianos rifampicina (43 de 60/72%) e tigeciclina (60 de 60/100%). Além disso, foram identificados sete perfis de sensibilidade antimicrobiana prevalentes. Aqueles que não se enquadraram entre os perfis prevalentes mostraram-se bastante distintos entre si e por este motivo foram agrupados como outros (**Tabela 2**).

O método automatizado MicroScan® (Siemens) também evidenciou um índice elevado de resistência entre os SCN selecionados (**Tabela 3**).

Em relação ao antimicrobiano vancomicina, todas as cepas mostraram-se uniformemente sensíveis, apresentando CIM $\leq 2\mu\text{g/ml}$ a partir da automação e da microdiluição em caldo.

Na **Tabela 4**, estão relacionados os resultados referentes aos testes fenotípicos para caracterização da resistência à oxacilina, bem como os resultados do teste genotípico de referência (detecção do gene *mecA*). Na difusão do disco, (54 de 60/90%) dos SCN foram resistentes à oxacilina e (57 de 60/95%) foram resistentes à cefoxitina. O gene *mecA* foi detectado em (54 de 60/90%) das amostras testadas.

Através da análise estatística dos resultados, obteve-se sensibilidade de 92% para o disco de oxacilina e de 96% para a cefoxitina, quando comparados ao teste genotípico de referência.

TABELA 1 - Sensibilidade aos antimicrobianos das 60 cepas de SCN isoladas das hemoculturas realizadas no HUSM, no período de janeiro de 2008 a janeiro de 2009, utilizando-se o método de difusão do disco.

Antimicrobianos	Sensíveis		Intermediários		Resistentes		Total %
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	
Cefoxitina	3	5,0	-	-	57	95,0	100,0
Ciprofloxacina	24	40,0	4	7,0	32	53,0	100,0
Clindamicina	23	38,0	-	-	37	62,0	100,0
Eritromicina	9	15,0	-	-	51	85,0	100,0
Gentamicina	17	28,0	6	10,0	37	62,0	100,0
Levofloxacina	28	47,0	5	8,0	27	45,0	100,0
Oxacilina	6	10,0	-	-	54	90,0	100,0
Rifampicina	43	72,0	1	2,0	16	26,0	100,0
Sulfametoxazol/trimetoprima	20	33,0	-	-	40	67,0	100,0
Tigeciclina	60	100,0	-	-	-	-	100,0

TABELA 2 - Perfis de sensibilidade aos antimicrobianos das 60 cepas de SCN isoladas de Hemoculturas realizadas no HUSM, conforme método de difusão do disco.

Perfil	TIG	RIF	LEV	CIP	CLI	SUT	GEN	ERI	OXA	CFO	N	%
I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	10	16,67
II	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	6	10,00
III	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	5	8,33
IV	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	4	6,67
V	S	R	I	R	R	R	R	R	R	R	3	5,00
VI	S	S	R	R	R	R	I	R	R	R	2	3,33
Outros	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	50,00

TIG: tigeciclina, RIF: rifampicina, LEV: levofloxacina, CIP: ciprofloxacina, CLI: clindamicina, SUT: sulfametoxazol/trimetoprima, GEN: gentamicina, ERI: eritromicina, OXA: oxacilina, CFO: cefoxitina.

TABELA 3 - Sensibilidade aos antimicrobianos das 60 cepas de SCN isoladas das hemoculturas realizadas no HUSM, no período de janeiro de 2008 a janeiro de 2009, utilizando-se a automação.

