



**Sónia Raquel Costa  
Ramos**

**Evaluation of a vancomycin MIC creep in patients  
with MRSA: a systematic review**

**Avaliação do fenómeno “MIC creep” para  
vancomicina em pacientes com MRSA: revisão  
sistemática**





**Sónia Raquel Costa  
Ramos**

**Evaluation of a vancomycin MIC creep in patients  
with MRSA: a sistematic review**

**Avaliação do fenómeno “MIC creep” para  
vancomicina em pacientes com MRSA: revisão  
sistemática**

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biomedicina Molecular, realizada sob a orientação científica do Doutor Bruno Miguel Alves Fernandes do Gago, Professor Auxiliar Convidado do Departamento de Ciências Médicas da Universidade de Aveiro e co-orientação da Professora Doutora Vera Mónica Almeida Afreixo, Professora Auxiliar do Departamento de Matemática da Universidade de Aveiro



“A nossa maior fraqueza está em desistir. O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez.”

Thomas Edison



## **o júri**

presidente

**Professora Doutora Ana Margarida Domingos Tavares de Sousa**  
Professora Auxiliar Convidada do Departamento de Ciências Médicas da Universidade de Aveiro

**Doutora Raquel Catarina Saraiva Diaz**  
Técnica de Análises Clínicas e de Saúde Pública do Centro Hospitalar do Baixo Vouga, EPE

**Professor Doutor Bruno Miguel Alves Fernandes do Gago**  
Professor Auxiliar Convidado do Departamento de Ciências Médicas da Universidade de Aveiro





## **agradecimentos**

Ao meu orientador, Professor Bruno Gago e à minha co-orientadora, Professora Vera Afreixo agradeço por toda a paciência, disponibilidade, compreensão e apoio. Apesar de não ter sido um caminho fácil, sempre me incentivaram a continuar e nunca desistir deste desafio. Obrigada por todos os ensinamentos e conselhos que me foram transmitidos e peço desculpa por todas as dores de cabeça.

Aos meus pais, agradeço por toda a insistência e dedicação, por me terem incentivado a continuar e sobretudo por terem acreditado que eu era capaz. Sem o apoio deles, isto não seria possível.

À minha irmã, agradeço por todos os conselhos e por estar sempre disponível quando eu mais precisei dela, apesar da distância que nos separava.

Ao meu namorado, obrigada por nunca me deixares sozinha nesta caminhada. Foste um grande apoio e agradeço por todo o amor, paciência e pelo carinho que me deste quando eu desanimei e estive perto de desistir.

Agradeço também a todos os meus amigos, que de alguma forma me acompanharam nesta etapa. Um agradecimento especial à Marlene por me ter apoiado neste percurso académico, por me ter demonstrado o verdadeiro valor da amizade e nunca me ter deixado desistir quando tudo parecia perdido.

Por último, mas não menos importante, um agradecimento enorme ao Marco Ramos, meu psicólogo clínico que tornou esta etapa muito mais fácil e permitiu que este objetivo fosse concretizado.



## palavras-chave

*Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA); vancomicina; “MIC Creep”

## resumo

O *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) é uma das bactérias mais identificadas em hospitais de todo o mundo. Este microorganismo causa graves infeções hospitalares, mas também infeções adquiridas na comunidade. Apesar da incidência de infeções estar a diminuir nos últimos anos, o MRSA continua a ser uma prioridade de saúde pública na Europa.

Durante mais de quatro décadas, a vancomicina tem sido o antibiótico de eleição no tratamento de infeções por MRSA. No entanto, a sua eficácia tem sido questionada devido ao surgimento de isolados de MRSA com suscetibilidade reduzida à vancomicina e ao possível fenómeno de “MIC Creep”. O fenómeno de “MIC creep” corresponde a um aumento lento e gradual dos valores de concentração mínima inibitória (CMI) de vancomicina, dentro do intervalo de suscetibilidade, ao longo do tempo.

Esta dissertação consiste numa revisão sistemática da literatura e pretende avaliar a existência do fenómeno de “MIC creep” para vancomicina em pacientes com infeções provocadas por MRSA e verificar se este fenómeno corresponde a uma tendência global ou localizada apenas em determinadas regiões.

Esta revisão sistemática incluiu 42 estudos para análise, tendo sido verificada a existência do fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina em 12 estudos. O fenómeno apenas foi observado em alguns países, maioritariamente pertencentes à Ásia e à Europa, parecendo tratar-se de um fenómeno que ocorre a nível local/regional.

O facto do fenómeno de “MIC Creep” ser observado em alguns locais e noutros não deve-se a vários fatores, tais como o período de estudo, a localização geográfica, o tamanho da amostra de isolados, o tipo de isolados analisados, a sua fonte clínica e os métodos utilizados para determinar os valores de CMI de vancomicina. Existe de facto uma grande heterogeneidade dos estudos realizados até à data, o que também dificulta uma comparação direta entre estudos.

Todas as instituições médicas deveriam monitorizar os seus valores de CMI de vancomicina para isolados de MRSA. É importante o uso de métodos precisos e sensíveis para a determinação desses valores, capazes de captar pequenas mudanças graduais, pois estas podem ter significado clínico ao longo do tempo e podem orientar a comunidade médica na tomada de decisão clínica e ajudar a prever tendências locais futuras.



**keywords**

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA); vancomycin; "MIC Creep"

**abstract**

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most common bacteria in hospitals around the world. This microorganism causes serious healthcare-associated infections, but also community-acquired infections. Although the incidence of infections is decreasing in recent years, MRSA remains a public health priority in Europe.

During more than four decades, vancomycin has been the antibiotic of choice in the treatment of MRSA infections. However, its efficacy has been questioned due to the emergence of MRSA isolates with reduced susceptibility to vancomycin and possible phenomenon of "MIC Creep". The phenomenon of "MIC creep" corresponds to a slow and gradual increase in vancomycin minimum inhibitory concentration values, within the susceptibility range, over time.

This dissertation is a systematic review of the literature and aims to evaluate the existence of the "MIC creep" phenomenon for vancomycin in patients with MRSA infections and to verify whether this phenomenon corresponds to an overall trend or localized only in certain regions.

This systematic review included 42 studies for analysis and 12 of them had reported the existence of MIC Creep phenomenon for vancomycin. MIC Creep has only been observed in some countries, most of which belong to Asia and Europe, seeming to be a phenomenon occurring at local/regional level.

MIC Creep phenomenon is observed in some places but not in others. It is due to several factors, such as the study period, geographic location, sample size of isolates, type of isolates analyzed, its clinical source and methods used to determine vancomycin MIC values. There is a great heterogeneity in the studies carried out to date, which also makes it difficult to compare studies directly.

All medical institutions should monitor their vancomycin MIC values for MRSA isolates. It is important to use accurate and sensitive methods for the determination of MIC values, capable of capturing small gradual changes, since they may have clinical significance over time and can guide medical community in clinical decision and help predict future local trends.



## Índice

Índice .....	i
Lista de Siglas e Abreviaturas.....	iii
1. Introdução.....	1
1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	1
1.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA).....	2
1.2 Antibióticos.....	7
1.2.1 Vancomicina.....	8
1.2.1.1 Resistência à vancomicina .....	9
1.2.1.2 Testes de suscetibilidade à vancomicina .....	12
1.2.1.3 “MIC Creep” para Vancomicina .....	14
2. Objetivos.....	19
3. Metodologia .....	23
3.1. Tipo de estudo .....	23
3.2. Questões de investigação .....	24
3.3. Critérios de elegibilidade .....	24
3.3.1. Critérios de inclusão .....	24
3.3.2. Critérios de exclusão .....	24
3.4. Estratégias para a localização dos estudos .....	25
3.5. Seleção e análise dos estudos.....	25
4. Resultados.....	29
4.1 Distribuição temporal e geográfica dos estudos .....	29
4.2 Descrição dos estudos .....	30
5. Discussão .....	73
6. Considerações finais .....	79
7. Referências Bibliográficas .....	81





## Lista de Siglas e Abreviaturas

BMD – Microdiluição em meio líquido

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

CA-MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à metilina associado à comunidade

CMI – Concentração Mínima Inibitória

CMI<sub>50/90</sub> – Concentração mínima necessária para inibir o crescimento de 50% e 90% dos organismos, respetivamente

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EARSS – European Antimicrobial Resistance Surveillance System

EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GM – Média geométrica

GISA – *Staphylococcus aureus* com resistência intermédia a glicopeptídeos

GRSA – *Staphylococcus aureus* resistente a glicopeptídeos

HA-MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à metilina associado ao meio hospitalar

hGISA – *Staphylococcus aureus* com resistência heterogénea a glicopeptídeos

hVISA – *Staphylococcus aureus* com resistência heterogénea à vancomicina

LA-MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à metilina associado à pecuária

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à metilina

MRSE – *Staphylococcus epidermidis* resistente à metilina

MSSA – *Staphylococcus aureus* suscetível à metilina

PBP – Penicillin-Binding Protein

PBP2a – Penicillin-Binding Protein 2a

PVL – Panton Valentine Leukocidin

RNA – Ácido Ribonucleico

*S. aureus* – *Staphylococcus aureus*

SCCmec – Staphylococcal Cassette Chromosome

TSN – The Surveillance Network

VISA – *Staphylococcus aureus* com resistência intermédia à vancomicina

VRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina



# Introdução

---



## 1. Introdução

### 1.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva, catalase-positiva, imóvel, aeróbia e anaeróbia, que pode ser encontrada como microorganismo comensal e patogénico, em humanos <sup>1</sup>.

O seu pH ótimo de crescimento situa-se entre 6 e 7, consegue desenvolver-se num intervalo de temperatura entre 15°C a 45°C e é um microorganismo halotolerante, uma vez que tolera concentrações significativas de cloreto de sódio. Quando mantido em cultura, em meio de agarose, forma colónias com uma coloração dourada, fator este responsável pelo termo latino *aureus* <sup>2</sup>.



Fig 1.1. Morfologia do *Staphylococcus aureus*. Adaptada de <sup>3</sup>.

As fossas nasais são o principal nicho ecológico para a colonização de *S. aureus*. Contudo, o *S. aureus* pode ser encontrado noutros locais, tais como garganta, axilas, reto, virilha ou períneo e, frequentemente, coloniza mais do que um local. Todos estes locais de colonização podem constituir um reservatório para infeções futuras <sup>1,4</sup>.

As taxas de colonização na população adulta variam de 20% a 50%, podendo os indivíduos ser portadores persistentes, portadores intermitentes ou não portadores <sup>1,4,5</sup>. Os portadores intermitentes podem ser colonizados por diferentes estirpes por curtos períodos de tempo, enquanto que os portadores persistentes são normalmente colonizados por uma única estirpe de *S. aureus* e possuem uma maior quantidade desta bactéria no respetivo reservatório, apresentando um maior risco de desenvolver infeções <sup>6</sup>.

O *S. aureus* é um dos microorganismos patogénicos mais comuns que leva a infeções graves, tais como infeções da pele e dos tecidos moles, pneumonia, endocardite, infeções da corrente sanguínea e ainda infeções do trato genital, articulares, respiratórias e gastrointestinais. Geralmente, esta bactéria causa infeções hospitalares e infeções adquiridas na comunidade e é uma das principais causas de sepsis em todo o mundo <sup>7-11</sup>.

Na Europa, o *S. aureus* é um dos organismos mais comuns causadores de bacteriemia<sup>8</sup>. Em 2005, de acordo com a base de dados da TSN (The Surveillance Network), o *Staphylococcus aureus* foi o organismo mais prevalente (18,7%) isolado em pacientes internados e o segundo mais prevalente (14,7%) em pacientes externos <sup>12</sup>.

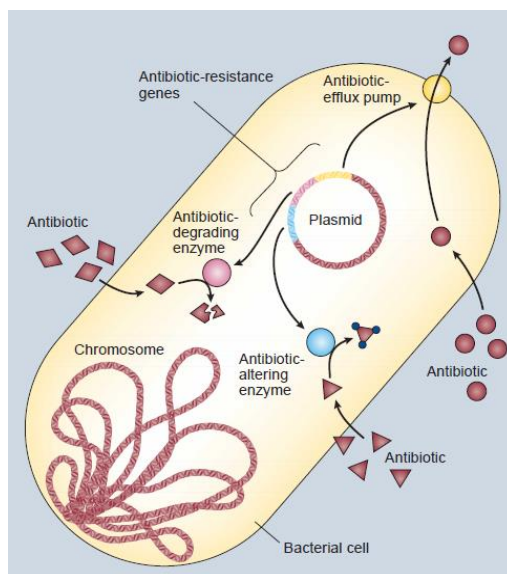
O sucesso epidemiológico do *S. aureus* como agente patogénico está associado ao facto de possuir um número impressionante de fatores de virulência, tais como toxinas, proteínas de adesão ao tecido do hospedeiro, formação de biofilmes e produção de enzimas hidrolíticas; mas também se deve à sua extraordinária capacidade de adaptação, sobrevivência e persistência sob condições bastante adversas <sup>13-15</sup>.

### **1.1.1 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)**

A resistência antimicrobiana surge quando microorganismos (como bactérias, fungos, vírus e parasitas) se modificam quando são expostos a antimicrobianos (como antibióticos, antifúngicos, antivirais, etc). Quando os microorganismos desenvolvem resistência a vários antibióticos são geralmente designados por superbactérias <sup>16</sup>.

As bactérias podem ser intrinsecamente resistentes a certas substâncias ou ultrapassar a suscetibilidade por adaptação genética <sup>17</sup>. O desenvolvimento de resistência antimicrobiana ocorre naturalmente, ao longo do tempo, através de mutações genéticas ou pode ocorrer pela aquisição de genes de resistência exógenos de elementos genéticos móveis que podem ser transferidos horizontalmente entre bactérias, tais como bacteriófagos, cassetes cromossómicas, plasmídeos e transposões <sup>18,19</sup>.

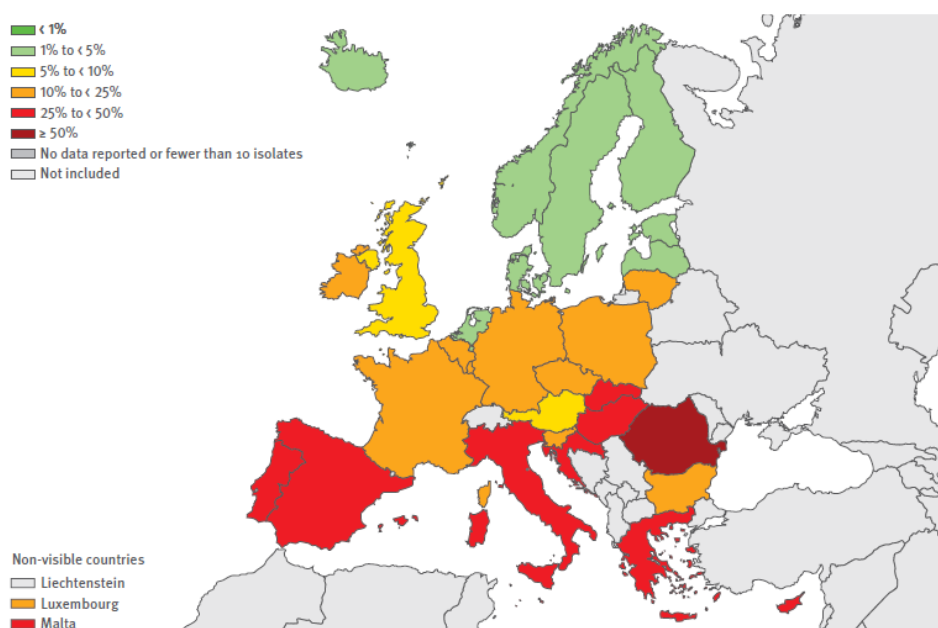
As bactérias podem adquirir múltiplos mecanismos de resistência e tornar-se resistentes a vários agentes antimicrobianos, o que é particularmente problemático, uma vez que pode limitar as alternativas de tratamento disponíveis para a infeção <sup>18</sup>. Os mecanismos de resistência podem ser direcionados ao antibiótico em si, através de enzimas que degradam os antibióticos e de enzimas que alteram a estrutura do antibiótico ou podem atuar na forma como o antibiótico é transportado, através de bombas de efluxo ativo (Figura 1.2).



**Figura 1.2.** Mecanismos de resistência antimicrobiana. Adaptado de <sup>19</sup>.

Atualmente, a bactéria multirresistente mais comum na Europa é o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), que é resistente à ação da meticilina e de outros antibióticos beta-lactâmicos <sup>17</sup>. A meticilina foi introduzida em 1959 na Europa, mas cerca de 2 anos mais tarde, em 1961, foram registados os primeiros casos de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) em Londres, seguindo-se outros países da Europa, Japão e Austrália <sup>20,21</sup>.

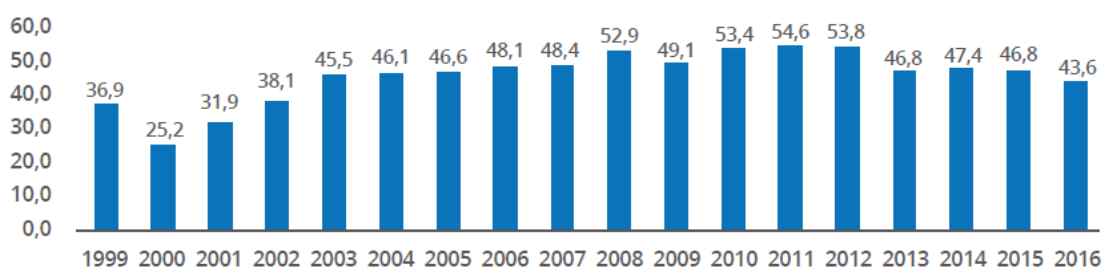
Na Europa, em 2016 existiam grandes diferenças nas percentagens de isolados de MRSA, variando entre 1,2% (Holanda e Noruega) e 50,5 % (Roménia) <sup>18</sup>.



**Figura 1.3.** Distribuição da percentagem de isolados de *S. aureus* resistente à meticilina nos países da União Europeia e do Espaço Económico Europeu, relativa a 2016. Adaptado de ECDC <sup>18</sup>.

A prevalência de MRSA apresenta uma grande variação entre o Norte e o Sul da Europa, com uma maior proporção de isolados resistentes nos países do Sul em comparação com os países do Norte <sup>4</sup>. Embora a proporção de isolados de MRSA tenha diminuído na Europa ao longo do tempo, 10 países da União Europeia ainda registam 25% ou mais de isolados de MRSA <sup>18</sup>. No Chipre, em Itália, em Portugal e na Roménia mais de 60% das infeções por *S. aureus* associadas a cuidados de saúde, foram identificadas como infeções causadas por MRSA <sup>4</sup>.

Em Portugal, a percentagem de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) tem vindo a diminuir desde 2011 (54,6%). Em 2016 este valor foi de 43,6% evidenciando uma redução de cerca de 20% <sup>22</sup>.



**Figura 1.4.** Representação gráfica da percentagem de isolados invasivos de MRSA, em Portugal, entre 1999 e 2016. Adaptado de <sup>22</sup>.

A prevalência de infeções por *S. aureus* em países do Sul e Este da Ásia e do Pacífico Ocidental é difícil de verificar; no entanto, publicações e dados nacionais de vigilância dessas regiões identificam o *S. aureus* como um patogénico significativo, com incidência de MRSA variando desde 2,3 a 69,1% <sup>4</sup>.

A maioria dos investigadores acredita que o MRSA tenha surgido no início da década de 1960, quando adquiriu o gene de resistência à meticilina *mecA*, que é transportado por um elemento genético móvel designado por cassete cromossómica estafilocócica (*SCCmec*) <sup>23</sup>.

