

Epidemiologia e Susceptibilidade aos Antibióticos em Isolados de *S. aureus* Meticilina-Resistentes

*FRANCISCO FREITAS¹, JOSÉ MIGUEL RIBEIRO¹, CELESTE BENTO¹, MANUELA SILVA¹,
MÓNICA ALVES², JOÃO FERNANDES RIBEIRO³

¹Laboratório de Microbiologia, ²Laboratório de Bioquímica,

³Director de Serviço, Serviço de Patologia Clínica, Hospital S. Teotónio, Viseu

RESUMO

É sabido que num mesmo país a prevalência de *S. aureus* meticilina-resistentes (SAMR) varia substancialmente de um hospital para outro. De modo a compreender a epidemiologia e a resistência aos antibióticos dos isolados SAMR no Hospital S. Teotónio – Viseu, conduzimos um estudo retrospectivo (2000-2001) através da análise da base de dados do laboratório (MODULAB® IZASA), que permite obter dados demográficos acerca dos pacientes, e padrões de resistência dos isolados de *S. aureus*. A identificação das estirpes foi efectuada com o sistema Vitek® (bioMérieux, Marcy L'étoile, France) e galerias BBL® (Beckton Dickinson, Cockeysville, Maryland, USA). Para a susceptibilidade antimicrobiana recorreu-se ao sistema Vitek® e ao método de difusão de disco (Kirby-Bauer). Foram seguidas as *guidelines* interpretativas da NCCLS. Do total de 300 isolados de *S. aureus* estudados, 110 (37%) provieram de exsudados purulentos, 109 (36.1%) do tracto respiratório, 52 (17.3%) de sangue e 16 (5.3%) de pontas de catéter. A resistência global à meticilina foi de 46.7% (140/300). As amostras mais comuns a partir das quais se isolaram SAMR foram as secreções respiratórias (54.2%), seguidas pelos exsudatos purulentos (24.2%), hemoculturas (12.1%) e pontas de catéter (7.1%). Nos isolados invasivos a resistência à meticilina foi de 32.7%. As taxas de resistência dos SAMR a outros antibióticos foram as seguintes: 96.3% resistentes à ciprofloxacina, 92.7% à eritromicina, 91.7% à gentamicina, 86.3% à tetraciclina, 75% ao trimetoprim-sulfamethoxazole e 54.8% à clindamicina. A taxa de multiresistência foi de 87%. Os isolados SAMR exibem altos níveis de resistência à maioria dos antibióticos, excepto à teicoplanina e vancomicina, que continuam a ser as principais

armas terapêuticas nas infecções por SAMR, apesar do uso substancial de glicopéptidos ao longo de muitos anos. Concluímos que a prevalência de isolados SAMR é elevada (46.7%) no Hospital S. Teotónio, o que se correlaciona com um estudo anterior de hospitais portugueses (48-50%), e com resultados de países mediterrâneos como Espanha, Itália e França (30-50%). Contudo, contrasta fortemente com os países do norte da Europa como Alemanha, Suécia, Holanda e Dinamarca (<5%). Estes dados serão úteis para a nossa comissão de controlo da infecção.

Palavras chave: *S. aureus* • SAMR • epidemiologia • multiresistência

Aceite para publicação: 15 de Dezembro de 2005

ABSTRACT

It is well known that within a country methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) prevalence may vary substantially from one hospital to another. In order to better understand the epidemiology and antibiotic resistance of MRSA isolates in Hospital S. Teotónio – Viseu, we conducted a two-year retrospective study (2000-2001) by searching the MODULAB® (IZASA) database of our laboratory, which permits obtaining demographic data about patients, and resistance patterns of *S. aureus* isolates. Strains identification was assessed with Vitek System® (bioMérieux, Marcy L'étoile, France) and BBL® identification galleries (Beckton Dickinson, Cockeysville, Maryland, USA). Antimicrobial susceptibility testing was assessed with Vitek System® and Kirby-Bauer disk diffusion testing. NCCLS interpretative criteria for antimicrobial susceptibility testing were followed. From 300 *S. aureus* isolates recovered, 110 (37%) were from wound cultures, 109 (36.1%), 52 (17.3%), 16 (5.3%) from the respiratory tract, blood and catheter