Antimicrobianos	Sensíveis		Intermediários		Resistentes		Total %
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	
Ciprofloxacina	28	47,0	-	-	32	53,0	100,0
Clindamicina	28	47,0	-	-	32	53,0	100,0
Eritromicina	16	27,0	-	-	44	73,0	100,0
Gentamicina	13	22,0	1	2,0	46	76,0	100,0
Levofloxacina	28	47,0	12	21,0	20	32,0	100,0
Oxacilina	1	2,0	-	-	59	98,0	100,0
Rifampicina	45	76,0	2	3,0	13	24,0	100,0
Sulfametoxazol/trimetoprima	32	53,0	-	-	28	47,0	100,0
Vancomicina	60	100,0	-	-	-	-	100,0

TABELA 4 - Resultados dos testes para caracterização da resistência à oxacilina das 60 cepas de SCN isoladas das hemoculturas de pacientes atendidos no HUSM, no período de janeiro de 2008 a janeiro de 2009.

	Disco oxacilina		Disco cefoxitina	
	R	S	R	S
Gene <i>mecA</i> +	50/54	4/54	52/54	2/54
Gene <i>mecA</i> -	4/6	2/6	5/6	1/6
Total	54/60	6/60	57/60	3/60

DISCUSSÃO

Neste estudo, as cepas de SCN prevalentes foram *S. epidermidis* (40 de 60/67%) e *S. haemolyticus* (12 de 60/20%). Estas duas espécies têm sido relatadas em estudos nacionais e internacionais como as mais frequentes entre os SCN isolados de infecções nosocomiais^{1,9,20-23}.

Do ponto de vista epidemiológico, o *S. epidermidis* tem desenvolvido estratégias interessantes para conquistar o ambiente hospitalar e se transformar em um patógeno notório. Destaca-se a sua capacidade de colonizar a superfície inerte de dispositivos médicos invasivos, formando biofilmes de difícil tratamento, bem como, o carreamento de diferentes elementos genéticos móveis, os quais são responsáveis pela resistência à oxacilina²⁴.

O *S. haemolyticus* também desempenha um papel considerável em infecções oportunistas relacionadas a dispositivos médicos implantados. Contudo, para esta espécie, as bases moleculares da formação do biofilme ainda não foram totalmente elucidadas. Os níveis elevados de resistência aos antimicrobianos, incluindo a heterorresistência aos glicopeptídeos, compreendem características importantes, que tornam infecções por *S. haemolyticus* uma ameaça grave^{20,25}.

Em nosso estudo, sete isolados de SCN (7 de 60/20%) não foram identificados satisfatoriamente em nível de espécie pelo sistema automatizado. Apesar das vantagens oferecidas por este sistema, tais como, logística no fluxo de trabalho e rapidez no fornecimento de resultados, ele pode apresentar limitações na identificação e determinação da suscetibilidade de alguns patógenos²⁶.

Devido à emergência de infecções nosocomiais associadas a SCN, a identificação das cepas em nível de espécie torna-se um fator importante, a fim de definir o seu significado clínico e realizar estudos epidemiológicos adequados²⁶.

O percentual de significância clínica dos nossos isolados foi superior ao descrito na literatura¹. Todavia, deve-se considerar que os critérios de inclusão utilizados podem ter influenciado este resultado, já que o seu emprego dificultou a inclusão de um maior número de cepas, possivelmente contaminantes.

As cepas de SCN selecionadas para este estudo foram provenientes, principalmente, de pacientes admitidos em unidades críticas (CTIs adulto e neonatal) e unidades hematológicas (CTMO e CTCRIAC). Dessa forma, os dados obtidos neste estudo estão de acordo com relatos da literatura, nos quais a prevalência de SCN foi observada em hemoculturas de pacientes internados em CTIs¹, recém-nascidos, imunocomprometidos^{4,27} e transplantados de medula óssea³.

Nestes setores hospitalares, grande parte das ICS está relacionada a procedimentos invasivos, uso de cateteres e imunossupressão²⁸. Além

disso, uma característica relevante das cepas provenientes desses locais é a taxa expressiva de resistência à oxacilina, o que dificulta o tratamento, conduzindo ao emprego de múltiplos antimicrobianos e pressão seletiva²⁸.