Os elementos *SCCmec* são elementos genéticos móveis complexos, portadores de resistência antimicrobiana e, em alguns casos, genes associados à virulência. São bastante diversos, com 11 tipos (I a XI) reconhecidos até à data <sup>24</sup>. Apesar da sua diversidade em tamanho (de ~21 kb a 67 kb) e conteúdo genético, todos eles partilham importantes características bem definidas <sup>24</sup>.

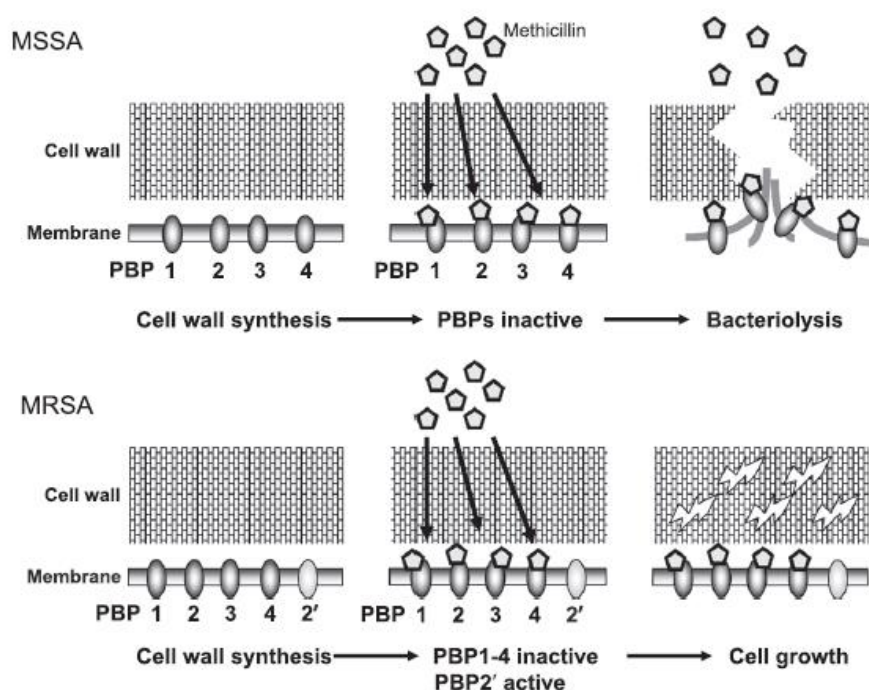
A resistência à meticilina é mediada pela PBP2a, uma proteína de ligação à penicilina com baixa afinidade aos beta-lactâmicos, codificada pelo gene *mecA* <sup>23</sup>.

Geralmente, o *S. aureus* produz quatro proteínas de ligação à penicilina (PBPs). Estas enzimas encontram-se ligadas à membrana citoplasmática e a sua função é a regulação dos



últimos estágios da biossíntese da parede celular <sup>25</sup>. As PBP's são suscetíveis à modificação por ação de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, levando à inibição da biossíntese da parede celular e à morte da bactéria.

As PBP2a vão substituir as PBP's nativas e devido à sua baixa afinidade para os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, permitem que o *S. aureus* subsista mesmo quando exposto a elevadas concentrações destes antibióticos, pois não ocorre interrupção na síntese da camada de peptidoglicano <sup>24,26</sup>. A PBP2a é capaz de assumir as funções das 4 PBP's nativas, na presença de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos <sup>27</sup>.



**Fig. 1.5.** Mecanismo de resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em *S. aureus*. Adaptado de <sup>28</sup>.

O MRSA é frequentemente sub-categorizado como: MRSA adquirido em meio hospitalar (HA-MRSA), MRSA associado à comunidade (CA-MRSA) e MRSA associado à pecuária (LA-MRSA), dependendo do ambiente em que a resistência apareceu originalmente<sup>17</sup>.

O CA-MRSA tem características genéticas e fenotípicas que são diferentes das características do HA-MRSA. O CA-MRSA tende a ser suscetível a uma variedade de antibióticos não  $\beta$ -lactâmicos, enquanto o HA-MRSA é tipicamente multirresistente a antibióticos <sup>10</sup>. Em termos moleculares, a maioria das estirpes HA-MRSA contém no seu genoma a *SCCmec* do tipo I, II ou III, enquanto que as estirpes CA-MRSA possuem a *SCCmec* do tipo IV e menos frequentemente a *SCCmec* do tipo V. Para além destas diferenças, a maioria das estirpes da comunidade produz a toxina PVL (Panton Valentine Leukocidin) e possui uma taxa de crescimento mais elevada <sup>29</sup>.

As infeções da corrente sanguínea causadas por MRSA são uma das principais preocupações nos sistemas de saúde em todo o mundo, devido às elevadas taxas de incidência e aos efeitos indesejáveis associados <sup>30-32</sup>.

Nos países desenvolvidos, o MRSA é o microorganismo mais comum adquirido em meio hospitalar, que causa infeções endémicas e epidémicas e encontra-se associado a um aumento da morbidade e mortalidade quando comparado com outras estirpes <sup>30,33</sup>. Além disso, as infeções causadas por MRSA exigem uma maior duração da antibioterapia, estão associadas a maiores custos e a internamentos hospitalares mais longos <sup>33</sup>. Uma taxa global de mortalidade entre 20% e 30% é observada na maioria dos relatórios, embora haja grandes variações entre áreas geográficas <sup>32</sup>.

As taxas de infeção por MRSA adquirido em hospitais aumentaram constantemente durante os últimos 25 anos e a estirpe bacteriana está a fazer incursões na comunidade <sup>31</sup>. As infeções causadas por MRSA são piores do que as causadas por outros patogénicos, devido às limitações na escolha de antibióticos que se encontram disponíveis e devido ao facto de ser difícil eliminar estas estirpes <sup>9</sup>. Até aos dias de hoje, muitos médicos não consideravam o MRSA uma grande ameaça médica porque os glicopeptídeos permaneciam ativos apesar do uso intensivo nos últimos 30 anos <sup>34</sup>. Contudo, neste momento a deteção e o diagnóstico correctos de MRSA são extremamente importantes para seleccionar um tratamento adequado e para o controle de infeções.

## 1.2 Antibióticos

Os antibióticos são substâncias químicas, naturais ou sintéticas, que têm a capacidade de impedir a multiplicação de bactérias ou de as destruir, sem ter efeitos tóxicos para o Homem ou animal. A maioria deles é sintetizada a partir de um pequeno conjunto de moléculas químicas básicas e dos seus derivados <sup>17</sup>. A atividade dos antibióticos pode ser considerada “bactericida”, se os antibióticos matam as bactérias ou “bacteriostática”, se apenas inibem a multiplicação e o crescimento bacteriano. Neste último caso, o hospedeiro infetado tem tempo para ativar a sua resposta imunitária e eliminar o agente infeccioso <sup>35</sup>.

As principais fontes de antibióticos em uso clínico são produtos naturais: fungos ou bactérias. No entanto, há já alguns anos, existem antibióticos totalmente sintéticos (como as sulfamidas). Os antibióticos são totalmente ineficazes contra os vírus <sup>35</sup>.

Os antibióticos estão entre os medicamentos mais prescritos pela comunidade médica. Estes fármacos geralmente intervêm em etapas cruciais das vias metabólicas e são utilizados em pacientes para o tratamento de uma doença infecciosa causada por bactérias. A maioria dos antibióticos tem mecanismos de ação altamente específicos e interfere com funções fisiológicas ou metabólicas particulares, tais como síntese de parede celular, síntese de proteínas ou RNA, replicação de DNA ou metabolismo energético <sup>17</sup>.

Os antibióticos são bastante utilizados em humanos e animais, resultando no aumento do aparecimento de estirpes bacterianas resistentes <sup>17</sup>. Algumas bactérias desenvolvem resistência a antibióticos, às vezes mesmo antes dos fármacos serem introduzidos no mercado (Figura 1.6), como é o caso da penicilina. No entanto, não significa que o antibiótico em causa deixe de ter utilidade clínica <sup>36</sup>.

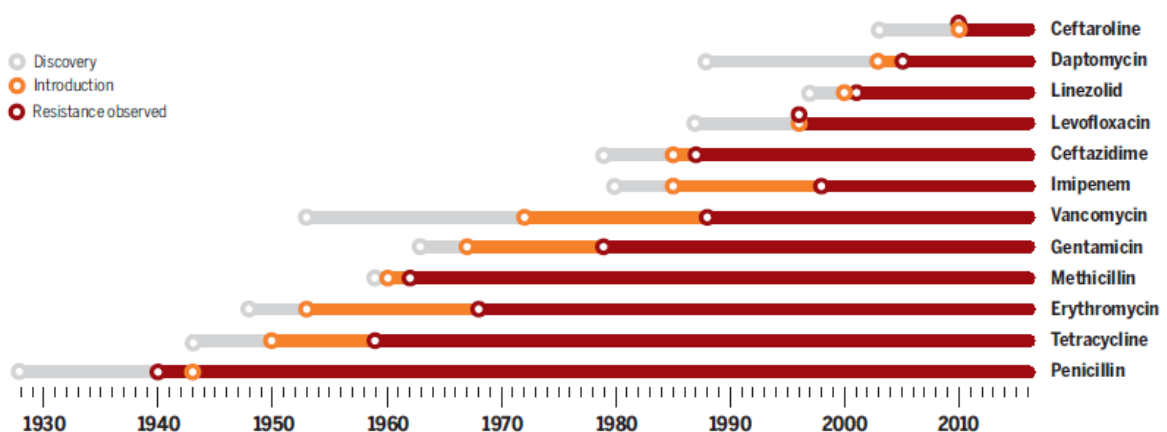


Figura 1.6. Análise da resistência a diferentes antibióticos, desde a sua descoberta. Adaptado de <sup>36</sup>.

Os glicopeptídeos estão entre os antibióticos mais utilizados no tratamento de infeções graves causadas por bactérias Gram-positivas, sendo a vancomicina recomendada para o

tratamento de infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a  $\beta$ -lactâmicos (MRSA) <sup>32,37</sup>. Durante décadas, particularmente nos últimos 20 anos, o tratamento de infecções por MRSA foi limitado principalmente à vancomicina <sup>33,38</sup>.

### 1.2.1 Vancomicina

A vancomicina é um glicopeptídeo tricíclico complexo (Figura 1.7) que consiste em cadeias peptídicas com 7 membros, formando a estrutura tricíclica, ligadas a um dissacarídeo composto por vancosamina e glicose <sup>39</sup>.

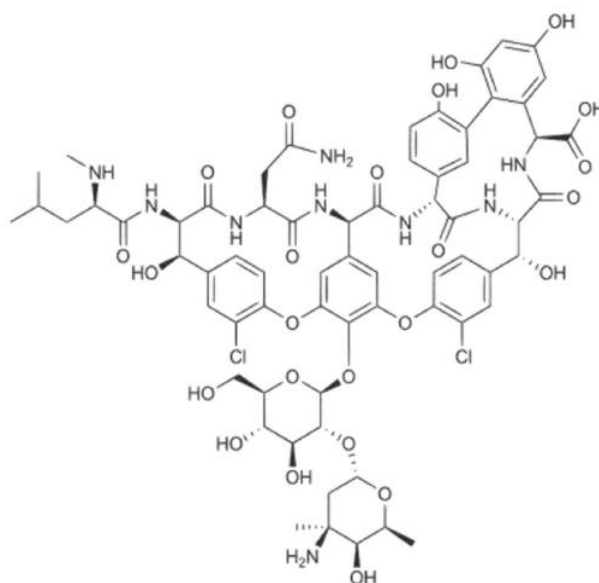


Figura 1.7. Estrutura química da vancomicina. Adaptado de <sup>39</sup>.

Foi isolada pela primeira vez de um organismo chamado *Amycolatopsis orientalis*, numa amostra de solo de Bornéu, enviada por um missionário que visitou essa ilha na Ásia, em meados da década de 1950. Em 1958, a vancomicina foi aprovada para uso clínico contra *S. aureus* resistente à penicilina, mas nos primeiros 25 anos após a introdução, o seu uso ficou limitado a pacientes com alergia  $\beta$ -lactâmica grave e com infecção por MRSA, que eram pouco frequentes antes de 1980 <sup>33</sup>.

A vancomicina possui atividade contra a maioria das bactérias Gram-positivas clinicamente relevantes <sup>33</sup>. Ela é eficaz contra a maioria dos *cocci* e *bacilli* Gram-positivos, exceto para organismos raros, bem como *enterococci* que se tornaram resistentes à vancomicina, principalmente *Enterococcus faecium* <sup>39</sup>.

A vancomicina é um inibidor da síntese da parede celular em *S. aureus*, bem como em outras bactérias Gram-positivas, no entanto o seu mecanismo de ação é diferente dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, que inibem a síntese da parede celular através da ligação às PBPs.

No caso da vancomicina, esta liga-se ao terminal C do resíduo D-Ala-D-Ala do precursor do peptidoglicano e forma um complexo estável, com ligações não covalentes, de forma a inviabilizar a síntese de peptidoglicanos e, conseqüentemente, leva à inibição da síntese da parede celular <sup>40</sup>.

A vancomicina alcançou a reputação de tratamento padrão de eleição, o “antibiótico de escolha” para infeções graves causadas por MRSA, desde o surgimento deste organismo <sup>41,42</sup>. É um dos antibióticos mais antigos que permanece em uso clínico há quase 60 anos <sup>39</sup>. Esta inibe a síntese de parede celular nos estágios mais avançados, afetando assim as bactérias em divisão <sup>39</sup>.

Atualmente, o principal uso da vancomicina é em infeções causadas por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* resistente à meticilina (MRSE) e *enterococci* resistentes à amoxicilina <sup>39</sup>. A vancomicina continua a ser o agente de primeira linha para infeções estafilocócicas coagulase-negativas e coagulase-positivas resistentes à meticilina, incluindo bacteriemia, endocardite, pneumonia, celulite e osteomielite <sup>39</sup>. No entanto, a vancomicina possui toxicidade renal se administrada em doses mais elevadas ou por períodos de tempo prolongados <sup>39</sup>.

A vancomicina é um agente relativamente seguro <sup>39</sup>. No entanto, apresenta desvantagens que limitam o seu valor clínico, incluindo: baixa penetração nos tecidos, atividade bactericida lenta, o surgimento de estirpes com suscetibilidade reduzida e risco de nefrotoxicidade, com a utilização das doses necessárias para alcançar níveis plasmáticos adequados <sup>37</sup>. Falhas observadas no tratamento com vancomicina colocam em questão a eficácia desse antibiótico no tratamento de bacteriemia, bem como de infeções do trato respiratório inferior <sup>43</sup>.

### **1.2.1.1 Resistência à vancomicina**

Anos de subdosagem de glicopeptídeos (devido a receios de toxicidade), associados à deficiente penetração de glicopeptídeos nos tecidos (por exemplo, tecido pulmonar e endocárdico) terão sido responsáveis, em parte, pelo aparecimento de *S. aureus* de suscetibilidade reduzida, por exposição deste organismo a concentrações subinibitórias de vancomicina <sup>37</sup>.

Estirpes clínicas de MRSA com suscetibilidade reduzida à vancomicina ou mais amplamente a glicopeptídeos foram registadas em vários países e foram definitivamente observadas nos últimos anos com o surgimento de *S. aureus* resistente a glicopeptídeos (GRSA), *S. aureus* com resistência intermédia a glicopeptídeos (GISA) e *S. aureus* com resistência heterogénea a glicopeptídeos (hGISA) <sup>34,37</sup>.

Em relação ao *S. aureus*, existe apenas um número reduzido de estirpes resistentes à vancomicina<sup>39</sup>. A identificação e o surgimento de *S. aureus* resistente à vancomicina (VRSA), *S. aureus* com resistência intermédia à vancomicina (VISA) e *S. aureus* com resistência heterogénea à vancomicina (hVISA) causaram grande preocupação, uma vez que foram associadas a falhas clínicas<sup>38,42</sup>.

Em 1997, o primeiro caso de *S. aureus* com resistência intermédia à vancomicina (VISA), que se caracteriza por um valor de concentração mínima inibitória (CMI) de vancomicina entre 4 a 8 µg/mL, foi descrito no Japão<sup>30</sup>.

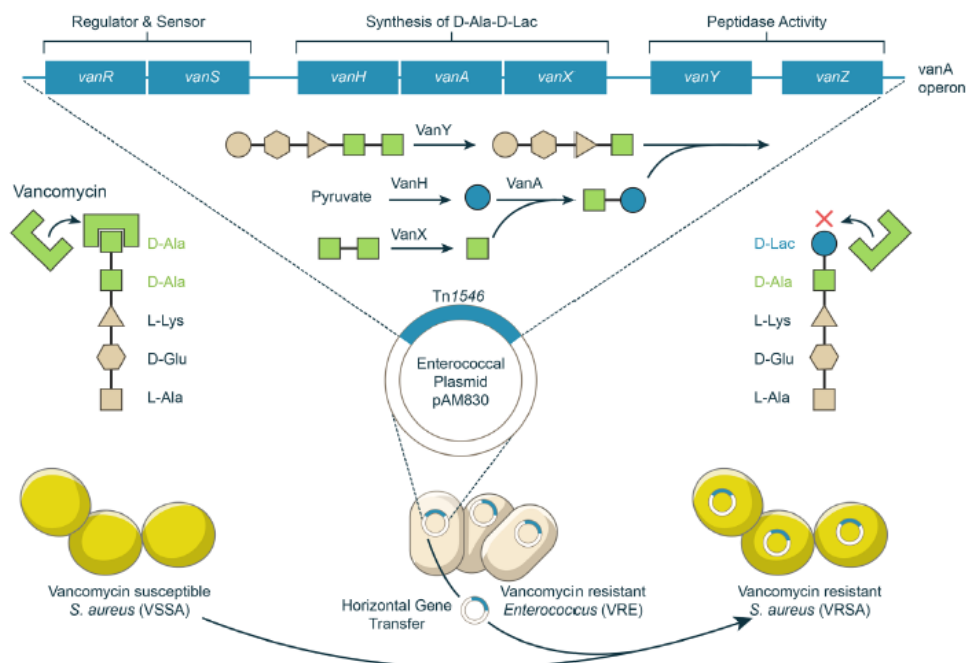
O *S. aureus* com resistência intermédia à vancomicina (VISA) alterou a sua fisiologia celular como resultado de efeitos cumulativos de mutações e/ou modulação de sistemas regulatórios<sup>33</sup>. Esta fisiologia modificada parece alterar o metabolismo da parede celular, de tal forma que resulta num aumento do número de resíduos D-Ala-D-Ala, que servem como locais de ligação sem utilidade para a vancomicina<sup>33</sup>. Além disso, o *S. aureus* com susceptibilidade reduzida à vancomicina apresenta paredes celulares com reduzido *cross-linking* de peptidoglicano, renovação da parede celular reduzida e autólise reduzida, causando um espessamento morfológico considerável da parede celular<sup>33</sup>. Esta parede celular modificada resulta num coeficiente de difusão de vancomicina reduzido, na retenção de vancomicina dentro da parede celular, através de falsos alvos e no impedimento da vancomicina alcançar de forma eficiente o seu alvo terapêutico<sup>33</sup>. Portanto, existe uma grande preocupação com o surgimento de *S. aureus* com susceptibilidade reduzida à vancomicina, devido à elevada incidência do organismo em causar infeções e à sua conhecida virulência e resistência a muitos outros agentes antimicrobianos<sup>7</sup>.

As estirpes de VRSA e VISA são extremamente raras e esporádicas entre os isolados clínicos de *S. aureus*, mas com base noutras tendências, é provável que a sua incidência aumente<sup>7,33,37</sup>. Os primeiros isolados clínicos de VRSA registados em 2002 (o primeiro em Michigan em Junho e o segundo na Pensilvânia em Setembro) foram seguidos por registos posteriores em 2004 e 2005 em Nova York e Michigan, respetivamente<sup>44</sup>. Esta estirpe é caracterizada por um valor de CMI de vancomicina  $\geq 16$  µg/mL. Desde a identificação do primeiro isolado de VRSA em 2002, as preocupações em relação a uma possível disseminação de *S. aureus* resistente à vancomicina (VRSA) aumentaram<sup>45</sup>.