*Correspondência:

Laboratório de Microbiologia, Hospital S. Teotónio, Viseu
Av. Rei D. Duarte, 3500 Viseu.
e-mail: francyske@portugallmail.pt

tips respectively. Overall, methicillin resistance was 46.7% (140/300). The commonest specimens from which MRSA isolates were recovered were respiratory secretions (54.2%), followed by wound cultures (24.2%), blood cultures (12.1%) and catheter tips (7.1%). Methicillin resistance was 32.7% in the invasive isolates. Resistance rates of MRSA to other antibiotics were as follows: 96.3% resistant to ciprofloxacin, 92.7% to erythromycin, 91.7% to gentamycin, 86.3% to tetracycline, 75% to trimethoprim-sulfamethoxazole and 54.8% to clindamycin. The majority of the strains were multidrug resistant (87%). MRSA isolates display high resistance rates to most antibiotics, except to teicoplanin and vancomycin, which stills the mainstay of antimicrobial

therapy of MRSA despite substantial glycopeptide use over many years. We conclude that MRSA prevalence is high (46.7%) in Hospital S. Teotónio, which correlates well with a previous study from Portuguese hospitals (48-50%), and with results from Mediterranean countries such as Spain, Italy and France (30-50%). However, it contrasts with Northern European countries like Germany, Sweden, The Netherlands and Denmark (<5%). These data will be useful for our infection control commission.

Key words: *S. aureus* • MRSA • epidemiology • multidrug resistance

Accepted for publication: 15 December 2005

INTRODUÇÃO

O *S. aureus* é uma bactéria que está muito bem adaptada ao corpo humano, e além de colonizar é capaz de se transmitir de pessoa para pessoa, causando infecções graves como pneumonia, infecções da pele e tecidos moles, endocardite, bacteriemia e sepsis, infecções dos ossos e articulações (1-5).

No entanto, são as estirpes de *S. aureus* metilina-resistentes (SAMR), inicialmente identificadas no Reino Unido em 1961 (6), que maiores problemas clínicos implicam. A sua principal característica é possuírem um determinante genético de resistência *mecA*, que codifica a produção de um componente da membrana citoplasmática designado PBP2a que não é susceptível de modificação pelos antibióticos β -lactâmicos (7). Estas estirpes são responsáveis por grande parte das infecções nosocomiais (8, 9), por surtos cada vez mais frequentes (10-12), e por estadias hospitalares mais prolongadas, com inerente aumento de custos (13, 14). Estudos recentes confirmaram que a infecção por SAMR está associada a taxas de mortalidade significativamente mais elevadas que infecções por *S. aureus* metilina-sensíveis (SAMS), sendo a resistência à metilina um factor de risco independente de morte (15-18).

Além destes factos, as estirpes SAMR demonstram multirresistência, ou seja, além da resistência à metilina, frequentemente são resistentes a várias classes de antibióticos como os aminoglicosídeos, tetraciclina, quinolonas, macrólidos, lincosamidas e sulfonamidas, sendo susceptíveis apenas aos glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina), linezolid

e à combinação quinupristina-dalfopristina, o que nem sempre é garantia de sucesso terapêutico (5, 19-21).

O problema não se afigura igual em toda a Europa, parecendo haver uma divisão entre Norte e Sul da Europa, verificando-se taxas de prevalência de SAMR entre 30-50% em Portugal, Espanha, Itália, Grécia e Turquia, e <5% na Alemanha, Suíça, Holanda e Escandinávia (20, 22, 23). Na região da Ásia-Pacífico o problema é ainda mais grave registando-se em alguns países prevalências entre 60-75% (19, 21). Contudo, num mesmo país a prevalência de SAMR pode variar substancialmente de um hospital para outro e mesmo entre departamentos clínicos (24).

Foi nosso objectivo efectuar um estudo epidemiológico e de susceptibilidade aos antibióticos das estirpes SAMR isoladas entre 2000 e 2001, e determinar a sua prevalência no Hospital S. Teotónio – Viseu.