Nossos isolados apresentaram um índice considerável de resistência a diferentes antimicrobianos (Tabelas 1, 2 e 3). Algumas variações entre os resultados obtidos a partir do método convencional (Tabela 1) e do automatizado (Tabela 3) foram encontradas. A maior sensibilidade à clindamicina, sulfametoxazol/trimetoprima e levofloxacina, evidenciada na automação, poderá conduzir a erros maiores, visto que há possibilidade das cepas apresentarem falsa sensibilidade. Com os antimicrobianos gentamicina e oxacilina, os resultados da difusão do disco poderão direcionar a erros maiores.

Conforme exposto na Tabela 2 (difusão do disco), as cepas com perfis I e V caracterizaram-se pela resistência a maioria dos antimicrobianos testados, apresentando sensibilidade apenas à tigeciclina. O perfil V diferiu do perfil I, devido apresentar resistência intermediária à levofloxacina. Já as cepas com perfil II mostraram-se sensíveis à tigeciclina e rifampicina, assemelhando-se às cepas com perfil VI, nas quais houve resistência intermediária à gentamicina. Os perfis III e IV apresentaram maior sensibilidade que os anteriormente citados, sendo as cepas sensíveis à tigeciclina, rifampicina, clindamicina, ciprofloxacino e levofloxacino.

Adicionalmente, verificamos que as cepas que apresentaram estes sete perfis de sensibilidade prevalentes, foram provenientes, principalmente, de pacientes internados nas UTIs. Esta é uma característica importante das cepas de origem hospitalar, corroborando que em unidades críticas, há maior multirresistência^{28,29}.

A partir do método genotípico, verificou-se que 54 (54 de 60/90%) das cepas carregavam o gene *mecA* e que em 6 (6 de 60/10%) ele estava ausente. Já na difusão do disco, o gene *mecA* foi detectado com 96% e 92% de sensibilidade, utilizando os discos de cefoxitina (30µg) e oxacilina (1µg), respectivamente (Tabela 4). Este dado é compatível com o descrito em outros estudos^{9,30-32} nos quais o disco de cefoxitina também apresentou maior correlação com o padrão ouro.

Analisando os índices de resistência à oxacilina obtidos através da automação e do disco de cefoxitina pôde-se constatar a ocorrência de superestimação, em relação ao encontrado no padrão ouro. A resistência à oxacilina sem a presença do gene *mecA* pode ser devida a hiperprodução de penicilinase ou por modificação nas proteínas de ligação da penicilina (PBP 1, 2 e 4)¹⁴.

Em relação à sensibilidade aos glicopeptídeos, todos os isolados mostraram-se sensíveis à vancomicina. Contudo, relatos de cepas de SCN e *S. aureus* apresentando suscetibilidade reduzida à vancomicina em diversos países, incluindo o Brasil, têm gerado dilemas terapêuticos na prática clínica³³.

Nos últimos anos, novas opções terapêuticas surgiram como alternativa à vancomicina. Daptomicina e quinupristina/dalfopristina foram aprovadas recentemente pelo FDA para o tratamento de bacteremias ocasionadas por cocos gram-positivos multirresistentes. Tigeciclina, oritavancina, linezolida e ceftobiprole, também fazem parte deste novo arsenal terapêutico; porém, ainda não foram aprovados para o tratamento de infecções da corrente sanguínea³⁴.