Em Maio de 2013, foi identificado o primeiro isolado de VRSA na Europa. Este possuía o gene *vanA*, apresentava uma concentração inibitória mínima de vancomicina de 1024 µg/mL e foi isolado num hospital em Lisboa, Portugal<sup>45</sup>.

Uma das formas de resistência à vancomicina observada em estirpes VRSA, resulta da provável aquisição do operão *vanA*, importado por conjugação com o plasmídeo de uma estirpe de *Enterococcus faecalis* com resistência à vancomicina. A resistência em VRSA é causada por alterações no terminal do precursor da parede celular o que faz com que o

resíduo formado seja D-Ala-D-Lac, em vez de D-Ala-D-Ala, apresentando uma reduzida afinidade para a vancomicina. Deste modo, mesmo na presença do antibiótico vancomicina, ocorre síntese da parede celular bacteriana, fazendo com que a vancomicina não exiba a sua ação antibacteriana <sup>46</sup>.



**Figura 1.8.** Aquisição de resistência à vancomicina pelo operon *vanA* e seu mecanismo molecular em *S. aureus*. Adaptada de <sup>46</sup>.

Mais comum do que as estirpes de VISA e de VRSA é a ocorrência de isolados de *S. aureus* que exibem heterorresistência à vancomicina, hVISA <sup>33</sup>.

Os isolados de *Staphylococcus aureus* com resistência heterogênea à vancomicina (hVISA) estão a aumentar entre os isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) <sup>41</sup>. No entanto, a prevalência de *S. aureus* com resistência heterogênea à vancomicina (hVISA) é desconhecida, devido à dificuldade em detectar este fenótipo resistente <sup>47</sup>. A prevalência atual de hVISA é variável (0-74%) por causa da dificuldade de detecção, métodos de detecção não-padronizados e inadequados, pressão seletiva variável da vancomicina e instabilidade do fenótipo, uma vez que alguns isolados são congelados e armazenados <sup>33</sup>. Estes organismos são descritos como sendo suscetíveis à vancomicina, mas contêm uma subpopulação que possui uma parede celular mais espessa e expressa resistência à vancomicina <sup>47</sup>.

O hVISA é considerado um precursor do VISA: ele abrange uma população heterogênea de células de *S. aureus* com uma CMI global dentro do intervalo suscetível (ou seja, <2 µg/mL), mas contém subpopulações não suscetíveis (ou seja, com uma CMI ≥ 4

µg/mL)<sup>37</sup>. O hVISA, que consiste numa população de células com suscetibilidades mistas, é particularmente difícil de identificar, uma vez que essas suscetibilidades mistas precisam de ser quantificadas<sup>37</sup>. O hVISA foi apontado como uma causa da redução de eficácia da vancomicina<sup>30</sup>.

Os principais fatores de risco que parecem predispor os pacientes a infecções causadas por VISA e hVISA são: infecções prévias por MRSA com elevada carga bacteriana (endocardite, abscessos internos, infecção nas articulações prostéticas), condições médicas crônicas subjacentes e exposição prévia à vancomicina<sup>33</sup>.

As infecções causadas por hVISA são uma preocupação crescente nos hospitais, resultando em bacteriemia prolongada, endocardite e osteomielite e, por fim, levando à falha do tratamento com vancomicina<sup>47</sup>.

Precisa de ser implementado um teste padrão de análise, com alta sensibilidade e especificidade para a detecção de hVISA, para entender melhor a prevalência e o impacto clínico desses organismos<sup>47</sup>.

#### **1.2.1.2 Testes de suscetibilidade à vancomicina**

Para antimicrobianos são utilizados vários testes laboratoriais de suscetibilidade, essencialmente em relação a bactérias, para prever a resposta clínica<sup>33</sup>. Existem diferentes tipos de testes de suscetibilidade disponíveis, podendo a sensibilidade e especificidade destes variar. Portanto, é importante entender as técnicas envolvidas e como as mesmas podem ser afetadas por propriedades de diferentes antibióticos<sup>37</sup>.

Um importante parâmetro para determinar o sucesso de um tratamento é a concentração mínima inibitória (CMI)<sup>48</sup>. A CMI corresponde à menor concentração de um agente antimicrobiano, capaz de inibir o crescimento visível de um inóculo de um microorganismo (geralmente 10<sup>4</sup> cfu para *staphylococci*), após incubação *in vitro* durante a noite. Portanto, este ensaio pode ser usado como uma medida comparativa da atividade antimicrobiana contra um determinado patogénico<sup>33,37</sup>.

Para determinar os valores de CMI existem vários métodos disponíveis, tais como métodos de microdiluição, testes de gradiente e alguns sistemas automatizados. De acordo com as entidades reguladoras, tais como o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e o European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), o método de referência recomendado para testar a suscetibilidade à vancomicina em *S. aureus* é a microdiluição em meio líquido (BMD)<sup>49</sup>.

O método de Etest é considerado um método preciso e fácil de executar. Uma tira de Etest, que contém um gradiente de antibiótico, é colocada numa placa de ágar inoculada e o padrão de crescimento bacteriano é analisado após 24 horas. Como o Etest utiliza um



gradiente de concentração de antibiótico, possui maior precisão do que os métodos de difusão de disco, permitindo obter um valor real de CMI <sup>12</sup>.

Os sistemas automatizados também são amplamente utilizados, mas o desempenho dessa metodologia para determinar valores de CMI tem sido frequentemente questionada.

Os ensaios de suscetibilidade *in vitro*, como determinações de CMI, ignoram completamente qualquer potencial interação do antibiótico com mecanismos inatos de defesa do hospedeiro, que possam ocorrer *in vivo* <sup>33</sup>. Todos os testes de suscetibilidade consistem na exposição da estirpe bacteriana a ser testada a diferentes concentrações do antibiótico, geralmente para avaliar a concentração mínima a que o micróbio é inibido, após 24 horas de incubação <sup>37</sup>.

Autoridades como o European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) definem valores limite de CMI ou os chamados pontos de corte (limites máximos de CMI para prever um tratamento bem-sucedido) para classificar as estirpes bacterianas como suscetíveis, de resistência intermédia ou resistentes a um agente antimicrobiano particular, com base nos valores de CMI <sup>33,37</sup>. Esses limites ou pontos de corte são usados para dar significado clínico e para fornecer aos médicos orientações simples e práticas na seleção de antibióticos <sup>37</sup>. Um resultado de “suscetível” determinado por um laboratório de microbiologia clínica é considerado como preditivo de uma resposta clínica satisfatória enquanto um resultado de “não suscetível” ou “resistente” prevê insucesso no tratamento <sup>33</sup>.

Em 2006, o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) baixou o limite de suscetibilidade à vancomicina do *S. aureus* de 4 µg/mL para 2 µg/mL, em resposta a evidências de que a vancomicina teria eficácia reduzida em isolados com CMI ≥ 4 µg/mL <sup>37</sup>. O limite de resistência também foi reduzido (de 32 µg/mL para 16 µg/mL), refletindo a análise clínica de que as estirpes de *S. aureus* com CMI ≥ 16 µg/mL são completamente resistentes à vancomicina <sup>37</sup>. A redução desses limites também resultou na redefinição de resistência intermédia, como aquelas estirpes que apresentam valores de CMI entre 4 µg/mL e 8 µg/mL <sup>37</sup>.

**Tabela 1.1** Intervalos de suscetibilidade à vancomicina, definidos pelo CLSI. Adaptado de <sup>37</sup>.

Pathogen	Susceptibility	MIC breakpoint (µg/ml)
VSSA	Susceptible	≤2
hVISA	Heteroresistant	1–2 <sup>a</sup>
VISA	Intermediate	4–8
VRSA	Resistant	≥16 <sup>b</sup>

Os resultados dos testes de suscetibilidade à vancomicina indicam que o antibiótico continua a ter atividade contra uma ampla variedade de patogênicos Gram-positivos<sup>50</sup>. As características físico-químicas desse glicopeptídeo e o seu modo de ação conferem à vancomicina um excelente espectro de potência<sup>50</sup>.

No entanto, tem sido sugerido que esses limites ainda são muito altos e que uma redução ainda maior pode ajudar a averiguar como as suscetibilidades estão a mudar ao longo do tempo e a antecipar futuras tendências de “MIC Creep”<sup>8,37</sup>.

### 1.2.1.3 “MIC Creep” para Vancomicina

Uma das justificações para respostas clínicas subótimas é o fenômeno “MIC creep”, que corresponde a um aumento lento e gradual dos valores de CMI de vancomicina, dentro do intervalo de suscetibilidade, ao longo do tempo<sup>12,39,43</sup>. Vários estudos realizados identificaram aumentos progressivos nas CMIs de glicopeptídeo para estirpes de *S. aureus*, durante os últimos anos<sup>12</sup>.

A principal preocupação com o fenômeno de “MIC Creep” é a perda gradual de atividade da vancomicina e, conseqüentemente, a perda de utilidade clínica. Contudo, a ocorrência do “MIC Creep” parece ser limitada e, quando ocorre, surge muito lentamente (em mais de uma década)<sup>51</sup>.

O fenômeno “MIC Creep” para vancomicina tem sido associado a valores de CMI de vancomicina mais elevados e tem sido observado em isolados de *S. aureus* tanto suscetíveis como resistentes à meticilina (MSSA e MRSA)<sup>12,33</sup>. As infecções causadas por isolados de *S. aureus* com valores mais elevados de CMI de vancomicina, mesmo dentro do intervalo suscetível, revelaram estar associadas à falha no tratamento e a várias conseqüências clínicas, tais como: resposta tardia; aumento da mortalidade; taxa elevada de recidiva; internamento hospitalar prolongado ou aumento dos custos de hospitalização<sup>31,33</sup>.

As infecções causadas por MRSA com valores mais elevados de CMI de vancomicina são observadas em pacientes com exposição recente à vancomicina (dentro de um mês até à infecção atual), hospitalização anterior recente, cirurgia nos últimos 6 meses e naqueles com infecções da corrente sanguínea antes da admissão em unidades de cuidados intensivos<sup>33</sup>. Isto reflete uma interação entre variáveis específicas do patogênico, respostas do hospedeiro e exposição subótima à vancomicina<sup>31</sup>.

Este fenômeno – “MIC Creep” para vancomicina – foi observado em várias partes do mundo, mas não globalmente<sup>33,39</sup>. Na Europa, apenas alguns estudos registaram o fenômeno em causa<sup>8</sup>. No entanto, é importante assinalar que ele não é universal e alguns

centros/regiões não observaram alterações e observaram mesmo reduções no “MIC Creep” para vancomicina <sup>33</sup>. Estas variações são explicadas pelas diferenças nos períodos de estudo, número de casos considerados, localizações geográficas, fatores epidemiológicos e clínicos entre os diferentes locais de estudo, incluindo pressão seletiva produzida por dose elevada *versus* uso tradicional e dosagem de vancomicina, severidade da doença em populações de pacientes com diferentes condições de comorbidade, diferenças na terapia médica e cirúrgica de infecções invasivas por *S. aureus*, variação na sensibilidade dos testes de suscetibilidade antimicrobiana usados para detetar variações de CMI e a análise estatística aplicada aos dados de CMI <sup>9,33,51</sup>.

A combinação de dados de vários centros (nacional e/ou internacionalmente) pode ocultar as tendências que existem dentro de uma determinada instituição ou país, como resultado de diferenças em populações de pacientes e padrões de uso de antibióticos <sup>38</sup>. As falsas percepções do “MIC Creep” para vancomicina parecem ser provocadas pelo aumento de ocorrências de estirpes, geralmente clonais, para as quais os valores de CMI de vancomicina são elevados <sup>51</sup>.

É importante distinguir claramente o fenómeno de “MIC Creep” de uma maior ocorrência/disseminação de clones epidémicos específicos (com menor suscetibilidade à vancomicina) para os quais as CMIs de vancomicina são elevadas <sup>51</sup>. A disseminação rápida e extensa desses clones de MRSA tem sido bem documentada na literatura médica e a propagação de clones de MRSA para os quais os valores de CMI de vancomicina são elevados (dentro e entre os centros médicos) teria um impacto muito maior sobre a utilidade clínica da vancomicina do que a ocorrência do verdadeiro “MIC Creep” <sup>51</sup>.



# Objetivos

---



## 2. Objetivos

O *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) é uma das bactérias resistentes a antimicrobianos vulgarmente mais identificadas, em hospitais de todo o mundo. Este microorganismo causa graves infeções associadas a cuidados de saúde, mas também infeções adquiridas na comunidade. Apesar da incidência de infeções estar a diminuir nos últimos anos, o MRSA continua a ser uma prioridade de saúde pública na Europa.

Durante mais de quatro décadas, a vancomicina tem sido o antibiótico de eleição no tratamento de infeções por MRSA. Mas será que a vancomicina ainda continua a ser o tratamento mais apropriado para infeções graves por MRSA?

Dados recentes abordam o conceito de “MIC creep”, que corresponde a um aumento lento e gradual dos valores de concentrações mínimas inibitórias (CMI) de vancomicina, dentro do intervalo de suscetibilidade, ao longo do tempo. Vários fatores externos, incluindo o método de análise, a duração do armazenamento de isolados até à realização do teste e o teste utilizado para determinar a CMI, todos têm impacto na descoberta de evidências para o “MIC creep”. Este fenómeno pode resultar de múltiplos fatores, incluindo a substituição clonal e a exposição a antibióticos. Embora o seu significado clínico não esteja estabelecido, as infeções devido a isolados com valores elevados (mas suscetíveis) de CMI de vancomicina, têm sido associadas a resultados mais desfavoráveis, falhas adicionais no tratamento e mortalidade do paciente. No entanto, a existência generalizada do fenómeno “MIC creep” não é evidente.

Deste modo, o presente trabalho tem como objetivo principal a realização de uma revisão sistemática que permita:

- 1) avaliar a existência do fenómeno “MIC creep” para vancomicina em pacientes com infeções provocadas por MRSA;
- 2) verificar se este fenómeno corresponde a uma tendência global ou localizada apenas em determinadas regiões.





# **Metodologia**

---



### **3. Metodologia**

Neste capítulo, será apresentada a metodologia utilizada na elaboração da revisão sistemática da literatura. Deste modo, descreve-se de forma detalhada, os aspetos relativos ao tipo de estudo realizado e apresentam-se as questões de investigação e os critérios de elegibilidade definidos (critérios de inclusão e exclusão). De seguida, expõem-se os detalhes do processo de localização dos estudos, as estratégias de seleção dos artigos incluídos e a posterior extração de dados.

#### **3.1. Tipo de estudo**

A revisão sistemática da literatura corresponde a um processo de revisão de literatura abrangente, imparcial e reproduzível, que permite localizar, avaliar e sintetizar um conjunto de evidências de estudos científicos relevantes para uma questão particular, área do conhecimento ou fenómeno de interesse.

A revisão sistemática da literatura é um estudo secundário que tem por objetivo reunir e sintetizar estudos primários semelhantes e de boa qualidade (publicados ou não). É considerada o melhor nível de evidência em questões sobre terapêutica, uma vez que permite obter uma visão geral e confiável da questão de pesquisa, permitindo assim tirar conclusões e tomar decisões.

Os elementos fundamentais de uma revisão sistemática são:

- uma definição clara de um conjunto de objetivos, com critérios de elegibilidade previamente definidos;
- uma metodologia explícita e reproduzível;
- uma pesquisa sistemática que identifique todos os estudos que possam cumprir os critérios de elegibilidade definidos;
- uma avaliação da validade dos resultados dos estudos incluídos, por exemplo, através da avaliação do risco de enviesamento;
- uma apresentação sistemática e uma síntese das características e resultados dos estudos incluídos <sup>52</sup>.

Desta forma, as revisões sistemáticas apresentam vantagens comparativamente às revisões tradicionais de literatura, nomeadamente a aplicação de métodos sistemáticos e explícitos na identificação, seleção e avaliação das investigações relevantes, bem como na extração de dados a partir dos estudos incluídos na revisão. Assim, são obtidos resultados mais fiáveis e o risco de enviesamento é reduzido

Um dos objetivos principais das revisões sistemáticas é evitar viés de análise na revisão sistemática, sendo então os métodos de seleção e análise dos dados estabelecidos antes de a revisão ser conduzida, num processo rigoroso e bem definido. A revisão

sistemática inicia-se com a elaboração da questão clínica. De seguida, é realizada uma ampla busca da literatura com o objetivo de se identificar o maior número possível de estudos relacionados com um tema específico de investigação, de forma a reunir toda a evidência empírica que corresponda aos critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos.

### **3.2. Questões de investigação**

Para a realização desta revisão sistemática foram definidas uma questão de investigação principal e uma questão de investigação secundária, sendo estas respetivamente:

- 1) avaliar a existência do fenómeno “MIC creep” para vancomicina em pacientes com infeções provocadas por MRSA;
- 2) verificar se este fenómeno corresponde a uma tendência global ou localizada apenas em determinadas regiões.

### **3.3. Critérios de elegibilidade**

Uma das características que distingue uma revisão sistemática de uma revisão narrativa da literatura é a especificação prévia dos critérios de elegibilidade do estudo – critérios de inclusão e exclusão.

#### **3.3.1. Critérios de inclusão**

Para esta revisão sistemática foram considerados os seguintes critérios de inclusão:

- 1) Estudos realizados em humanos
- 2) Artigos escritos na língua inglesa, espanhola ou portuguesa
- 3) Estudos que apresentam os valores de CMI de vancomicina e os métodos aplicados para a sua determinação

#### **3.3.2. Critérios de exclusão**

Para esta revisão sistemática foram considerados os seguintes critérios de exclusão:

- 1) Estudos de revisão sistemática
- 2) Estudos realizados a nível mundial ou continental
- 3) Estudos meramente comparativos de métodos de determinação de CMI de vancomicina
- 4) Estudos que utilizaram a difusão em disco como método de determinação de valores de CMI de vancomicina

### **3.4. Estratégias para a localização dos estudos**

O processo de identificação e localização dos estudos requer uma busca objetiva, reprodutível e o mais ampla possível para identificar o máximo de estudos relacionados, dentro dos recursos disponíveis. Assim, várias bases de dados científicas devem ser incluídas de maneira a evitar a possibilidade de enviesamento, utilizando descritores bem definidos. Este processo é um fator chave que distingue as revisões sistemáticas das revisões narrativas tradicionais.

Desta forma, para identificar todos os estudos elegíveis para esta revisão foram realizadas pesquisas de Abril a Agosto de 2018 nas seguintes bases de dados: Pubmed; ScienceDirect; Biblioteca Virtual em Saúde – BVS; Wiley Online Library e JSTOR. Esta pesquisa foi posteriormente atualizada a 30 de Setembro de 2018.

A identificação de estudos foi realizada através do uso de combinações de termos de pesquisa, que poderão ser encontrados no título, resumo, assunto ou palavras-chave dos artigos. A combinação dos termos de pesquisa e operadores booleanos utilizada foi então a seguinte: ("methicillin-resistant Staphylococcus aureus" OR "MRSA") AND vancomycin AND ("susceptibility" OR "MIC"). Na pesquisa de estudos foram utilizados filtros, de forma a identificar apenas estudos realizados em humanos, com artigos publicados entre Janeiro de 2010 e Setembro de 2018, escritos em inglês, português ou espanhol. Na base de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) utilizei ainda um filtro adicional, de forma a excluir os artigos da Pubmed/Medline e assim evitar duplicados.