MATERIAL E MÉTODOS

Definições do estudo

Conduzimos um estudo descritivo e retrospectivo através da análise da base de dados do Serviço de Patologia Clínica (MODULAB® IZASA), que nos permitiu obter dados demográficos dos pacientes, tipo de amostra e padrões de susceptibilidade dos isolados de *S. aureus* a estudar relativos ao período 2000-2001.

Alguns pacientes tiveram SAMR em mais do que um tipo de amostra enviada ao laboratório, por isso cada local de infecção ou colonização foi contado como sendo um caso. Após exclusão de duplicados obtivemos 300 isolados para estudo.

Isolados de SAMR com fenótipos de resistência a três ou

mais classes de antibióticos além dos β -lactâmicos são considerados multirresistentes (19).

Estudos microbiológicos

A identificação bioquímica dos isolados foi efectuada com recurso ao sistema Vitek® (bioMérieux, Marcy L'Étoile, France) e com galerias BBL® (Beckton Dickinson, Cockeysville, Maryland, USA). No estudo da susceptibilidade antimicrobiana recorreu-se ao sistema Vitek® (bioMérieux, Marcy L'Étoile, France) e ao método de difusão de disco (Kirby-Bauer) em meio Mueller-Hinton® agar (bioMérieux, Marcy L'Étoile, France) com incubação de 24h a 35°C. Foram testados os seguintes antibióticos: oxacilina (meticilina), eritromicina, gentamicina, tetraciclina, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacina, clindamicina, teicoplanina e vancomicina. Para a interpretação dos resultados foram seguidas as *guidelines* interpretativas do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (25).

Tratamento estatístico

Foi utilizada a estatística descritiva para o cálculo de frequências absolutas e relativas dos vários parâmetros epidemiológicos a estudar.

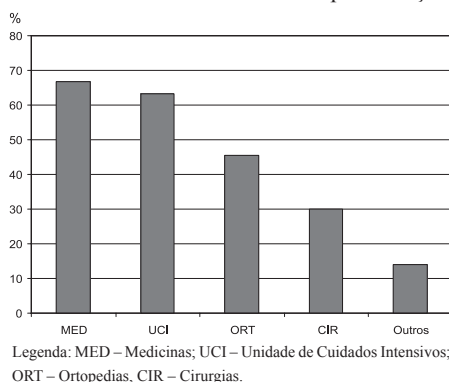
RESULTADOS

Do total de 300 isolados de *S. aureus* estudados entre 2000-2001, 110 (37%) provieram de exsudados purulentos, 109 (36.1%) do tracto respiratório, 52 (17.3%) de sangue e 16 (5.3%) de catéteres.

Globalmente, a prevalência de SAMR no Hospital S. Teotónio foi de 46.7% (140/300) entre todos os serviços, no entanto, isoladamente as medicinas com 66.7% (72/108), e a unidade de cuidados intensivos (UCI) com 63.3% (31/49) apresentaram as taxas mais elevadas (Fig. 1).

As amostras mais comuns a partir das quais se isolaram SAMR foram as secreções respiratórias com

Fig. 1 – Prevalência de isolados SAMR por serviço clínico.



54.2% (76/140), seguidas pelos exsudados purulentos (24.2%), hemoculturas (12.1%) e pontas de catéter (7.1%).

Quanto à resistência à meticilina por tipo de amostra, verificou-se ser de 78.1% (57/73) em isolados provenientes de expectoração, sendo de 30.9% (34/110) nos isolados de exsudados purulentos (Fig. 2).

O estudo da susceptibilidade dos SAMR aos restantes antibióticos mostrou que 96.3% foram resistentes à ciprofloxacina, 92.7% à eritromicina, 91.7% à gentamicina, 86.3% à tetraciclina, 75% ao trimethoprim-sulfamethoxazole e 54.8% à clindamicina. Na UCI todos os SAMR são resistentes à gentamicina, eritromicina e ciprofloxacina. A resistência à clindamicina foi a mais baixa (54.8%) para os antibióticos testados, mantendo um perfil semelhante nos diferentes serviços. A resistência ao trimethoprim-sulfamethoxazole foi a que mais variou entre os serviços, sendo mais baixa nos isolados provenientes da ortopedia (40%) (Fig. 3). Não se verificaram resistências à teicoplanina e à vancomicina.