Neste contexto, salienta-se que a análise da significância clínica de SCN isolados de hemoculturas, bem como, a detecção precisa da resistência à oxacilina, representam fatores decisivos para evitar uma maior taxa de mortalidade entre os pacientes que apresentam

bacteriemia. A vancomicina continua sendo o tratamento de escolha para infecções graves associadas a SCN oxacilina resistentes neste hospital terciário. Entretanto, devido ao surgimento de cepas de *Enterococcus* spp vancomicina resistentes (EVR) e *Staphylococcus* spp com suscetibilidade reduzida à vancomicina, a redução do uso deste antimicrobiano têm sido recomendada. Sendo assim, sugere-se que novas opções terapêuticas sejam utilizadas a fim de resguardar este glicopeptídeo.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

REFERÊNCIAS

1. Leão LSNO, Passos XS, Reis C, Valadão LMA, Silva MRR, Pimenta FC. Fenotipagem de bactérias isoladas de hemoculturas de pacientes críticos. Rev Soc Bras Med Trop 2007; 40:537-540.
2. Grisarú-Soen G, Sweed Y, Lerner-Geva L, Hirsh-Yechezkel G, Boyko V, Vardi A, et al. Nosocomial bloodstream infections in a pediatric intensive care unit: 3-year survey. Med Sci Monit 2007; 13:251-257.
3. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 2004; 39:309-317.
4. Perazzi B, Fermepin MR, Malimovka A, Garcia SD, Orgambide M, Vay CA, et al. Accuracy of cefoxitin disk testing for characterization of oxacillin resistance mediated by penicillin-binding protein 2a in coagulase-negative staphylococci. J Clin Microbiol 2006; 44:3634-3639.
5. Natoli S, Fontana C, Favaro M, Bergamini A, Testore GP, Minelli S, et al. Characterization of coagulase-negative staphylococcal isolates from blood with reduced susceptibility to glycopeptides and therapeutic options. BMC Infect Dis 2009; 9:83.
6. Karchmer AW. Nosocomial bloodstream infections: organisms, risk factors, and implications. Clin Infect Dis 2000; 31:139-143.
7. Beekmann SE, Diekema DJ, Doern GV. Determining the clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures. Infect Control Hosp Epidemiol 2005; 26:559-566.
8. Mendes RE, Jones RN, Deshpande LM, Ross JE, Sader HS. Daptomycin activity tested against linezolid-nonsusceptible Gram-Positive clinical isolates. Microb Drug Resist 2009; 15:245-249.
9. Perez LRR, d'Azevedo PA. Evaluation of the accuracy of various phenotypic tests to detect oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci. Braz J Infect Dis 2008; 12:210-212.
10. Sader HS, Jones RN, Gales AC, Silva JB, Pignatari AC. SENTRY antimicrobial surveillance program report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. Braz J Infect Dis 2004; 8:25-79.
11. Hiramatsu K, Katayama Y, Yuzawa H. Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol 2002; 292:67-74.
12. Caierão J, Superti S, Dias CAG, d'Azevedo PA. Automated systems in the identification and determination of methicillin resistance among coagulase negative staphylococci. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; 101:277-279.
13. Ferreira RB, Iorio NL, Malvar KL, Nunes APF, Fonseca LS, Bastos CCR, et al. Coagulase-negative staphylococci: comparison of phenotypic and genotypic oxacillin susceptibility tests and evaluation of the agar screening test by using different concentrations of oxacillin. J Clin Microbiol 2003; 41:3609-3614.
14. Antunes ALS, Secchi C, Reiter KC, Perez LRR, Freitas ALP, d'Azevedo PA. Evaluation of oxacillin and cefoxitin disks for detection of resistance in coagulase negative staphylococci. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007; 102:719-723.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement Approved Standard M100-S19. CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA, 2009.
16. Brown DFJ. Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci. J Antimicrob Chemother 2001; 48:65-70.