### **3.5. Seleção e análise dos estudos**

Os artigos identificados na pesquisa de bases de dados eletrônicas foram avaliados em duas fases por um único investigador, de acordo com os critérios de seleção inicialmente estabelecidos. Numa primeira fase, foram excluídos os artigos em duplicado e foram revistos os títulos e os resumos dos restantes estudos. Numa segunda fase, foram analisados os artigos selecionados por título e resumo, de forma a verificar os que cumpriam os critérios de elegibilidade.

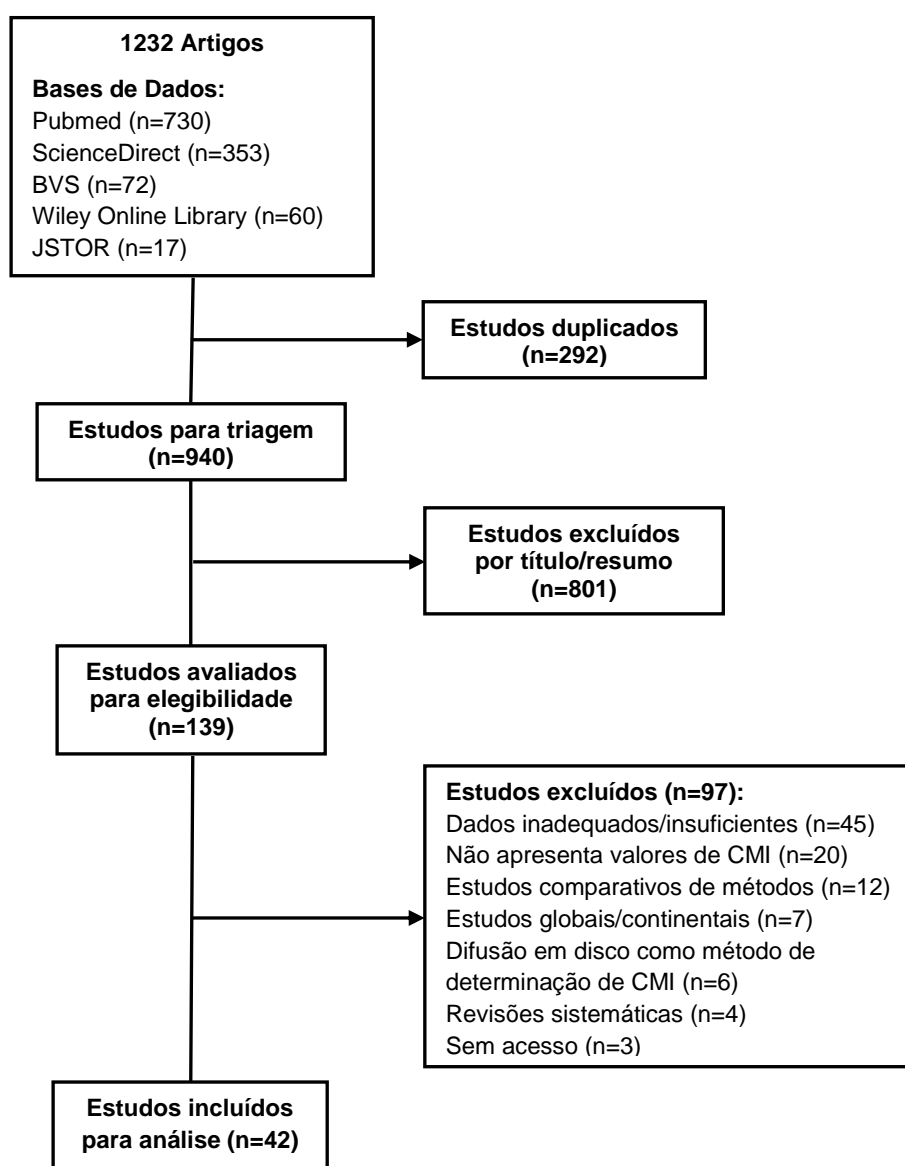
Inicialmente, a estratégia de pesquisa identificou um total de 1232 referências (730 artigos da Pubmed, 353 artigos da ScienceDirect, 72 artigos da BVS, 60 artigos da Wiley Online Library e 17 artigos da JSTOR). Destes estudos, 292 eram duplicados. Dos restantes 940 artigos, após a exclusão por título e resumo foram identificados 139 artigos elegíveis para serem analisados numa segunda fase.

Na segunda fase foram então revistos os 139 artigos, sendo excluídos, após a sua leitura, 45 artigos que continham dados inadequados ou insuficientes, 20 artigos que não apresentavam valores de CMI de vancomicina, 12 artigos que correspondiam a estudos

meramente comparativos de métodos de determinação de CMI de vancomicina, 7 artigos que correspondiam a estudos globais ou continentais, 6 artigos que utilizavam a difusão em disco como método de determinação dos valores de CMI de vancomicina e 4 artigos que correspondiam a revisões sistemáticas.

Desta forma, 94 estudos foram considerados inelegíveis, pois não cumpriam os critérios de elegibilidade ou não possuíam dados suficientes, relevantes para responder às questões de investigação. Foram ainda excluídos 3 artigos aos quais não tive acesso. Portanto, foram selecionados 42 estudos para a revisão final, que correspondem aos critérios de elegibilidade (de inclusão e exclusão).

O processo de seleção dos estudos encontra-se representado na Figura 3.1.



**Figura 3.1.** Fluxograma do processo de seleção dos artigos para a revisão sistemática.

# Resultados

---





## 4. Resultados

Terminado o processo de seleção dos artigos para a revisão sistemática, foram selecionados 42 estudos para análise. De forma a averiguar se a preocupação com o fenómeno de “MIC Creep” em relação à vancomicina em pacientes com MRSA tem aumentado, se está estagnado ou se tem diminuído ao longo dos anos, em diferentes regiões do mundo, foi realizada uma análise da distribuição temporal e geográfica dos estudos incluídos na revisão sistemática.

### 4.1 Distribuição temporal e geográfica dos estudos

Nos diferentes anos do período de estudo (2010-2018), foi publicado um número variável de artigos, em diferentes localizações geográficas. O menor número de estudos foi registado no ano de 2018 sendo que, em contraste, os anos de 2011, 2015 e 2017 registaram um grande número de estudos publicados, em relação ao tema de estudo. A distribuição dos artigos publicados entre 2010 e 2018 é apresentada na figura 4.1.

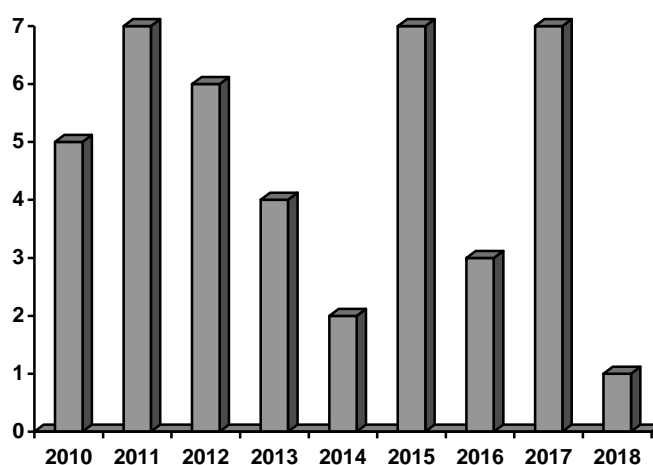


Figura 4.1. Distribuição dos artigos publicados no período de 2010-2018.

Quanto à distribuição geográfica dos estudos incluídos na revisão sistemática, foi possível verificar que há locais com um grande número de estudos publicados e outros sem qualquer estudo registado.

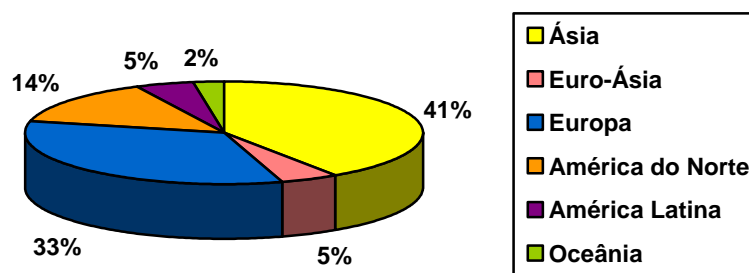
Dos 42 estudos analisados, 17 correspondem a estudos realizados na Ásia em países como China<sup>30,53-56</sup>, Taiwan<sup>9,57-59</sup>, Coreia do Sul<sup>60,61</sup>, Japão<sup>62,63</sup>, Índia<sup>64,65</sup> e Malásia<sup>66,67</sup>. Foram ainda realizados 2 estudos na Turquia<sup>68,69</sup>, país que pertence, simultaneamente, aos continentes da Ásia e da Europa.

Na Europa, foram realizados 14 estudos em locais como Espanha<sup>32,70-72</sup>, Reino Unido<sup>73,74</sup>, Alemanha<sup>8,75</sup>, Itália<sup>76,77</sup>, Portugal<sup>78,79</sup>, Grécia<sup>80</sup> e Polónia<sup>81</sup>.

Na América do Norte foram realizados 6 estudos, todos eles efetuados nos Estados Unidos da América<sup>82-87</sup>. Na América Latina foram realizados apenas 2 estudos, um no Brasil<sup>88</sup> e um na Colômbia<sup>89</sup>.

Na Oceânia, apenas 1 estudo foi publicado na Austrália<sup>90</sup>. No continente africano, não se registou qualquer estudo publicado em relação ao tema de interesse.

A distribuição geográfica dos estudos incluídos na revisão sistemática encontra-se representada na figura 4.2.



**Figura 4.2.** Distribuição geográfica dos estudos incluídos na revisão sistemática.

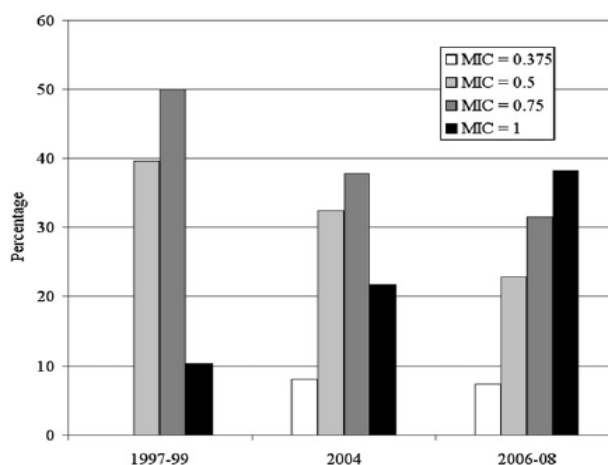
## 4.2 Descrição dos estudos

Com o objetivo de avaliar o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina em pacientes com MRSA, foi realizado um estudo mais aprofundado de cada artigo incluído na revisão sistemática. Para tal, foram extraídas as informações necessárias, tais como: período de estudo, localização, número de isolados de MRSA, fonte de infeção ou dos isolados, valores de CMI de vancomicina e método utilizado para a sua determinação. De seguida são descritos os estudos de forma sucinta, evidenciando alguns aspetos mais relevantes.

Durante o ano de 2010 foram publicados 2 estudos de interesse na China. Um deles<sup>30</sup> corresponde a um estudo realizado entre 1997 e 2008, em 5 hospitais públicos de Hong Kong. Foram considerados 247 isolados de MRSA provenientes de pacientes com bacteriemia, dos quais 48 foram recolhidos entre 1997 e 1999, 37 isolados em 2004 e 162 isolados entre 2006 e 2008. Os valores de CMI de vancomicina foram determinados pelo método de Etest. Todos os isolados são considerados suscetíveis à vancomicina, de acordo com os critérios estabelecidos pelo CLSI. 15 isolados (6,1%) apresentavam uma CMI=0,375 mg/L, 68 isolados (27,5%) apresentavam uma CMI=0,5 mg/L, 89 isolados (36%) apresentavam uma CMI=0,75 mg/L e 75 isolados (30,4%) apresentavam uma CMI=1 mg/L.

Na figura 4.3 é possível verificar que houve um aumento na percentagem de isolados de MRSA com CMI de vancomicina igual a 1 mg/L e houve uma diminuição na percentagem

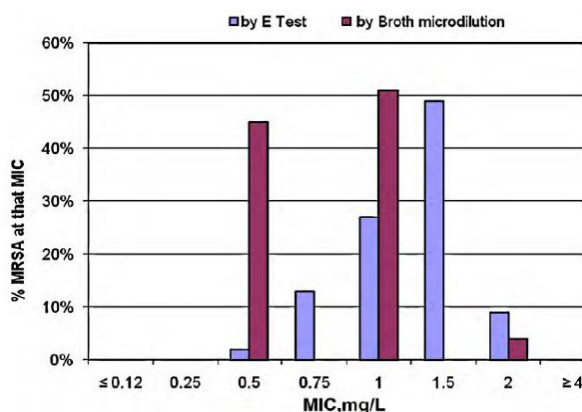
de isolados com valores de CMI de vancomicina igual a 0,5 mg/L e igual a 0,75 mg/L, ao longo dos 3 períodos estudados.



**Figura 4.3.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, entre 1997 e 2008. Adaptada de <sup>30</sup>.

Portanto, neste estudo é possível observar o fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina nos isolados de MRSA estudados, entre 1997 e 2008.

O outro estudo publicado em 2010, na China<sup>53</sup>, corresponde a um estudo realizado num hospital em Hong Kong, entre Março e Agosto de 2008. Foram avaliados 100 isolados clínicos obtidos de pus, fluidos corporais, expetoração e urina de pacientes hospitalizados devido a infeções provocadas por MRSA. Os valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 2 métodos diferentes, BMD e Etest, e são apresentados na figura 4.4.



**Figura 4.4.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, determinados por Etest e BMD, entre Março e Agosto de 2008. Adaptada de <sup>53</sup>.

De acordo com o CLSI, todos os isolados de MRSA são suscetíveis à vancomicina pelos 2 métodos. No entanto, a percentagem de isolados com CMI $\geq$ 1,5 mg/L é visivelmente maior quando determinada pelo Etest. Verificando a distribuição da figura 4.4, podemos afirmar que existe uma grande percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina elevados. No entanto, 6 meses é um período demasiado curto para obter tendências e perceber se estamos perante o fenómeno de “MIC Creep” em relação à vancomicina.

Em 2010, foi também publicado um estudo realizado nos 6 principais hospitais públicos da Malásia<sup>66</sup>, entre Março e Julho de 2009. Foram estudados 300 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue, urina, tecidos, entre outras. Para determinar os valores de CMI de vancomicina, foram utilizados 2 métodos (BMD e Etest), estando a sua distribuição representada na tabela 4.1.

**Tabela 4.1.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, determinados por BMD e Etest, entre Março e Julho de 2009. Adaptada de <sup>66</sup>.

Vancomycin MIC ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	MRSA [ <i>n</i> (%)]	
	BMD	Etest
0.25	7 (2.3)	0 (0)
0.5	171 (57)	6 (2)
0.75		9 (3)
1	122 (40.7)	40 (13.3)
1.5		154 (51.3)
2	0	91 (30.3)

Através da tabela 4.1, pode-se verificar que neste estudo a maioria dos isolados de MRSA apresenta uma CMI=0,5  $\mu\text{g/mL}$ , pelo método de BMD, enquanto que pelo método de Etest, a maioria dos isolados de MRSA apresenta uma CMI=1,5  $\mu\text{g/mL}$ . No entanto, há uma grande percentagem de isolados de MRSA que apresentam uma CMI=1  $\mu\text{g/mL}$  pelo método de BMD. Também pelo método de Etest, há uma grande percentagem de isolados de MRSA com CMI $\geq$ 1,5  $\mu\text{g/mL}$ . Apesar de existir uma grande percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina elevados, todos os isolados se encontram dentro do intervalo de suscetibilidade definido pelo CLSI. Para concluir sobre a existência do fenómeno de “MIC Creep” em relação à vancomicina, 6 meses é um período demasiado curto e mais dados seriam necessários.

Ainda em 2010, foram publicados 2 estudos de interesse nos Estados Unidos da América. Um deles <sup>82</sup> foi realizado em Los Angeles, na Califórnia, entre 1979 e 2007. Foram estudados 299 isolados de MRSA pertencentes a doentes hospitalizados com infeções graves. Para determinar os valores de CMI de vancomicina foi usado um método de microdiluição. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina é apresentada na tabela 4.2.

**Tabela 4.2.** Percentagem de isolados de MSSA e MRSA com diferentes valores de CMI de vancomicina, entre 1979 e 2007. Adaptada de <sup>82</sup>.

Years	MRSA (n)	Vancomycin			
		MSSA		MRSA	
		1	2	1	2
1979–1983	24	85	15	37.5	62.5
1984–1988	52	88.9	11.1	28.8	71.2
1989–1995	14	84.2	15.8	21.4	78.6
1996–1999	16	83	17	44	56
2000–2004	67	82	18	69	31
2005–2007	126	88.1	11.9	93	7
Total	299	85.5	14.5	34.5	65.5

Observando a tabela, é possível verificar que a percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI=2 µg/mL de vancomicina diminui de forma bastante acentuada nos períodos mais recentes, desde 1996 até 2007. No entanto, este estudo registou um aumento no número de isolados de MRSA a partir de 2000.

A seguir, é também apresentada a tabela 4.3 onde se encontram registadas as médias geométricas dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, entre 1979 e 2007.

**Tabela 4.3.** Médias geométricas dos valores de CMI (µg/mL) de vancomicina em isolados de MRSA, entre 1979 e 2007. Adaptada de <sup>82</sup>.

Years	MRSA (n)	MIC
1979–1983	24	1.54
1984–1988	52	1.64
1989–1995	14	1.70
1996–1999	16	1.48
2000–2004	67	1.24
2005–2007	126	1.05
Total	299	1.27

Pela observação da tabela, verifica-se que a média geométrica dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA variam entre 1,05 µg/mL, no período de 2005-2007 e 1,70 µg/mL, no período de 1989-1995. Pela análise dos dados, não se verifica qualquer tendência crescente nos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, durante o período de estudo correspondente a 29 anos.

Outro dos estudos publicados nos Estados Unidos da América<sup>83</sup> em 2010, foi realizado entre 2000 e 2007, num hospital pediátrico em Chicago, incluindo 306 isolados de MRSA de diversas fontes (sangue, locais estéreis e não estéreis). Para determinação dos valores de CMI de vancomicina foram usados vários métodos, incluindo o Etest, difusão em ágar e BMD (MicroScan). A distribuição dos valores obtidos pelos diferentes métodos encontra-se representada na tabela 4.4.

**Tabela 4.4.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, obtidos pelos diferentes métodos, entre 2000 e 2007. Adaptada de <sup>83</sup>.

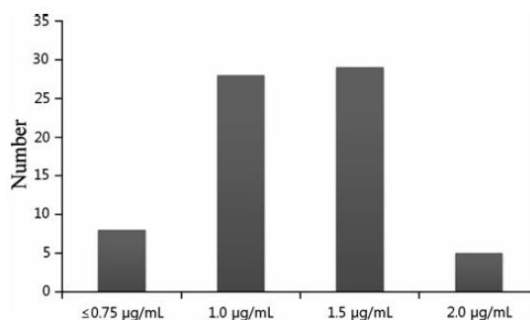
Method	Year	No. Isolates	Vancomycin MIC ≤0.5	Vancomycin MIC = 1	Vancomycin MIC = 2 (%)	MIC <sub>90</sub> (µg/mL)*	MIC <sub>50</sub> (µg/mL)*
Agar dilution	2000 + 2001	62	1	60	1 (2)	1	1
	2003	82	1	78	3 (4)	1	1
	2005	85	1	82	2 (2)	1	1
	2007	77	0	75	2 (3)	1	1
MicroScan	2000 + 2001	62	1	45	16 (26)	2	1
	2003	82	1	49	32 (39)	2	1
	2005	85	0	63	2 (26)	2	1
	2007	77	0	43	34 (44)	2	1
Etest	2000 + 2001	62	0	6	56 (90)	2	2
	2003	82	0	12	70 (85)	2	2
	2005	85	0	6	79 (93)	2	2
	2007	77	0	12	65 (84)	2	2

\*Minimum inhibitory concentration required to inhibit the growth of 90% (or 50%) of organisms.