Após a análise dos fenótipos de resistência dos SAMR verificou-se que 87% (122/140) eram multirresistentes (Tabela I), predominando os isolados com resistência simultânea à eritromicina, gentamicina, tetraciclina, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacina e clindamicina (33%).

DISCUSSÃO

Estudos de vigilância recentes têm demonstrado o aumento da prevalência de *S. aureus* meticilina-resistentes (SAMR) em todo o mundo, e uma variação considerável entre hospitais do mesmo país (3, 4, 20, 26-28), e por isso foi objectivo deste estudo enquadrar o Hospital S. Teotónio no âmbito nacional e internacional.

Fig. 2 – Susceptibilidade à meticilina por tipo de amostra.

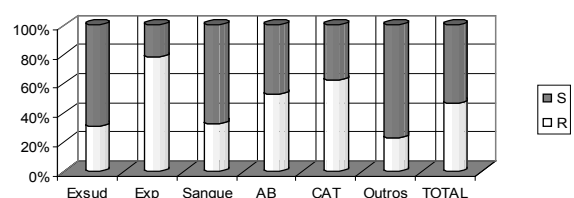
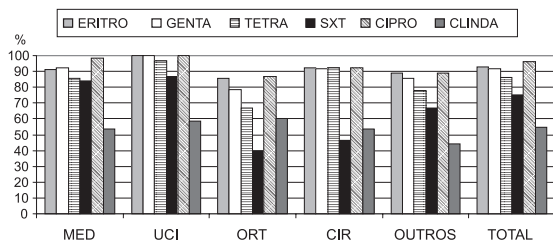


Fig. 3 – Padrões de resistência antimicrobiana dos SAMR por serviço clínico (%).

Legenda: MED – Medicinas; UCI – Unidade de Cuidados Intensivos; ORT – Ortopédias, CIR – Cirurgias.

Do nosso conhecimento este é o primeiro estudo sobre a problemática das estirpes SAMR envolvendo apenas o Hospital S. Teotónio, e como esperado a prevalência é elevada (46.7%). Relativamente ao âmbito nacional, verificamos que num estudo multicêntrico publicado em 1998 (29) e envolvendo 10 hospitais portugueses, a prevalência de SAMR encontrada foi de 48.2%. Em 2001 é reportada uma prevalência de 54% no Hospital da Universidade de Coimbra, participante do estudo multicêntrico SENTRY na Europa (20). Estes dados apesar de ligeiramente mais elevados são consistentes com a prevalência por nós encontrada, não se verificando variação significativa.

Relativamente aos isolados invasivos, a prevalência de SAMR do nosso estudo (32.7%), é inferior à reportada em 1994 por Melo-Cristino *et al.* (49,2%) (30). No relatório de 2002 do *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS), que efectua a vigilância da susceptibilidade antimicrobiana em estirpes invasivas, foi reportada uma prevalência de 35% nas estirpes recolhidas por 16 laboratórios portugueses participantes (5), e que é comparável ao nosso estudo.

Comparativamente com os estudos referidos na Tabela II, verificamos que a resistência à meticilina em amostras sanguíneas e respiratórias é superior no nosso estudo, registando-se valores semelhantes em relação aos exsudados purulentos. De referir no nosso

Tabela I – Fenótipos de resistência predominantes nas estirpes SAMR.

Fenótipo	n	%
R – 4 ou + classes	122	87
S – 4 ou + classes	24	17
R – EGTSXTCIPC	46	33
R – EGTSXTCIP S – C	36	26

Legenda: R – Resistente; S – Sensível; E – Eritromicina; G – Gentamicina; T – Tetraciclina; SXT – trimetoprim-sulfametoxazole; CIP – Ciprofloxacina; C – Clindamicina.

estudo a ausência de estirpes SAMR isoladas a partir de amostras urinárias, e que foi frequente nos estudos analisados (20, 22, 31, 32).