17. Tygacil TM. [tigecycline] package insert. Wyeth Pharmaceuticals Inc, Philadelphia, PA, USA, June 2005.
18. Greco C, Mastronardi C, Pagotto F, Mack D, Ramirez-Arcos S. Assessment of biofilm-forming ability of coagulase-negative staphylococci isolated from contaminated platelet preparations in Canada. Transfusion 2008; 48:969-977.
19. Kearns AM, Seiders PR, Wheeler J, Freeman R, Steward M. Rapid detection of methicillin-resistant Staphylococci by multiplex PCR. J Hosp Infect 1999; 43:33-37.
20. D'Azevedo PA, Secchi C, Antunes ALS, Sales T, Silva FM, Tranchesi R, et al. Oxacillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci (CONS) bacteremia in a general hospital at São Paulo city, Brasil. Braz J Microbiol 2008; 39:631-635.
21. Lyytikäinen O, Lumio J, Sarkkinen H, Kolho E, Ruutu P, and the Hospital Infection Surveillance Team. Nosocomial bloodstream infections in Finnish hospital during 1999-2000. Clin Infect Dis 2002; 35:14-19.
22. Michelim L, Lahude M, Araújo PR, Giovanaz DSH, Müller G, Delamare APL, et al. Echeverrigaray S. Pathogenicity factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* associated with nosocomial infections occurring in intensive Care units. Braz J Microbiol 2005; 36:17-23.
23. Aldea-Mansilla C, Viedma DG, Cercenado E, Martín-Rabadán P, Marín M, Bouza E. Comparison of phenotypic with genotypic procedures for confirmation of coagulase-negative *Staphylococcus* catheter-related bloodstream infections. J Clin Microbiol 2006; 44:3529-3532.
24. Schoenfelder SMK, Lange C, Eckart M, Hennig S, Kozytska S, Ziebuhr W. Success through diversity - How *Staphylococcus epidermidis* establishes as a nosocomial pathogen. Int J Med Microbiol 2010; 300:380-386.
25. Fredheim EGA, Klingenberg C, Rohde H, Frankenberger S, Gaustad P, Flægstad T, et al. Biofilm Formation by *Staphylococcus haemolyticus*. J Clin Microbiol 2009; 47:1172-1180.
26. D'Azevedo PA, Siquiera I, Gugel J, Antunes ALS, Secchi C, Pasternak J. Evaluation of the Automated System Vitek2 for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Brazilian Gram-Positive Cocci Strains. Braz J Infect Dis 2009; 13:107-110.
27. Agvald-Öhman C, Lund B, Edlund C. Multiresistant coagulase-negative staphylococci disseminate frequently between intubated patients in a multidisciplinary intensive care unit. Crit Care 2004; 8:42-47.
28. Picazzo JJ, Betriu C, Culebras E, Rodríguez-Avial I, Gómez M, López F, et al. Activity of daptomycin against staphylococci collected from bloodstream infections in Spanish medical centers. Diagn Microbiol Infect Dis 2009; 64:448-451.
29. Vincent J. Nosocomial infections in adult intensive-care units. Lancet 2003; 361:2068-2077.
30. Pottumarthy S, Fritsche TR, Jones RN. Evaluation of alternative disk diffusion methods for detecting mecA-mediated oxacillin resistance in an international collection of staphylococci: validation report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 51:57-62.
31. Skov R, Smyth R, Larsen AR, Frimodt-Møller N, Kahlmeter G. Evaluation of cefoxitin 5 and 10 microg discs for the detection of methicillin resistance in staphylococci. J Antimicrob Chemother 2005; 55:157-161.
32. Zhu LX, Zhang ZW, Wang C, Yang HW, Zhang Q, Cheng J. Evaluation of the CLSI cefoxitin 30-microg disk-diffusion method for detecting methicillin resistance in staphylococci. Clin Microbiol Infect 2006; 12:1039-1042.
33. Nunes APF, Teixeira LM, Iorio NLP, Bastos CCR, Fonseca LS, Souto-Padrón T, et al. Heterogeneous resistance to vancomycin in *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus warneri* clinical strains: characterisation of glycopeptide susceptibility profiles and cell wall thickening. Int J Antimicrob Agents 2006; 27:307-315.
34. Manfredi R, Sabbatani S. Novel pharmaceutical molecules against emerging resistant gram-positive cocci. Braz J Infect Dis 2010; 14:96-108.