Observando a tabela, verifica-se que os valores de CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> de vancomicina não sofreram alterações durante o período de estudo (2000-2007), para qualquer um dos 3 métodos utilizados. A percentagem de isolados de MRSA com CMI=2 µg/mL de vancomicina é variável, sendo visivelmente maior quando se usa o Etest, quando comparada com a BMD (MicroScan) e, particularmente, quando comparada com a difusão em ágar. Os isolados de MRSA apresentam valores de CMI visivelmente mais elevados, quando determinados por Etest.

Apesar de haver diferenças significativas na proporção de isolados com CMI=2 µg/mL quando é usado o MicroScan, não se verifica uma tendência crescente nos valores de CMI de vancomicina durante os diferentes anos do período de estudo, assim como não se verifica nos outros métodos utilizados.

Durante o ano de 2011 foram publicados 7 estudos de interesse, todos eles em localizações diferentes. Um deles foi realizado na Coreia do Sul<sup>60</sup>, num hospital em Seul entre Outubro de 2008 e Dezembro de 2009. Foram selecionados 70 isolados de MRSA provenientes de pacientes adultos com pneumonia nosocomial, sendo os valores de CMI de vancomicina determinados por Etest. A distribuição desses valores nos isolados de MRSA está representada na figura 4.5.



**Figura 4.5.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, obtidos por Etest, nos 70 isolados de MRSA. Adaptada de <sup>60</sup>.

Pela observação da imagem, pode-se afirmar que a maioria dos isolados de MRSA apresentam valores de CMI de vancomicina entre 1,0 e 1,5 µg/mL, ou seja, estão dentro do intervalo de suscetibilidade, no entanto são considerados relativamente elevados. Quanto ao fenómeno de “MIC Creep”, nada se pode inferir uma vez que o período de estudo é de apenas um ano e não é possível observar tendências crescentes nos valores de CMI de vancomicina.

Em 2011, foram publicados 4 estudos de interesse na Europa. Um deles foi realizado na Alemanha<sup>8</sup>, entre Janeiro de 2004 e Dezembro de 2009, ou seja, durante 6 anos e avaliou 287 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue, obtidas de pacientes em diversos hospitais de 2 cidades diferentes, separadas por 15 km. 133 isolados de MRSA foram colhidos num hospital em Essen (cidade A) e 154 isolados de MRSA foram colhidos em 4 hospitais em Bochum (cidade B). Os valores de CMI de vancomicina dos isolados de MRSA foram determinados pelo Etest, sendo os dados apresentados na tabela 4.5 e figura 4.6, para a cidade A e na tabela 4.6 e figura 4.7, para a cidade B.

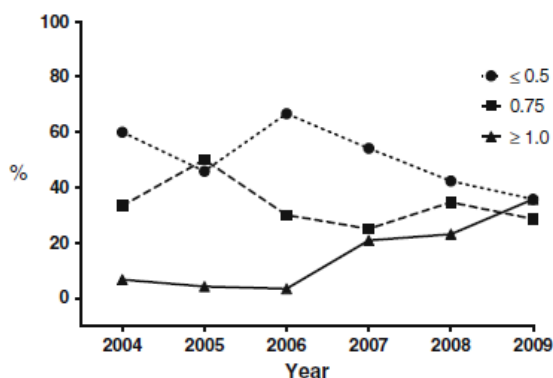
**Tabela 4.5.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina, obtidos por Etest entre 2004 e 2009, na cidade A. Adaptada de <sup>8</sup>.

Year	Number of strains	Geometric mean (mg/L)	MIC range (mg/L)	MIC <sub>50</sub> (mg/L)	MIC <sub>90</sub> (mg/L)	MIC≥1 mg/L (%)
2004	15	0.59	0.38–1.0	0.5	0.75	6.67
2005	24	0.63	0.25–1.0	0.75	0.75	4.17
2006	30	0.56	0.38–1.0	0.5	0.75	3.33
2007	24	0.66	0.25–1.5	0.75	1.0	20.83
2008	26	0.75	0.38–2.0	0.75	1.0	23.08
2009	14	0.79	0.5–1.5	0.75	1.0	35.71

Para os isolados de MRSA da cidade A, os valores de CMI de vancomicina variam de 0,25 mg/L até 2,0 mg/L, ou seja, encontram-se dentro do intervalo de suscetibilidade. É

possível observar que a média geométrica dos valores de CMI de vancomicina aumentou de 0,59 mg/L em 2004 para 0,79 mg/L em 2009; o valor de CMI<sub>50</sub> aumentou de 0,5 mg/L para 0,75 mg/L e o valor de CMI<sub>90</sub> aumentou de 0,75 mg/L para 1,0 mg/L. Também se verificou um aumento significativo na percentagem de isolados de MRSA com CMI de vancomicina  $\geq 1$  mg/L, comparando o período de 2004-2006 e o período de 2007-2009.

Na figura 4.6, encontra-se representada a distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA, entre 2004 e 2009.



**Figura 4.6.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, obtidos por Etest entre 2004 e 2009, na cidade A. Adaptada de <sup>8</sup>.

Pela observação da figura 4.6, verifica-se que na cidade A há um aumento na proporção de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina  $\geq 1$  mg/L e uma diminuição na proporção de isolados com CMI de vancomicina  $\leq 0,5$  mg/L, no período entre 2006 e 2009.

Os dados relativos à cidade B são apresentados a seguir.

**Tabela 4.6.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina, obtidos por Etest entre 2004 e 2009, na cidade B. Adaptada de <sup>8</sup>.

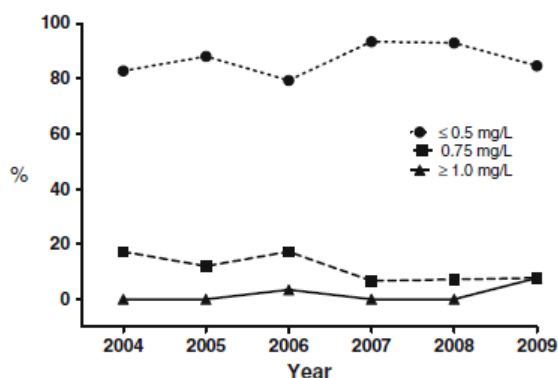
Year	Number of strains	Geometric mean (mg/L)	MIC range (mg/L)	MIC <sub>50</sub> (mg/L)	MIC <sub>90</sub>	MIC $\geq 1$ mg/L (%)
2004	29	0.47	0.25–0.75	0.5	0.75	0
2005	25	0.44	0.25–0.75	0.38	0.75	0
2006	29	0.48	0.25–1.0	0.5	0.75	3.45
2007	30	0.46	0.25–0.75	0.5	0.5	0
2008	28	0.46	0.38–0.75	0.5	0.5	0
2009	13	0.51	0.38–1.0	0.5	0.75	7.69

Para os isolados de MRSA da cidade B, os valores de CMI de vancomicina variam de 0,25 mg/L até 1,0 mg/L, ou seja, encontram-se dentro do intervalo de suscetibilidade. É possível observar que a média geométrica dos valores de CMI de vancomicina não apresentou grandes alterações durante o período de estudo, sendo de 0,47 mg/L em 2004 e de 0,51 mg/L em 2009. Também os valores de CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> não sofreram grandes



oscilações. Quanto à percentagem de isolados de MRSA com CMI de vancomicina  $\geq 1$  mg/L, foi nula em quase todos os anos do período de estudo, exceto em 2006 e 2009, em que se registaram baixas proporções de isolados com CMI de vancomicina  $\geq 1$  mg/L.

Os dados apresentados na tabela 4.6 estão em conformidade com os da figura 4.7, onde está representada a distribuição dos valores de CMI de vancomicina dos isolados de MRSA, entre 2004 e 2009, na cidade B.



**Figura 4.7.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, obtidos por Etest entre 2004 e 2009, na cidade B. Adaptada de <sup>8</sup>.

Na figura 4.7, observa-se que não houve um aumento significativo nos valores de CMI de vancomicina dos isolados de MRSA, recolhidos na cidade B.

Concluindo, verifica-se que na cidade A os valores de CMI de vancomicina para os isolados de MRSA aumentaram significativamente ao longo do período de estudo, contudo na cidade B não se verifica essa tendência. Neste estudo, o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina é então um problema regional.

Um outro estudo publicado em 2011 foi realizado em Espanha<sup>32</sup>, num hospital de Barcelona, durante um período de 19 anos (1990-2008). Foram estudados pacientes com infeções da corrente sanguínea provocadas por MRSA, sendo incluídos 473 isolados de MRSA (provenientes de amostras de sangue) para determinação dos valores de CMI de vancomicina, através do método de microdiluição. Os valores de CMI de vancomicina obtidos para os isolados de MRSA e os dados estatísticos mais relevantes são apresentados na tabela 4.7.

**Tabela 4.7.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina, obtidos entre 1990 e 2008 em isolados de MRSA. Adaptada de <sup>32</sup>.

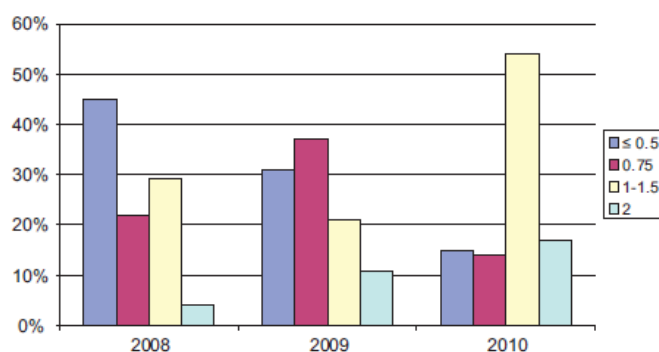
	<b>1st Period (1990–1994)</b>	<b>2nd Period (1995–1999)</b>	<b>3rd Period (2000–2004)</b>	<b>4th Period (2005–2008)</b>
	<b>No. (%)</b>	<b>No. (%)</b>	<b>No. (%)</b>	<b>No. (%)</b>
No. of episodes	92	76	168	137
Vancomycin MIC				
0.5 mg/L	-	6 (7.9)	8 (4.8)	32 (25.4)
1 mg/L	10 (10.9)	23 (30.3)	146 (86.9)	101 (73.7)
2 mg/L	69 (75.0)	45 (59.2)	14 (8.3)	4 (2.9)
4 mg/L	13 (14.1)	2 (2.6)	-	-
MIC <sub>50</sub> /MIC <sub>90</sub> (mg/L)	2/4	2/2	1/1	1/1
Interval (mg/L)	1–4	0.5–4	0.5–2	0.5–2
MIC geometric mean (mg/L)	2.04	1.48	1.02	0.88

Pela observação da tabela 4.7, verifica-se que apenas entre 1990 e 1999 se registaram isolados de MRSA com CMI de vancomicina fora do intervalo de suscetibilidade. Os intervalos de valores de CMI de vancomicina variaram de 1 a 4 mg/L no primeiro período; de 0,5 a 4 mg/L no segundo período e de 0,5 a 2 mg/L nos últimos 2 períodos. Também os valores de CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> diminuíram ao longo do período de estudo. Verificou-se também uma tendência significativa de diminuição nos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA, ao longo dos 4 períodos. Isso reflete-se nas médias geométricas dos valores de CMI de vancomicina, observando-se uma diminuição de 2,04 mg/L (1º período) para 0,88 mg/L (4º período).

Após a avaliação dos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA desde 1990 até 2008, não foi possível observar o fenômeno de “MIC Creep” para a vancomicina.

Em 2011, foi também publicado um estudo realizado no Reino Unido<sup>73</sup>, num hospital em Birmingham, entre Setembro de 2005 e Dezembro de 2007. Foram avaliados pacientes com bacteriemia provocada por MRSA, sendo selecionados 142 isolados para determinação dos valores de CMI de vancomicina, usando o método de Etest. Os valores de CMI de vancomicina obtidos variam entre 0,25 e 1,5 mg/L, estando portanto dentro do intervalo de suscetibilidade. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA era a seguinte: 0,25 mg/L para 4 isolados; 0,38 mg/L para 25 isolados; 0,5 mg/L para 59 isolados; 0,75 mg/L para 23 isolados; 1 mg/L para 28 isolados e 1,5 mg/L para 3 isolados. Portanto, mais de 75% dos isolados de MRSA apresenta uma CMI de vancomicina abaixo de 1 mg/L.

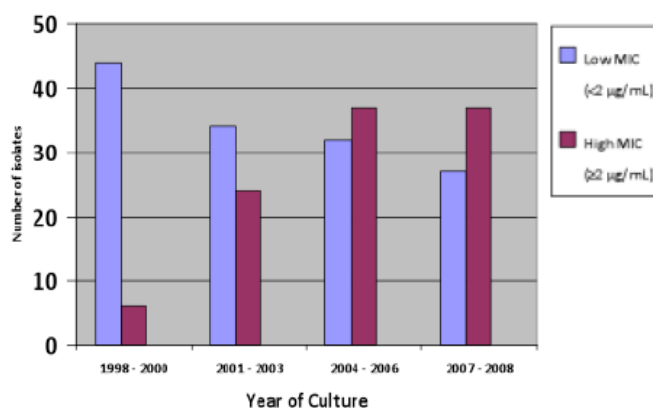
Em Itália, foi publicado um estudo<sup>76</sup> realizado num hospital em Génova, entre 2008 e 2010. Este estudo avaliou pacientes com bacteriemia, sendo obtidos 359 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue. Os valores de CMI de vancomicina destes isolados foram determinados pelo método de Etest e são apresentados na figura 4.8.



**Figura 4.8.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, obtidos por Etest entre 2008 e 2010. Adaptada de <sup>76</sup>.

Durante o período de estudo, observa-se uma variação nos valores de CMI de vancomicina. Esse fenómeno resulta, essencialmente, de uma diminuição na proporção de isolados de MRSA com  $CMI \leq 0,5$  mg/L (45% em 2008 para 15% em 2010) e de um aumento na proporção de isolados de MRSA com  $CMI \geq 1,0$  mg/L (33% em 2008 para 71% em 2010). Particularmente, a proporção de isolados de MRSA com  $CMI = 2,0$  mg/L aumentou de 4% em 2008 para 17% em 2010. Não se identificaram isolados de MRSA com CMI de vancomicina superior a 2 mg/L, portanto todos os isolados eram suscetíveis à vancomicina. Pela análise dos dados do estudo, pode-se afirmar que existe uma tendência de aumento dos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA e, portanto, verifica-se o fenómeno de “MIC Creep”.

Ainda em 2011, foi publicado um estudo realizado nos Estados Unidos da América<sup>84</sup>, num hospital em Dakota do Norte, entre Janeiro de 1998 e Dezembro de 2008. Foram incluídos 241 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue, feridas ou infeções relacionadas com cateteres. Os valores de CMI de vancomicina desses isolados foram determinados por um sistema automatizado (Vitek) e são apresentados na figura 4.9, separados em 2 grupos ( $CMI < 2$  µg/mL e  $CMI \geq 2$  µg/mL).



**Figura 4.9.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, obtidos em isolados de MRSA entre 1998 e 2008. Adaptada de<sup>84</sup>.

Através da figura 4.9, é possível verificar que ao longo de todo o período houve um aumento no número de isolados de MRSA com CMI  $\geq 2$   $\mu\text{g/mL}$ : 6 (1998-2000), 24 (2001-2003), 37 (2004-2006) e 37 (2007-2008). Em contraste, houve uma diminuição no número de isolados de MRSA com CMI  $< 2$   $\mu\text{g/mL}$ : 44 (1998-2000), 34 (2001-2003), 32 (2004-2006) e 27 (2007-2008). Desta forma, verifica-se que ao longo dos 11 anos de estudo (1998-2008) há uma tendência significativa de aumento nos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA.

Por último, em 2011 foi também publicado um estudo realizado na Austrália<sup>90</sup> num hospital de Sidney, entre 1997 e 2008. Foram considerados 417 isolados de MRSA provenientes de pacientes com infeções da corrente sanguínea. Os valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 3 métodos diferentes: Etest, Vitek 2 e BMD. Os dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos em isolados de MRSA, entre 1997 e 2008, estão representados na tabela 4.8.

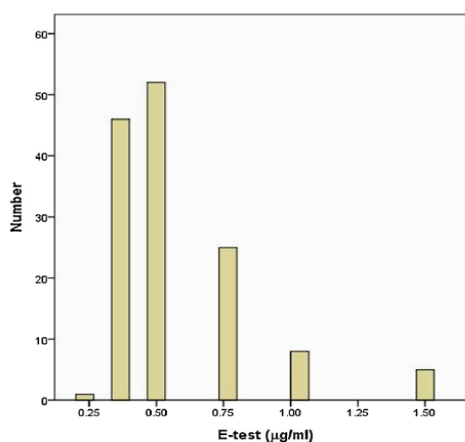
**Tabela 4.8.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina, obtidos por diferentes métodos entre 1997 e 2008. Adaptada de <sup>90</sup>.

	1997-98	1999-2000	2001-02	2003-04	2005-06	2007-08
<b>Vancomycin MIC creep<sup>b</sup></b>						
<b>BMD</b>						
geometric mean MIC	1.27	1.06	1.32	1.02	1.28	1.08
frequency of isolates $\geq 2$ mg/L	6%	0%	32%	8%	12%	0%
modal MIC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<b>Etest</b>						
geometric mean MIC	0.96	0.90	1.26	1.01	1.02	1.42
frequency of isolates $\geq 2$ mg/L	6%	0%	34%	10%	12%	19%
modal MIC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<b>Vitek2<sup>®</sup></b>						
geometric mean MIC	0.68	0.87	0.97	0.98	0.79	0.92
frequency of isolates $\geq 2$ mg/L	6%	7%	7%	12%	8%	9%
modal MIC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Através da observação da tabela 4.8, pode-se verificar que em qualquer um dos 3 métodos, a média geométrica dos valores de CMI de vancomicina oscila ao longo dos anos, não se verificando uma tendência crescente nem decrescente, mas sim variações aleatórias. O valor modal de CMI manteve-se estável durante todo o período.

Pelo método de Etest, poderia considerar-se que ocorre o fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina entre 2003 e 2008, pois verifica-se um aumento gradual da média geométrica dos valores de CMI e um aumento na proporção de isolados com CMI  $\geq 2$  mg/L. Contudo, considerando o período de 1997 a 2008 essa tendência não é observada.

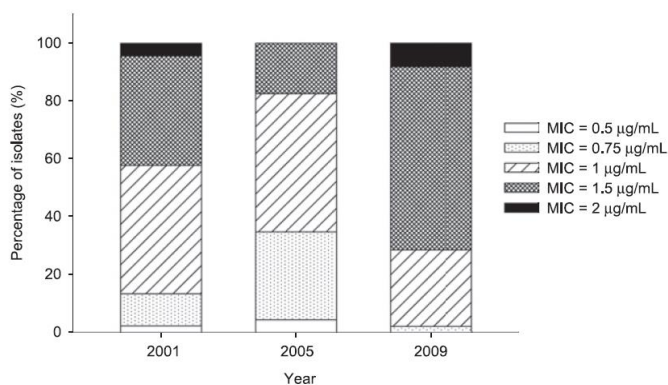
Durante o ano de 2012 foram publicados 6 estudos de interesse. Um deles foi realizado na Coreia do Sul<sup>61</sup> em 2 grandes hospitais universitários, entre 2009 e 2010. Foram estudados 137 isolados de MRSA provenientes de pacientes com bacteriemia, os seus valores de CMI de vancomicina foram determinados através do método de Etest e encontram-se representados na figura 4.10.