Quanto à distribuição por serviços, a elevada prevalência de SAMR nas medicinas (66.7%) e na UCI (63.3%), reflecte o tamanho relativo de algumas especialidades como a medicina interna, e também o facto de alguns doentes especialmente os severamente doentes terem mais probabilidade de serem colonizados ou infectados devido à baixa imunidade, e por serem alvo de manipulação frequente com dispositivos médicos. Comparando com outros estudos, verificamos que a maior prevalência é frequentemente encontrada nas UCI (20, 33, 34). O que contrasta no nosso estudo é o facto do serviço de cirurgia ocupar a quarta posição na taxa de prevalência, uma vez que alguns estudos reportam este serviço na segunda posição (22, 33). Quanto à prevalência no serviço de ortopedia (45.5%), constatamos ser difícil compará-la, uma vez que não existem publicados estudos de prevalência especificamente dedicados a serviços de ortopedia, mas dedicados a patologias ortopédicas. Outra explicação poderá ser o facto de o serviço de ortopedia ser agregado a serviços cirúrgicos na apresentação dos resultados.

A elevada resistência verificada aos restantes antibióticos estudados é característica das estirpes SAMR, sublinhando-se no nosso estudo a menor resistência à clindamicina (54.8%). Além disso, a

Tabela II – Dados de estudos anteriores sobre a distribuição de SAMR por tipo de amostra.

Referência	Ano	País	Exp/AB	Sangue	Exsudados	Urina	Outros
[22]	1997	Suíça	11%	11%	35%	25%	13%
[20]	1999	Europa	34,4%	23,8%	22,4%	28,3%	—
[31]	1999	Canadá	24%	13%	48%	9%	6%
[32]	2001	Espanha	36,5%	12,9%	32,3%	4,1%	11,4%

maioria dos SAMR são multirresistentes (87%) como previamente referenciado na literatura (19-21, 35).

Embora não se tenha registado resistência à vancomicina e teicoplanina, as drogas de escolha para o tratamento de infecções por SAMR, aconselha-se uma vigilância contínua à emergência de estirpes com susceptibilidade reduzida à vancomicina largamente descritas (36-42), e que frequentemente implicam insucesso terapêutico (42-47).

O SAMR é um colonizador habitual da pele e das narinas e menos frequentemente causa infecção, por isso a colonização deve ser contida por medidas de controlo da infecção (48). Correntemente, a colonização/infecção por SAMR ocorre em hospitais e em mais baixa escala na comunidade, por isso doentes colonizados em hospitais quando recebem alta poderão introduzir estirpes na comunidade colonizando/infectando doentes não hospitalizados.

Estes aquando de uma admissão hospitalar fecham o ciclo introduzindo a estirpe novamente (49-51).

Portanto, instituições como o Hospital S. Teotónio onde a prevalência de SAMR é elevada devem considerar o *screening* de potenciais portadores de SAMR no momento da admissão como recomendado pelas *guidelines* internacionais (52, 53). Esta é a única oportunidade de implementar as precauções de isolamento que reduzirão a frequência de transmissões nosocomiais, juntamente com o cumprimento das medidas de higiene standard, como a desinfecção das mãos (54-57).

Futuras investigações deverão incidir sobre o estudo da incidência das infecções nosocomiais provocadas por SAMR no Hospital S. Teotónio, e também no despiste de portadores assintomáticos entre o pessoal de saúde, um dos veículos da disseminação das estirpes SAMR.