**Figura 4.10.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest, nos 137 isolados de MRSA. Adaptada de <sup>61</sup>.

Observando a figura 4.10, pode-se verificar que a maioria dos isolados apresenta uma CMI de vancomicina inferior a 0,75 µg/mL. 13 dos 137 isolados apresentam uma CMI de vancomicina ≥1 µg/mL, 124 isolados apresentam uma CMI de vancomicina <1 µg/mL e não há qualquer isolado com CMI ≥2 µg/mL. Durante este período, observaram-se muito poucos isolados com valores elevados de CMI de vancomicina.

Outro dos estudos foi realizado em Taiwan<sup>9</sup> num hospital em Taipei, entre 2000 e 2010. Foram estudados 140 isolados de MRSA provenientes de pacientes com bacteriemia e os valores de CMI de vancomicina foram determinados através do Etest. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtidos em 2001, 2005 e 2009 está representada na figura 4.11.



**Figura 4.11.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest, em 2001, 2005 e 2009. Adaptada de <sup>9</sup>.

Através da figura 4.11, é possível observar que houve uma diminuição na percentagem de isolados de MRSA com CMI <1,5 µg/mL (57,8% em 2001 para 28,6% em 2009) e um aumento na percentagem de isolados de MRSA com CMI ≥1,5 µg/mL (42,2% em 2001 para 71,4% em 2009). Esses dados são também apresentados na tabela 4.9, juntamente com outros dados estatísticos relativos aos valores de CMI de vancomicina.

**Tabela 4.9.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest, em 2001, 2005 e 2009. Adaptada de <sup>9</sup>.

Year	Number of strains	MIC <sub>50</sub> (µg/mL)	MIC <sub>90</sub> (µg/mL)	MIC < 1.5 µg/mL, n (%)	MIC ≥ 1.5 µg/mL, n (%)	Geometric mean (µg/mL)
2001	45	1	1.5	26 (57.8)	19 (42.2)	1.19 ± 0.34
2005	46	1	1.5	38 (82.6)	8 (17.4)	0.99 ± 0.27
2009	49	1.5	1.5	14 (28.6)	35 (71.4)	1.39 ± 0.30

O valor de CMI<sub>90</sub> dos isolados de MRSA não apresentou alterações ao longo do período de estudo, sendo de 1,5 µg/mL, enquanto o valor de CMI<sub>50</sub> dos isolados de MRSA era de 1 µg/mL em 2001 e 2005, aumentando para 1,5 µg/mL em 2009. A média geométrica dos valores de CMI de vancomicina foi 1,19 µg/mL em 2001; 0,99 µg/mL em 2005 e 1,39 µg/mL em 2009, com o último ano a apresentar um crescimento significativo em relação aos anos anteriores. Neste estudo, identifica-se o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina, em isolados de MRSA provenientes de pacientes com bacteriemia, ao longo dos 3 períodos de estudo.

Na Europa foram publicados 3 estudos de interesse em 2012 (2 deles publicados em Espanha e 1 no Reino Unido). Um dos estudos publicados em Espanha<sup>71</sup> foi realizado num hospital universitário em Madrid, entre Janeiro de 2005 e Dezembro de 2009. Foram estudados 361 isolados de MRSA provenientes de 309 pacientes com bacteriemia. Os valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 2 métodos, Etest e microdiluição, sendo apresentados na tabela 4.10.

**Tabela 4.10.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest e microdiluição, em 361 isolados de MRSA. Adaptada de <sup>71</sup>.

Microdilution	Etest					
	0.75	1	1.5	2	2.5	3
0.25	1 (50%)	1 (50%)	0	0	0	0
0.5	4 (2.8%)	64 (45.4%)	59 (41.8%)	12 (8.5)	2 (1.4%)	0
1	6 (2.9%)	45 (22%)	124 (60.5%)	23 (11.2%)	6 (2.9%)	1 (0.5%)
≥2	0	0	11 (84.6%)	1 (7.7%)	0	1 (7.7%)

Neste estudo regista-se a ocorrência de isolados de MRSA com CMIs de vancomicina fora do intervalo de suscetibilidade definido pelo CLSI. Observa-se também que os valores de CMI de vancomicina são geralmente superiores quando determinados pelo método de Etest.

Relativamente à microdiluição, a percentagem de isolados de MRSA com CMIs de vancomicina <1 mg/L corresponde a 39,6% (143 isolados), enquanto que a percentagem de isolados de MRSA com CMIs de vancomicina ≥1 mg/L corresponde a 60,4% (218 isolados).

Relativamente ao Etest, a percentagem de isolados de MRSA com CMIs de vancomicina <1,5 mg/L corresponde a 33,5% (121 isolados), enquanto que a percentagem de isolados de MRSA com CMIs de vancomicina ≥1,5 mg/L corresponde a 66,5% (240 isolados).

Apesar de existir uma grande percentagem de isolados de MRSA com valores elevados de CMI de vancomicina pelo método de microdiluição e pelo método de Etest, nada se pode inferir sobre a existência do fenómeno de “MIC Creep”, pois os dados não se encontram estratificados por períodos.

Outro estudo foi registado no sul de Espanha<sup>70</sup>, tendo sido realizado em 10 hospitais da Andaluzia entre Março de 2008 e Julho de 2010. Foram estudados 98 isolados de MRSA provenientes de pacientes com bacteriemia e os valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 2 métodos: Etest e BMD. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina dos isolados de MRSA é apresentada na tabela 4.11.

**Tabela 4.11.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest e BMD, em 98 isolados de MRSA. Adaptada de <sup>70</sup>.

Vancomycin MIC on BMD	Vancomycin MIC on E-test			
	0.75 mg/L	1 mg/L	1.5 mg/L	2 mg/L
0.5 mg/L	7	9	3	0
1 mg/L	2	35	33	4
2 mg/L	0	2	3	0

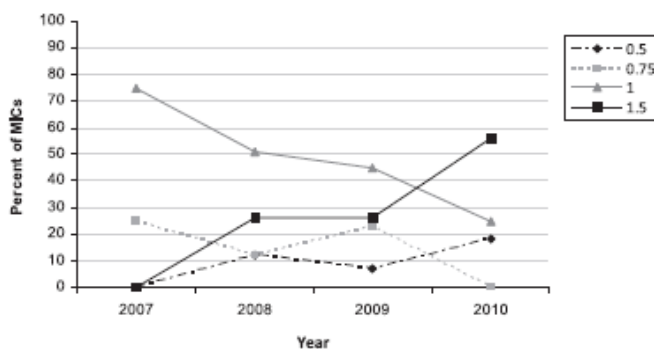
Todos os isolados de MRSA apresentam valores de CMI de vancomicina dentro do intervalo de suscetibilidade, definido pelo CLSI e a prevalência de isolados com CMI de vancomicina igual a 2 mg/L é relativamente baixa.

Pelo método de Etest, 55 isolados (56,1%) apresentam valores de CMI de vancomicina <1,5 mg/L, enquanto que 43 isolados (43,9%) apresentam valores de CMI de vancomicina ≥1,5 mg/L. Pelo método de BMD, 19 isolados (19,4%) apresentam valores de CMI de vancomicina <1 mg/L, enquanto que 79 isolados (80,6%) apresentam valores de CMI de vancomicina ≥1 mg/L. Comparando os dados obtidos pelos 2 métodos, verifica-se que 40 dos 43 isolados que apresentam valores de CMI de vancomicina >1 mg/L pelo Etest, apresentam valores ≤1 mg/L pelo método de BMD.

Apesar de existir uma grande percentagem de isolados de MRSA com valores elevados de CMI de vancomicina, pelos 2 métodos utilizados, nada se pode inferir sobre a existência do fenómeno de “MIC Creep”.



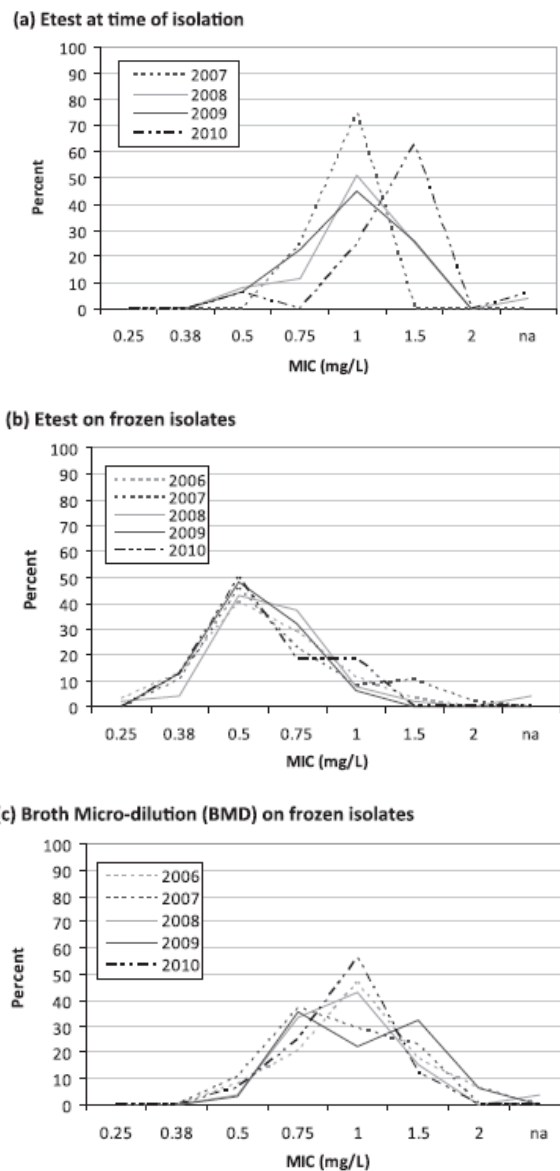
Em 2012, foi publicado um estudo no Reino Unido<sup>74</sup> realizado num hospital universitário em Aberdeen (Escócia), entre Janeiro de 2006 e Dezembro de 2010. Durante os 5 anos, foram estudados 206 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue e os valores de CMI de vancomicina foram determinados por 3 métodos diferentes: Etest, BMD e um sistema automatizado (Vitek 2). A distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest no momento de isolamento, entre 2007 e 2010, está representada na figura 4.12.



**Figura 4.12.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest no momento de isolamento, entre 2007 e 2010. Adaptada de <sup>74</sup>.

Entre 2007 e 2010, 99 isolados de MRSA foram submetidos no momento de isolamento, para determinação dos valores de CMI de vancomicina, por Etest. Através da figura 4.12, verifica-se que ao longo do período houve um aumento acentuado na percentagem de isolados de MRSA com CMI de vancomicina igual a 1,5 mg/L (0% em 2007 para 56% em 2010) e um decréscimo na percentagem de isolados de MRSA com CMI de vancomicina igual a 1 mg/L (cerca de 75% em 2007 para cerca de 25% em 2010).

Na figura 4.13, estão representadas as distribuições dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest no momento de isolamento, por Etest em isolados congelados e por BMD em isolados congelados.



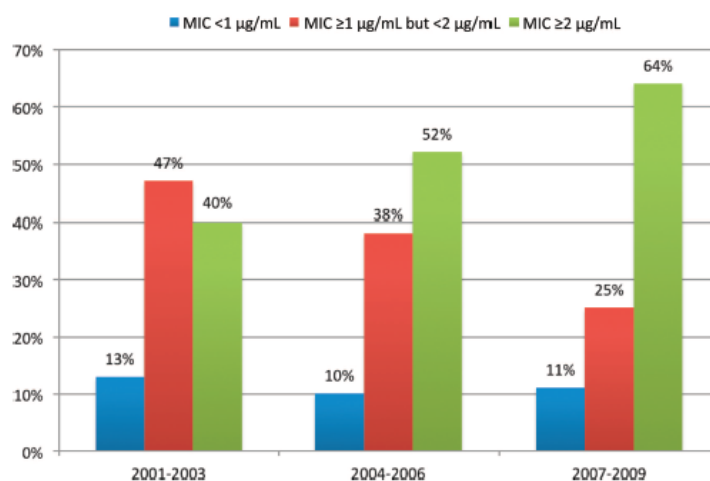
**Figura 4.13.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtidos por Etest no momento de isolamento (a), por Etest em isolados congelados (b) e por BMD em isolados congelados (c). Adaptada de <sup>74</sup>.

Também através desta figura, se pode verificar a existência do fenômeno de “MIC Creep” em isolados de MRSA, quando a determinação dos valores de CMI foi realizada por Etest no momento de isolamento. O mesmo não acontece quando a determinação da CMI de vancomicina foi realizada por Etest ou por BMD, em isolados congelados. As distribuições dos valores de CMI de vancomicina determinados em isolados congelados por Etest ou BMD, ou pelo Vitek 2 no momento de isolamento parecem manter-se estáveis ao longo dos anos.

Portanto, apenas há evidência do fenômeno de “MIC Creep” quando os valores de CMI de vancomicina foram determinados por Etest, no momento de isolamento. Os resultados

deste estudo mostram que o armazenamento de isolados pode afetar significativamente os valores de CMI, o que pode obscurecer tendências de suscetibilidade.

Por último, em 2012 foi publicado um estudo nos Estados Unidos da América<sup>85</sup>. Esse estudo foi realizado num hospital universitário do Texas, entre Janeiro de 2001 e Junho de 2009, tendo envolvido 250 pacientes oncológicos, que desenvolveram infeções da corrente sanguínea, provocadas por MRSA. Os isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue foram avaliados por Etest, para determinar os valores de CMI de vancomicina. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina dos isolados de MRSA, entre 2001 e 2009, está representada na figura 4.14.



**Figura 4.14.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, obtidos por Etest entre 2001 e 2009. Adaptada de <sup>85</sup>.

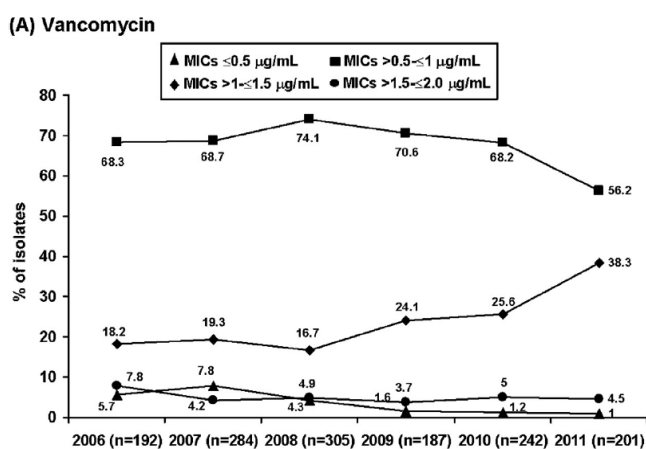
Pela observação da figura 4.14, verifica-se que a percentagem de isolados de MRSA com CMI de vancomicina <math>< 1 \mu g/mL</math> manteve-se estável ao longo dos períodos, enquanto houve uma diminuição na percentagem de isolados de MRSA com CMI de vancomicina <math>\geq 1 \mu g/mL</math> mas <math>< 2 \mu g/mL</math> (47% em 2001-2003, 38% em 2004-2006 e 25% em 2007-2009) e verificou-se um aumento na percentagem de isolados de MRSA com CMI de vancomicina <math>\geq 2 \mu g/mL</math> (40% em 2001-2003, 52% em 2004-2006 e 64% em 2007-2009). Logo, pode afirmar-se que estamos perante o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina.

Em 2013 foram publicados 4 estudos de interesse. Um deles foi realizado na China<sup>54</sup>, em 6 hospitais, desde Janeiro de 2006 a Dezembro de 2011. Foram estudados 1411 isolados de MRSA, provenientes de diversas fontes, tais como trato respiratório, sangue, secreções, pus e feridas, urina, entre outras. Os valores de CMI de vancomicina foram determinados pelo método de BMD, conforme recomendado pelo CLSI e os dados estatísticos relativos a esses valores são apresentados na tabela 4.12.

**Tabela 4.12.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos por BMD, entre 2006 e 2011, em 1411 isolados de MRSA. Adaptada de <sup>54</sup>.

Antimicrobial agent	Year	No. of isolates	MIC (mg/L)			
			GM	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	Range
Vancomycin	2006	192	0.906	1	1.5	0.25–2.0
	2007	284	0.952	1	1.5	0.25–2.0
	2008	305	0.956	1	1.5	0.25–2.0
	2009	187	0.947	1	1.5	0.375–2.0
	2010	242	1.013	1	1.5	0.375–2.0
	2011	201	1.040	1	1.5	0.125–2.0
	Total	1411	0.968	1	1.5	0.125–2.0

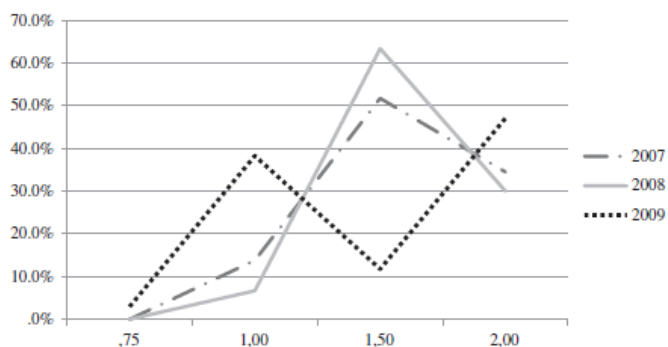
Pela observação da tabela, verifica-se que o valor de CMI<sub>50</sub> e de CMI<sub>90</sub> não sofreu alterações ao longo dos anos. Também o intervalo de valores de CMI de vancomicina não apresentou grandes alterações, ao longo de todo o período de estudo. De acordo com o CLSI, todos os isolados de MRSA estudados eram suscetíveis à vancomicina. A média geométrica dos valores de CMI de vancomicina dos isolados de MRSA foi de 0,906 mg/L em 2006; 0,952 mg/L em 2007; 0,956 mg/L em 2008; 0,947 mg/L em 2009; 1,013 mg/L em 2010 e 1,040 mg/L em 2011. Observa-se, portanto, uma tendência crescente desde 2006 (0,906 mg/L) até 2011 (1,040 mg/L). É também apresentada na figura 4.15, a distribuição de valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, entre 2006 e 2011.



**Figura 4.15.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, obtidos por BMD entre 2006 e 2011. Adaptada de <sup>54</sup>.

Observando a figura 4.15, é possível verificar que houve um aumento significativo na percentagem de isolados com CMI de vancomicina  $>1$  mg/L e  $\leq 1,5$  mg/L de 18,2% em 2006 para 38,3% em 2011 e que a percentagem de isolados com CMI de vancomicina  $>0,5$  mg/L e  $\leq 1$  mg/L diminuiu de 74,1% em 2008 para 56,2% em 2011. Assim, neste estudo observa-se a existência do fenómeno “MIC Creep” para vancomicina em isolados de MRSA.

Foi também publicado em 2013, um estudo realizado em Portugal<sup>78</sup> num hospital universitário em Lisboa, entre Janeiro de 2007 e Dezembro de 2009. Foram estudados 93 isolados de MRSA provenientes de diversas fontes, tais como, infeções da corrente sanguínea, do trato respiratório, entre outras. Para determinar os valores de CMI de vancomicina foi usado o método de Etest. A distribuição de valores de CMI de vancomicina relativa aos 93 isolados de MRSA é apresentada na figura 4.16.



**Figura 4.16.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, entre 2007 e 2009. Adaptada de <sup>78</sup>.

Dos 93 isolados de MRSA, 1 isolado (1,1%) apresentava uma CMI de vancomicina de 0,75 mg/L, 19 isolados (20,4%) apresentavam uma CMI de vancomicina de 1 mg/L, 38 isolados (40,9%) apresentavam uma CMI de vancomicina de 1,5 mg/L e 35 isolados (37,6%) apresentavam uma CMI de vancomicina de 2 mg/L. Nenhum isolado de MRSA apresentava uma CMI de vancomicina  $>2$  mg/L.

Apesar de haver uma grande percentagem de isolados com valores de CMI de vancomicina elevados, nada se pode concluir acerca da existência do fenómeno de “MIC Creep”. Durante os 3 anos do período de estudo, observa-se uma flutuação nos valores de CMI de vancomicina, contudo não se observa nenhuma tendência crescente.

Em 2013, foram publicados 2 estudos de interesse na Turquia. Um deles<sup>68</sup> foi realizado num hospital universitário em Ancara, durante um período de 11 anos. Foram estudados 299 isolados de MRSA, correspondentes a amostras de sangue colhidas entre 1999 e 2009. Os

valores de CMI de vancomicina nesses isolados foram determinados por 2 métodos: Etest e BMD. Os dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos por BMD e Etest, entre 1999 e 2009 são apresentados na tabela 4.13.

**Tabela 4.13.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos por BMD e Etest, entre 1999 e 2009. Adaptada de <sup>68</sup>.

Year	Number of strains	MIC <sub>50</sub> (mg/L)		MIC <sub>90</sub> (mg/L)		MIC range (mg/L)		Modd MIC (mg/L)		Geometric mean MIC	
		BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest
1999	14	1	1	2	2	1-2	0.5-2	1	1	1.16	0.88
2000	33	1	1	2	2	1-2	0.5-2	1	1	1.23	1.06
2001	28	1	1	2	2	1-2	0.5-2	1	1	1.28	1.15
2002	23	1	1	2	2	1-2	0.5-2	1	1	1.16	1.04
2003	28	1	1	2	2	0.5-2	0.5-2	1	1	1.13	1.14
2004	19	1	1	2	2	0.5-2	1-2	1	1	1.16	1.23
2005	42	1	1	2	2	0.5-4	0.5-2	1	1	1.24	1.15
2006	47	1	1	2	2	1-2	0.5-2	1	1	1.18	1.13
2007	29	1	2	2	2	1-2	0.5-2	1	2	1.13	1.17
2008	21	1	1	1	2	0.5-1	0.5-2	1	1	0.97	1.13
2009	15	1	1	2	2	1-2	0.5-2	1	1	1.10	0.93

Pela observação da tabela 4.13, verifica-se que o valor de CMI<sub>50</sub> permaneceu constante (1 mg/L) ao longo de todo o período, excepto em 2007 (pelo método de Etest). O valor de CMI<sub>90</sub> também permaneceu constante (2 mg/L) ao longo de todo o período, excepto em 2008 (pelo método de BMD). Os valores modais de CMI também permaneceram constantes (1 mg/L) ao longo de todo o período, excepto em 2007 (pelo método de Etest).

Pelo método de Etest, o intervalo de valores de CMI de vancomicina foi sempre 0,5 a 2 mg/L, excepto em 2004 (1-2 mg/L). Pelo método de BMD, o intervalo de valores de CMI de vancomicina foi oscilando ao longo dos anos, tendo sido 0,5 a 4 mg/L em 2005. Nesse ano, foi identificado um isolado de MRSA com suscetibilidade intermédia à vancomicina.

Comparando a média geométrica dos valores de CMI de vancomicina, verifica-se uma variação de 0,97 até 1,28 pelo método de BMD e uma variação de 0,88 até 1,23 pelo método de Etest. Por qualquer um dos 2 métodos, observa-se uma flutuação de valores de ano para ano, no entanto não é possível verificar uma tendência crescente e evidenciar a existência do fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina.

O outro estudo publicado na Turquia<sup>69</sup> foi realizado em 7 hospitais universitários, entre 2009 e 2010. Foram estudados 175 isolados de MRSA, correspondentes a amostras de sangue e os seus valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 2 métodos: Etest e BMD. Os dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos nos 175 isolados de MRSA são apresentados na tabela 4.14.

**Tabela 4.14.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos por BMD e Etest, em 175 isolados de MRSA. Adaptada de <sup>69</sup>.

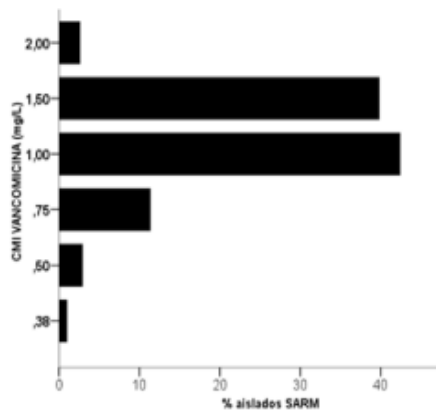
Drug-Method	Cumulative % of isolates with the following MIC (µg/ml):											MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MIC range	
	0.06	0.094	0.125	0.19	0.25	0.38	0.5	0.75	1	1.5	2				
Vancomycin-BMD <sup>1</sup> (n)							1			103		71	1	2	0.5-2
(%)							0.6			59.4		100			
Vancomycin-Etest (n)						2	13	44	86	28	2	1	2	0.5-2	
(%)						1.1	8.6	33.7	82.9	98.9	100				

Relativamente à vancomicina, o valor de CMI<sub>50</sub>, o valor de CMI<sub>90</sub> e o intervalo de valores de CMI foram 1, 2 e 0,5–2 µg/mL, respetivamente, pelos dois métodos (BMD e Etest).

Pelo método de BMD, os valores de CMI de vancomicina foram ≤1 µg/mL para 104 isolados (59,4%) e >1 µg/mL para 71 isolados (40,6%). Pelo método de Etest, os valores de CMI de vancomicina foram ≤1 µg/mL para 145 isolados (82,9%) e >1 µg/mL para 30 isolados (17,1%). Considerando apenas estes dados, nada é possível concluir sobre a existência do fenómeno de “MIC Creep” neste estudo.

Em 2014 foram publicados 2 estudos de interesse. Um deles foi realizado em Espanha<sup>72</sup>, em 8 hospitais da Comunidade Autónoma de Estremadura, entre Janeiro e Dezembro de 2010. Foram estudados 309 isolados de MRSA provenientes de diversas fontes, tais como, amostras colhidas do trato respiratório, sangue, urina, entre outras.

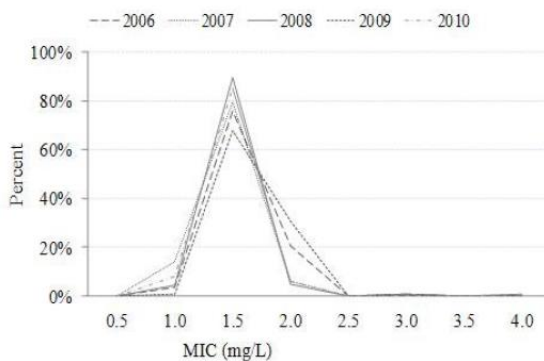
Os valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA foram determinados pelo método de Etest, apresentando um intervalo entre 0,38 e 2 mg/L e uma média de 1,176 mg/L. Apenas 8 isolados (2,6%) apresentavam um CMI de vancomicina de 2 mg/L e 123 isolados (39,8%) apresentavam uma CMI de 1,5 mg/L, ou seja, 131 isolados (42,4%) apresentavam valores de CMI de vancomicina >1 mg/L. Os restantes 178 isolados (57,6%) apresentavam valores de CMI de vancomicina ≤1 mg/L, sendo que grande parte destes apresenta um valor de CMI=1 mg/L. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtida está representada na figura 4.17.



**Figura 4.17.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, durante 2010. Adaptada de <sup>72</sup>.

Acerca da existência do fenómeno de “MIC Creep”, nada pode ser concluído devido ao curto período de estudo.

O outro estudo foi realizado nos Estados Unidos da América<sup>86</sup>, num hospital universitário em Detroit, entre Janeiro de 2006 e Dezembro de 2010. Foram estudados 718 isolados de MRSA, provenientes de amostras de sangue de pacientes com infeções da corrente sanguínea/bacteriemia. Os valores de CMI de vancomicina foram determinados pelo método de Etest e a sua distribuição encontra-se representada na figura 4.18.



**Figura 4.18.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA, entre 2006 e 2010. Adaptada de <sup>86</sup>.

Pela observação da figura 4.18, verifica-se que ao longo de todo o período não houve alterações significativas na distribuição dos valores de CMI de vancomicina.

A tabela abaixo (Tabela 4.15) apresenta os dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos nos isolados de MRSA, entre 2006 e 2010 e encontra-se em concordância com a figura 4.18.

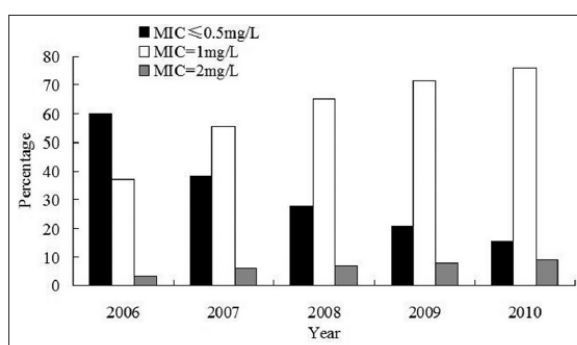


**Tabela 4.15.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos em isolados de MRSA, entre 2006 e 2010. Adaptada de <sup>86</sup>.

Drug	Year	N	Arithmetic mean (SD)	Geometric mean	Range	Mode	Median
Vancomycin	All	718	1.55 (0.26)	1.53	1.00 - 4.00	1.50	1.50
	2006	132	1.58 (0.23)	1.57	1.00 - 2.00	1.50	1.50
	2007	136	1.47 (0.26)	1.45	1.00 - 3.00	1.50	1.50
	2008	162	1.53 (0.27)	1.51	1.00 - 4.00	1.50	1.50
	2009	137	1.66 (0.26)	1.64	1.00 - 3.00	1.50	1.50
	2010	151	1.50 (0.22)	1.48	1.00 - 3.00	1.50	1.50

Na tabela 4.15 são apresentados os valores da moda e da mediana, que se mantiveram constantes ao longo de todo o período (1,5 mg/L). Os intervalos de valores de CMI de vancomicina sofreram alterações no limite superior ao longo dos anos, sendo que em 2008 foi de 1–4 mg/L. Os valores das médias aritméticas e médias geométricas sofreram oscilações ao longo dos 5 anos, contudo não se verifica uma tendência crescente desses valores. Portanto, através dos dados disponibilizados verifica-se que não existe o fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina nos isolados de MRSA em estudo.

Em 2015 foram publicados 7 estudos de interesse, dos quais 4 foram realizados na Ásia. Um deles foi realizado na China<sup>55</sup>, num hospital universitário entre Janeiro de 2006 e Dezembro de 2010. O estudo envolveu 1132 isolados de MRSA provenientes de pacientes com infecções da corrente sanguínea e os seus valores de CMI de vancomicina foram determinados pelo método de BMD. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA, durante o período de 5 anos está representada na figura 4.19.



**Figura 4.19.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, entre 2006 e 2010. Adaptada de <sup>55</sup>.

Todos os isolados de MRSA apresentavam valores de CMI de vancomicina dentro do intervalo de suscetibilidade, definido pelo CLSI. Contudo, é possível verificar que a percentagem de isolados com CMI de vancomicina = 1 mg/L aumentou significativamente de

37,0% em 2006 para 75,7% em 2010. Em contraste, a percentagem de isolados com CMI de vancomicina  $\leq 0,5$  mg/L diminuiu significativamente de 59,8% em 2006 para 15,5% em 2010. Neste estudo, o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina é notável, como se pode observar através da figura 4.19.

Na Índia foram realizados 2 estudos de interesse, publicados em 2015. Um deles<sup>64</sup> foi realizado num hospital universitário, localizado no norte da Índia, entre 2009 e 2012. Foram estudados 776 isolados de MRSA provenientes de diversas fontes, tais como sangue, feridas, abscessos, expetoração, urina e outros fluidos. Os valores de CMI de vancomicina desses isolados foram determinados pelo método de Etest, ao longo dos 4 anos e os dados estatísticos são apresentados na tabela 4.16.

**Tabela 4.16.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos em isolados de MRSA, entre 2009 e 2012. Adaptada de <sup>64</sup>.

Antibiotic	Year	Modal MIC	Median MIC	Geometric mean	Mean
Vancomycin	2009	0.8	1.0	0.93	1.06
	2010	1.5	1.0	0.94	1.09
	2011	1.5	1.0	1.13	1.2
	2012	1.5	1.5	1.29	1.41

O valor modal da CMI de vancomicina foi 0,8 mg/L em 2009 e 1,5 mg/L nos anos seguintes, enquanto o valor da mediana da CMI de vancomicina foi 1,0 mg/L entre 2009 e 2011 e aumentou para 1,5 mg/L em 2012.

O valor das médias geométricas de CMI de vancomicina aumentou significativamente ao longo do período, desde 0,93 mg/L em 2009 até 1,29 mg/L em 2012. Este aumento resulta, sobretudo, de uma diminuição na percentagem de isolados com CMI de vancomicina =1 mg/L (35,1% em 2009 para 20,8% em 2012) e de um aumento na percentagem de isolados com CMI de vancomicina =1,5 mg/L (22,1% em 2009 para 35,1% em 2012).

Neste estudo, verifica-se um aumento significativo nos valores de CMI de vancomicina entre os isolados de MRSA, ao longo dos 4 anos. Portanto, estamos perante o fenómeno de “MIC Creep”.

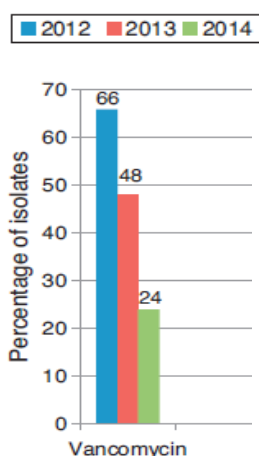
O outro estudo realizado na Índia<sup>65</sup> decorreu num hospital do sul do país, entre Janeiro de 2012 e Dezembro de 2014. Foram estudados 200 isolados de MRSA provenientes de diferentes amostras clínicas, tais como pus, sangue, feridas, tecidos, entre outras e os seus valores de CMI de vancomicina foram determinados pelo método de Etest. Na tabela 4.17, são apresentados os valores de CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> de vancomicina, ao longo dos 3 anos.

**Tabela 4.17.** Valores de CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> de vancomicina obtidos nos 200 isolados de MRSA, entre 2012 e 2014. Adaptada de <sup>65</sup>.

Table 1 – MIC <sub>50</sub> and MIC <sub>90</sub> of anti-MRSA drugs.					
Antibiotics	MIC values	2012 (n = 62)	2013 (n = 63)	2014 (n = 75)	Total (n = 200)
Vancomycin	MIC <sub>50</sub>	0.75	1	1.5	1
	MIC <sub>90</sub>	2	2	2	2

Neste estudo, o valor de CMI<sub>90</sub> de vancomicina foi 2 mg/L ao longo dos 3 anos, enquanto o valor de CMI<sub>50</sub> foi 0,75 mg/L em 2012; 1 mg/L em 2013 e 1,5 mg/L em 2014; ou seja, verificou-se um aumento progressivo deste valor ao longo do período de 3 anos.

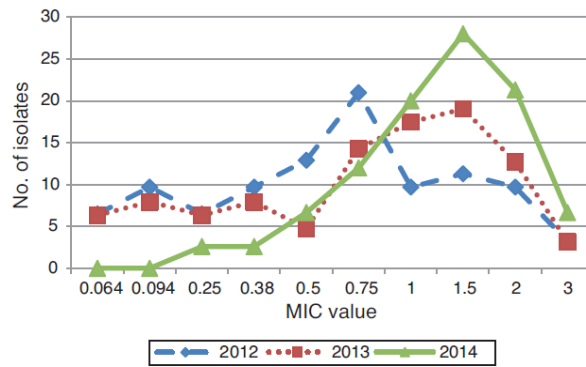
Relativamente à vancomicina, durante o período de estudo também foi calculada a percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI menores ou iguais ao valor da mediana de CMI do ano de referência (2012). Em 2012, o valor da mediana de CMI de vancomicina foi 0,75 mg/L. Os dados relativos a esta questão são apresentados na figura 4.20.



**Figura 4.20.** Percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina menores ou iguais ao valor da mediana de CMI do ano de referência (2012), entre 2012 e 2014. Adaptada de <sup>65</sup>.

Através da figura 4.20, observa-se que a diminuição na percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina menores ou iguais ao valor da mediana de CMI do ano de referência (2012) foi bastante notável e significativa, o que pode ser considerado um indicador da existência de “MIC Creep” neste estudo.

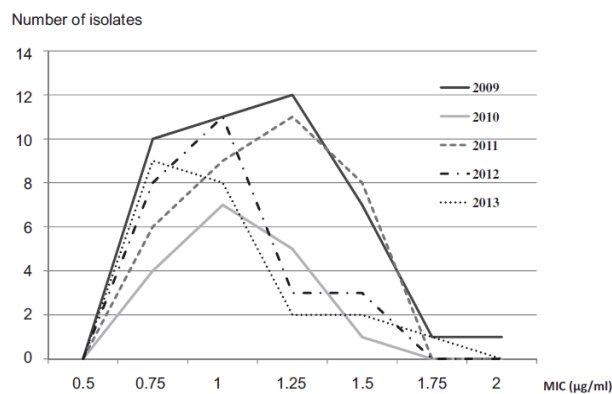
Na figura 4.21, encontra-se representada a distribuição dos valores de CMI de vancomicina obtida entre 2012 e 2014.



**Figura 4.21.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, entre 2012 e 2014. Adaptada de <sup>65</sup>.

Na figura 4.21 observa-se que os valores de CMI de vancomicina definitivamente aumentaram ao longo dos 3 anos. A proporção de isolados de MRSA com valores de CMI mais elevados foi superior em 2014 do que nos anteriores. Mais uma vez, pode afirmar-se que há evidência do fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina neste estudo.

No Japão, foi publicado um estudo<sup>62</sup> realizado num hospital universitário de Tóquio, entre Janeiro de 2009 e Dezembro de 2013. Este estudo abrangeu 140 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue de pacientes com bacteriemia. Os valores de CMI de vancomicina desses isolados foram determinados pelo método de BMD e a sua distribuição encontra-se representada na figura 4.22.



**Figura 4.22.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos 140 isolados de MRSA, entre 2009 e 2013. Adaptada de <sup>62</sup>.

O intervalo de valores de CMI de vancomicina obtido nos isolados de MRSA, durante o período de 5 anos, foi de 0,75 µg/mL até 2 µg/mL. Apenas um isolado apresentou uma CMI de vancomicina de 2 µg/mL, em 2009. Analisando a distribuição dos valores de CMI de

vancomicina nos 140 isolados de MRSA, verifica-se que este estudo não apresenta o fenómeno de “MIC Creep” ao longo do período de estudo.

Em 2015 foram publicados 2 estudos de interesse na Europa: 1 na Grécia e 1 em Itália. O estudo realizado na Grécia<sup>80</sup> envolveu 30 hospitais públicos (18 dos quais na região de Attica) e decorreu entre Abril de 2012 e Maio de 2013. Foram estudados 393 isolados de MRSA provenientes de várias fontes, tais como pus, sangue, secreções brônquicas ou expectoração, urina, entre outras. Os valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 2 métodos: um método automatizado (Vitek 2) e Etest. Na tabela 4.18 encontra-se a distribuição dos valores de CMI de vancomicina, assim como alguns dados estatísticos mais relevantes.

**Tabela 4.18.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina, CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> em isolados de *S. aureus*. Adaptada de <sup>80</sup>.