REFERÊNCIAS

1. Lowy FD. Is *Staphylococcus aureus* an intracellular pathogen? *Trends Microbiol* 2000; **8**:341-3.
2. Doern GV, Jones RN, Pfaller MA, Kugler KC, Beach ML. Bacterial pathogens isolated from patients with skin and soft tissue infections: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 1997). SENTRY Study Group (North America). *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; **34**:65-72.
3. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Kugler KC, Beach ML. Survey of bloodstream infections attributable to gram-positive cocci: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and Latin America from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. SENTRY Participants Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; **33**:283-97.
4. Sader HS, Jones RN, Gales AC, Winokur P, Kugler KC, Pfaller MA, *et al*. Antimicrobial susceptibility patterns for pathogens isolated from patients in Latin American medical centers with a diagnosis of pneumonia: analysis of results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997). SENTRY Latin America Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; **32**:289-301.
5. EARSS management team, members of Advisory Board and national representatives of EARSS. EARSS Annual Report 2002. ISBN 90-6960-107-9.
6. Jevons MP. "Celbenin"-resistant staphylococci. *Br Med J* 1961; **1**:124-5.
7. Fuda C, Suvorov M, Vakulenko SB, Mobashery S. The basis for resistance to beta-lactam antibiotics by penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem* 2004; **279**:40802-6.
8. Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis* 1999; **29**:239-44.
9. Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1993; **6**:428-42.
10. Marshall SA, Wilke WW, Pfaller MA, Jones RN. *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from bloodstream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (*mecA*) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; **30**:205-14.
11. Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP, Banerjee S, Henderson TS, Tolson JS, *et al*. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992; **13**:582-6.
12. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Kugler K. Bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infection: frequencies of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial surveillance program (United States and Canada, 1997). *Antimicrob Agents Chemother* 1998; **42**:1762-70.
13. Abramson MA, Sexton DJ. Nosocomial methicillin-

- resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* primary bacteremia: at what costs? *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; **20**:408-11.
14. Wakefield DS, Helms CM, Massanari RM, Mori M, Pfaller M. Cost of nosocomial infection: relative contributions of laboratory, antibiotic, and per diem costs in serious *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Infect Control* 1988; **16**:185-92.
 15. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2003; **36**:53-9.
 16. Romero-Vivas J, Rubio M, Fernandez C, Picazo JJ. Mortality associated with nosocomial bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 1995; **21**:1417-23.
 17. Conterno LO, Wey SB, Castelo A. Risk factors for mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; **19**:32-7.
 18. Whitby M, McLaws ML, Berry G. Risk of death from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a meta-analysis. *Med J Aust* 2001; **175**:264-7.
 19. Bell JM, Turnidge JD; SENTRY APAC. High prevalence of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitalized patients in Asia-Pacific and South Africa: results from SENTRY antimicrobial surveillance program, 1998-1999. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**:879-81.
 20. Fluit AC, Wielders CL, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study. *J Clin Microbiol* 2001; **39**:3727-32.
 21. Kim HB, Jang HC, Nam HJ, Lee YS, Kim BS, Park WB, *et al.* In vitro activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**:1124-7.
 22. Blanc DS, Pittet D, Ruef C, Widmer AF, Mühlemann K, Pétignat C, *et al.* Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: results of a nation-wide survey in Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2002; **132**:223-9.
 23. Kotilainen P, Routamaa M, Peltonen R, Oksi J, Rintala E, Meurman O, *et al.* Elimination of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a university hospital and district institutions, Finland. *Emerg Infect Dis* 2003; **9**:169-75.
 24. Struelens MJ, Mertens R. National survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Belgian hospitals: detection methods, prevalence trends and infection control measures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; **13**:56-63.
 25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 7th ed. Approved standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
 26. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, *et al.* Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001; **32 Suppl 2**:S114-32.
 27. Santos Sanches I, Mato R, de Lencastre H, Tomasz A, *et al.* Patterns of multidrug resistance among methicillin-resistant hospital isolates of coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci collected in the international multicenter study RESIST in 1997 and 1998. *Microb Drug Resist* 2000; **6**:199-211.
 28. Witte W. Antibiotic resistance in gram-positive bacteria: epidemiological aspects. *J Antimicrob Chemother* 1999; **44 Suppl A**:1-9.
 29. Melo-Cristino J. Antimicrobial resistance in staphylococci and enterococci in 10 Portuguese hospitals in 1996 and 1997. POSGAR. Portuguese Study Group of Antimicrobial Resistance. *Microb Drug Resist* 1998; **4**:319-24.
 30. Melo-Cristino J, Alves AF, Calado E, Costa D, Costa MN, Ferro L, *et al.* Microorganismos isolados em laboratórios hospitalares portugueses. *Rev Portuguesa Doenç Infec* 1994; **17**:147-54.
 31. Simor AE, Ofner-Agostini M, Bryce E, Green K, McGeer A, Mulvey M, *et al.* The evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian hospitals: 5 years of national surveillance. *CMAJ* 2001; **165**:21-6.
 32. Franco-Alvarez de Luna F, Ibarra A, Tejero R, Rodriguez F, Solis F, Casal M. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from clinical samples in Cordoba (Spain). *Rev Esp Quimioter* 2003; **16**:304-7.
 33. Schmitz FJ, MacKenzie CR, Geisel R, Wagner S, Idel H, Verhoef J, Hadding U, *et al.* Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in the greater Dusseldorf area. *Eur J Epidemiol* 1997; **13**:709-17.
 34. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, *et al.* The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. *JAMA* 1995; **274**:639-44.
 35. Schmitz FJ, Krey A, Geisel R, Verhoef J, Heinz HP, Fluit AC. Susceptibility of 302 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from 20 European university hospitals to vancomycin and alternative

- antistaphylococcal compounds. SENTRY Participants Group. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; **18**:528-30.
36. Guerin F, Buu-Hoi A, Mainardi JL, Kac G, Colardelle N, Vaupre S, *et al*. Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to glycopeptides in a Parisian hospital. *Clin Microbiol* 2000; **38**:2985-8.
37. Ariza J, Pujol M, Cabo J, Pena C, Fernandez N, Linares J, *et al*. Vancomycin in surgical infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin. *Lancet*. 1999; **353**:1587-8.
38. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC, *et al*. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997; **40**:135-6.
39. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, *et al*. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997; **350**:1670-3.
40. Ploy MC, Grelaud C, Martin C, de Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. *Lancet* 1998; **351**:1212.
41. Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *N Engl J Med* 1999; **340**:517-23.
42. Tenover FC, Biddle JW, Lancaster MV. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2001; **7**:327-32.
43. Ward PB, Johnson PD, Grabsch EA, Mayall BC, Grayson ML. Treatment failure due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with reduced susceptibility to vancomycin. *Med J Aust* 2001; **175**:480-3.
44. Linares J. The VISA/GISA problem: therapeutic implications. *Clin Microbiol Infect* 2001; **7 Suppl 4**:8-15.
45. Geisel R, Schmitz FJ, Thomas L, Berns G, Zetsche O, Ulrich B, *et al*. Emergence of heterogeneous intermediate vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates in the Dusseldorf area. *J Antimicrob Chemother* 1999; **43**:846-8.
46. Levine DP, Fromm BS, Reddy BR. Slow response to vancomycin or vancomycin plus rifampin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Ann Intern Med* 1991; **115**:674-80.
47. Small PM, Chambers HF. Vancomycin for *Staphylococcus aureus* endocarditis in intravenous drug users. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; **34**:1227-31.
48. Cunha BA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: clinical manifestations and antimicrobial therapy. *Clin Microbiol Infect* 2005; **11 Suppl 4**:33-42.
49. Ayliffe GA. The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 1997; **24 Suppl 1**:S74-9.
50. Cafferkey MT, ed. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. New York: Marcel Dekker, 1992: 1-202
51. Solberg CO. Spread of *Staphylococcus aureus* in hospitals: causes and prevention. *Scand J Infect Dis* 2000; **32**:587-95.
52. Working Party Report. Revised guidelines for the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in hospitals. *J Hosp Infect* 1998; **39**:253-290.
53. Kommission für Krakenhaushygiene und Kontrolle von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen (MRSA) in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 1999; **42**:954-8.
54. Wernitz MH, Swidsinski S, Weist K, Sohr D, Witte W, Franke KP, *et al*. Effectiveness of a hospital-wide selective screening programme for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriers at hospital admission to prevent hospital-acquired MRSA infections. *Clin Microbiol Infect* 2005; **11**:457-65.
55. Troillet N, Carmeli Y, Samore MH, Dakos J, Eichelberger K, DeGirolami PC, *et al*. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; **19**:181-5.
56. Eveillard M, Ernst C, Cuviller S, Lescure FX, Malpoux M, Defouilloy I, *et al*. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage at the time of admission in two acute geriatric wards. *J Hosp Infect* 2002; **50**:122-6.
57. Papi G, Louie M, Tralla A, Johnson C, Collins V, Simor AE. Screening high-risk patients for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on admission to the hospital: is it cost effective? *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; **20**:473-7.