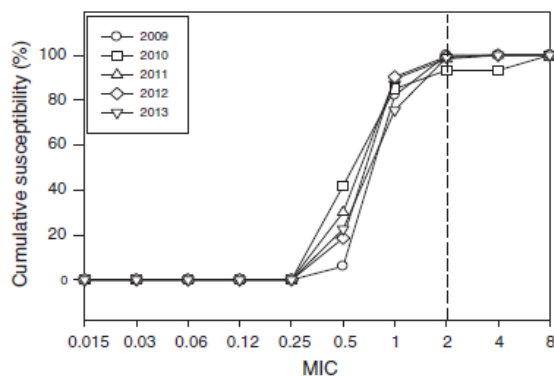
Antimicrobial agent/ Methicillin- resistance phenotype	MIC (mg/L) range tested/No of isolates with indicated MIC							MIC <sub>50</sub> (mg/L)	MIC <sub>90</sub> (mg/L)	
Vancomycin (VITEK 2)	≤0.5	1	2	4	8	16	≥32			
<i>S.aureus</i>	277	697	31					1	1	
MSSA	166	427	19					1	1	
MRSA	111	270	12					1	1	
Vancomycin (Etest)	≤0.5	0.75	1	1.5	2	3	4	8	16	≥32
<i>S.aureus</i>	16	68	333	500	87	1				
MSSA	9	42	200	307	54					
MRSA	7	26	133	193	33	1				
								1.5	1.5	
								1.5	1.5	
								1.5	1.5	

Usando o método Vitek 2, considerando os isolados de MRSA, pode verificar-se que apenas 3,1% dos isolados apresenta uma CMI de vancomicina >1 mg/L. O intervalo de valores de CMI de vancomicina foi ≤0,5-2 mg/L e os valores de CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> foram ambos 1 mg/L.

Usando o método de Etest, considerando os isolados de MRSA, pode verificar-se que 57,8% dos isolados apresenta uma CMI de vancomicina >1 mg/L. Um isolado de MRSA apresentava uma CMI de vancomicina de 3 mg/L e, portanto, foi classificado como VISA. O intervalo de valores de CMI de vancomicina foi ≤0,5-3 mg/L e os valores de CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> foram ambos 1,5 mg/L.

Desta forma, pode concluir-se que os valores de CMI de vancomicina obtidos pelo Etest são geralmente superiores aos valores obtidos pelo Vitek 2. Quanto ao fenómeno de “MIC Creep” não existem dados suficientes para avaliar a sua existência.

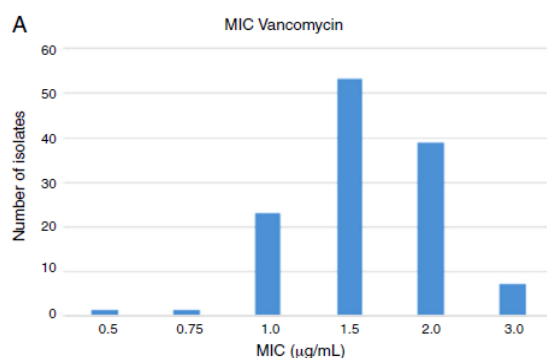
O estudo realizado em Itália<sup>77</sup> abrangeu 2 hospitais do nordeste do país e foi desenvolvido entre Janeiro de 2009 e Dezembro de 2013. Foram estudados 582 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue de pacientes com infeções da corrente sanguínea. Os seus valores de CMI de vancomicina foram determinados pelo método de BMD e a sua distribuição encontra-se representada na figura 4.23.



**Figura 4.23.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos 582 isolados de MRSA, entre 2009 e 2013. Adaptada de <sup>77</sup>.

Pela análise da figura 4.23, verifica-se que ao longo do período de 5 anos não houve alterações significativas na distribuição dos valores de CMI de vancomicina dos isolados de MRSA. Pode então afirmar-se que não se observa o fenómeno de “MIC Creep” neste estudo.

Em 2015, foi também publicado um estudo no Brasil<sup>88</sup>. Este estudo foi realizado em 2 hospitais de cidades diferentes, localizados no estado de Santa Catarina (Sul do Brasil) entre Novembro de 2009 e Fevereiro de 2013. Foram estudados 124 isolados de MRSA de pacientes provenientes de diversas fontes, tais como trato respiratório, ossos, sangue, feridas cirúrgicas, urina, abscessos, entre outras. Os valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 2 métodos: Etest e macrodiluição. Na figura 4.24, está representada a distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos 124 isolados de MRSA, determinados pelo método de Etest.



**Figura 4.24.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos 124 isolados de MRSA, determinados por Etest, entre 2009 e 2013. Adaptada de <sup>88</sup>.

Pelo método de Etest, verifica-se que grande parte dos isolados de MRSA apresenta valores de CMI de vancomicina  $\geq 1,5 \mu\text{g/mL}$ , sendo que 39 isolados (31,45%) apresentam um valor de CMI de vancomicina de  $2 \mu\text{g/mL}$  e 7 isolados (5,65%) apresentam um valor de CMI de vancomicina de  $3 \mu\text{g/mL}$ . Este facto poderia ser indicativo do desenvolvimento do fenómeno “MIC Creep” para vancomicina, contudo há insuficiência de dados relevantes e conclusivos sobre este assunto.

Em 2016, foram publicados 3 estudos de interesse. Um deles foi realizado na China<sup>56</sup>, num hospital universitário em Wenzhou (Leste da China), entre Janeiro de 2003 e Dezembro de 2014, ou seja, durante um período de 12 anos. Este estudo envolveu 553 isolados de MRSA provenientes de várias origens, tais como expetoração, pus, sangue, drenagens, entre outras. Os valores de CMI de vancomicina destes isolados foram determinados pelo método de Etest e os dados estatísticos relativos ao período de estudo são apresentados na tabela 4.19.

**Tabela 4.19.** Dados estatísticos dos valores de CMI de vancomicina obtidos entre 2003 e 2014. Adaptada de<sup>56</sup>.

Periods	Geometric mean MIC	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MIC range
I (2003–2005)	1.501	1.5	2.0	0.75–3.0
II (2006–2008)	1.345	1.5	2.0	0.5–3.0
III (2009–2011)	1.177	1	2.0	0.38–3.0
IV (2012–2014)	1.139	1	2.0	0.38–3.0

Os valores de CMI de vancomicina para os 553 isolados de MRSA variaram entre 0,38 e 3 mg/L, durante todo o período de estudo. Quanto à média geométrica dos valores de CMI de vancomicina foi de 1,501 mg/L no período I (2003–2005); 1,345 mg/L no período II (2006–

2008); 1,177 mg/L no período III (2009–2011) e 1,139 mg/L no período IV (2012– 2014). Observa-se, portanto, uma tendência decrescente contínua.

O valor de CMI<sub>50</sub> de vancomicina foi 1,5 mg/L nos períodos I e II e 1 mg/L nos períodos III e IV. O valor de CMI<sub>90</sub> de vancomicina foi 2 mg/L ao longo dos 4 períodos. Na tabela 4.20 é apresentada a distribuição dos valores de CMI de vancomicina determinados pelo Etest, entre 2003 e 2014.

**Tabela 4.20.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos 553 isolados de MRSA, entre 2003 e 2014. Adaptada de <sup>56</sup>.

Periods	MIC ≤0.75 mg/L	MIC = 1 mg/L	MIC = 1.5 mg/L	MIC ≥2 mg/L
I (2003–2005)	1.7	19.8	53.5	25
II (2006–2008)	3.3	33.3	47.8	15.6
III (2009–2011)	12.7	44.3	27.8	15.2
IV (2012–2014)	19.3	35.9	32.8	12

Pela observação da tabela, verifica-se que as percentagens de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina =1 mg/L e valores de CMI de vancomicina =1,5 mg/L oscilaram ao longo dos 4 períodos. A percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina ≥2 mg/L diminuiu gradualmente ao longo dos 4 períodos, desde 25% no período I (2003–2005) até 12% no período IV (2012–2014). Em contraste, a percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina ≤0,75 mg/L aumentou progressivamente ao longo dos 4 períodos, desde 1,7% no período I (2003–2005) até 19,3% no período IV (2012–2014).

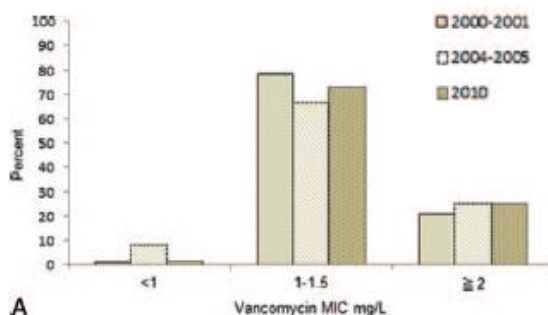
Neste estudo, observa-se uma tendência decrescente nos valores de CMI de vancomicina dos isolados de MRSA, durante o período de estudo de 12 anos (2003-2014). Isto deve-se, essencialmente, à diminuição da proporção de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina ≥2 mg/L e ao aumento da proporção de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina ≤0,75 mg/L.

Em 2016, foi publicado outro estudo de interesse na região da Ásia. Este estudo foi realizado em Taiwan<sup>57</sup>, num hospital universitário do norte do país, durante um período de 11 anos (2000-2010). Foram estudados 372 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue de pacientes com infeções da corrente sanguínea. Os seus valores de CMI de vancomicina foram determinados pelo método de Etest.

Todos os isolados de MRSA eram suscetíveis à vancomicina. O valor modal da CMI de vancomicina era 1,5 mg/L e o valor de CMI<sub>90</sub> era 2 mg/L, permanecendo ambos estáveis ao



longo de todo o período de estudo. Na figura 4.25 está representada a distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos 372 isolados de MRSA, ao longo de 3 períodos distintos.

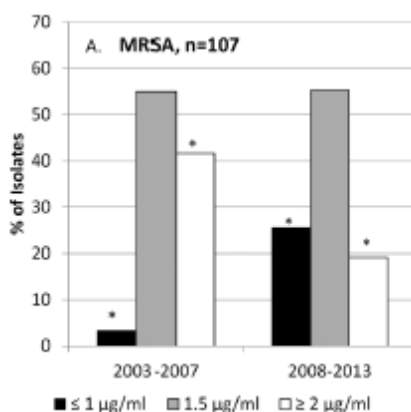


**Figura 4.25.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos 372 isolados de MRSA, ao longo de 3 períodos. Adaptada de <sup>57</sup>.

Através da análise da figura 4.25, verifica-se que as percentagens de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina <1 mg/L, entre 1–1,5 mg/L e  $\geq 2$  mg/L não registaram grandes oscilações, durante os 3 períodos. A frequência de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina  $\geq 2$  mg/L variou entre 21% e 25%, durante o período de estudo. Neste estudo, não se verifica o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina.

Por último, em 2016 foi publicado um estudo de interesse nos Estados Unidos da América<sup>87</sup>. Este estudo foi realizado num hospital pediátrico no Texas, entre 2003 e 2013. Foram estudados 107 isolados de MRSA provenientes de amostras de sangue de crianças com bacteriemia e os seus valores de CMI de vancomicina foram determinados pelo método de Etest.

O valor modal de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA foi 1,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e o intervalo de valores de CMI de vancomicina foi de 0,75–3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Ao longo do período de estudo, a percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina  $\geq 2$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  foi de 32,7% (35 isolados). Contudo, através da figura 4.26, verifica-se que houve uma diminuição na percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina  $\geq 2$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  de 41,6% no período de 2003-2007 para 19,1% no período de 2008-2013. Para além disso, verifica-se também que houve um aumento na percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina  $\leq 1$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ .



**Figura 4.26.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina determinados pelo Etest, durante 2 períodos. Adaptada de <sup>87</sup>.

Neste estudo, observa-se um fenómeno inverso ao de “MIC Creep” entre os isolados de MRSA provenientes de crianças, ao longo do período de 11 anos.

Em 2017, foram publicados 7 estudos de interesse, dos quais 4 foram realizados na Ásia. Um deles decorreu no Japão<sup>63</sup> em 27 centros médicos, entre Janeiro de 2014 e Fevereiro de 2015. Este estudo envolveu 86 isolados de MRSA provenientes de pacientes com infeções cirúrgicas. Os valores de CMI de vancomicina desses isolados foram determinados pelo método de BMD e foi realizado um estudo comparativo com dados obtidos em 2010, relativo a 103 isolados de MRSA. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA, relativa aos 2 períodos é apresentada na tabela 4.21.

**Tabela 4.21.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA, relativa a 2010 e 2014-2015. Adaptada de <sup>63</sup>.

Anti-microbial agent	Year	MIC (µg/mL)										Geometric mean MIC (µg/mL)	Geometric standard deviation
		≤0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	≥32		
VCM	2010				2	91	10					1.055	1.261
	2014-15			1	19	65	1					0.851	1.392

A média geométrica dos valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA baixou de 1,055 µg/mL em 2010 para 0,851 µg/mL no período de 2014-2015. Pela observação da tabela, verifica-se que o número de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina ≤0,5 µg/mL aumentou de 2 isolados (1,9%) em 2010 para 20 isolados (23,3%) no período de 2014-2015. Quanto aos isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina =2 µg/mL, diminuíram de 10 isolados (9,7%) em 2010 para apenas 1 isolado (1,2%) no período de 2014-2015. Neste estudo parece não existir o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina, contudo

não há dados dos anos intermédios (2011-2013) e é importante continuar a monitorizar os valores de CMI de vancomicina nas instituições de saúde envolvidas.

Outro dos estudos publicados na Ásia em 2017 foi realizado na Malásia<sup>67</sup>, num hospital universitário, entre Janeiro de 2011 e Dezembro de 2012. Foram estudados 209 isolados de MRSA provenientes de pacientes com bacteriemia, obtidos de diversas amostras, tais como sangue, tecidos, pus e abscessos, ossos, entre outras. Os valores de CMI de vancomicina nesses isolados foram determinados pelo método de Etest.

Todos os isolados de MRSA eram sensíveis à vancomicina, com valores de CMI compreendidos entre 0,38 e 2 µg/mL. Em 2011, 58 isolados (61,1%) apresentavam valores de CMI de vancomicina <1,5 µg/mL e 37 isolados (38,9%) apresentavam valores de CMI de vancomicina ≥1,5 µg/mL. Em 2012, 48 isolados (42,1%) apresentavam valores de CMI de vancomicina <1,5 µg/mL e 66 isolados (57,9%) apresentavam valores de CMI de vancomicina ≥1,5 µg/mL.

Verificou-se então uma diminuição significativa na percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina <1,5 µg/mL (61,1% em 2011 para 42,1% em 2012) e um aumento na percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina ≥1,5 µg/mL (38,9% em 2011 para 57,9% em 2012). Tendo em conta estes dados, poderia afirmar-se que estamos perante o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina, contudo o período considerado no estudo é apenas de 2 anos; a média geométrica dos valores de CMI de vancomicina baixou durante o período (1,055 µg/mL em 2010 para 0,851 µg/mL no período de 2014-2015) e os dados encontram-se estratificados apenas em 2 grupos (CMI de vancomicina <1,5 µg/mL e CMI de vancomicina ≥1,5 µg/mL), o que torna difícil uma análise mais concreta.

Em 2017 também foram publicados 2 estudos de interesse em Taiwan. Um deles<sup>59</sup> foi realizado num hospital em Taichung entre Outubro de 2003 e Dezembro de 2008 e em 2014. Foram estudados 60 isolados de MRSA (32 em 2003–2008 e 28 em 2014) provenientes de várias amostras, tais como sangue, ossos, expetoração, pele e tecidos moles, entre outras. O método utilizado para a determinação dos valores de CMI de vancomicina foi um método automatizado, Phoenix automated microbiology system.

Entre 2003 e 2005, 4 isolados apresentaram uma CMI de vancomicina de 0,5 µg/mL; 12 isolados apresentaram uma CMI de vancomicina de 1 µg/mL e 2 isolados apresentaram uma CMI de vancomicina de 2 µg/mL. Entre 2006 e 2008, 7 isolados apresentaram uma CMI de vancomicina de 0,5 µg/mL e outros 7 isolados apresentaram uma CMI de vancomicina de 1

µg/mL. Em 2014, 5 isolados apresentaram uma CMI de vancomicina de 0,5 µg/mL; 22 isolados apresentaram uma CMI de vancomicina de 1 µg/mL e 1 isolado apresentou uma CMI de vancomicina de 2 µg/mL. A média geométrica dos valores de CMI de vancomicina nos isolados de MRSA foi 0,82 µg/mL no período de 2003–2008 e 0,90 µg/mL em 2014.

Tendo em conta estes dados, não houve alterações significativas na distribuição dos valores de CMI de vancomicina nos 60 isolados de MRSA, ao longo do período de estudo. Portanto, não se verificou o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina.

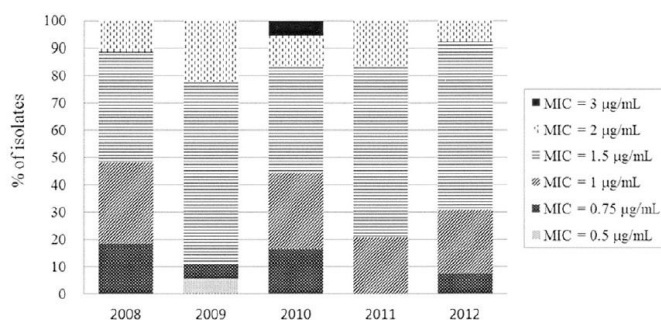
Outro estudo publicado em Taiwan<sup>58</sup> foi realizado num hospital no norte do país, entre 2008 e 2012. Este estudo englobou um total de 195 isolados de MRSA, dos quais 87 pertenciam a crianças com infeção por MRSA e 108 pertenciam a crianças saudáveis colonizadas por MRSA, através da via nasal. Os isolados de MRSA eram provenientes de várias fontes, tais como feridas, trato respiratório, expetoração, sangue, urina, entre outras.

A determinação dos valores de CMI de vancomicina em 100 isolados foi realizada pelo método de Etest e a sua distribuição encontra-se representada na tabela 4.22 e na figura 4.27.

**Tabela 4.22.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em 100 isolados de MRSA, entre 2008 e 2012. Adaptada de <sup>58</sup>.

Year	Vancomycin MIC (µg/mL) of clinical isolates						Total	MIC ≥ 1.5 (%)
	0.5	0.75	1.00	1.5	2.00	3.00		
2008	0	5	8	11	3	0	27	51.9
2009	1	1	0	12	4	0	18	88.9
2010	0	3	5	7	2	1	18	55.6
2011	0	0	5	15	4	0	24	79.2
2012	0	1	3	8	1	0	13	69.2

Através da distribuição da tabela 4.22, verifica-se que os isolados de MRSA apresentaram valores de CMI de vancomicina num intervalo de 0,5 a 3 µg/mL.

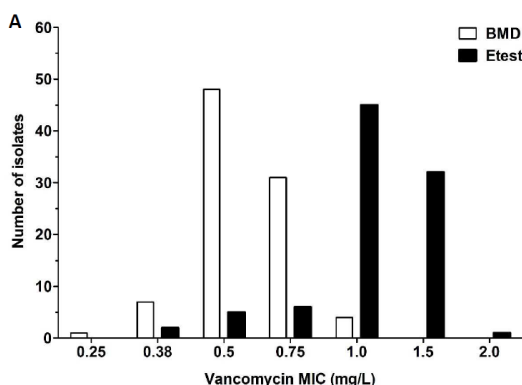


**Figura 4.27.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em 100 isolados de MRSA, entre 2008 e 2012. Adaptada de <sup>58</sup>.

Apenas 1 isolado apresentou uma CMI de vancomicina de 0,5 µg/mL em 2009 e outro isolado apresentou uma CMI de vancomicina de 3 µg/mL em 2010. A percentagem de isolados de MRSA com valores de CMI de vancomicina  $\geq 1,5$  µg/mL foi sempre superior a 50% ao longo de todo o período de estudo contudo, esses valores oscilaram ao longo dos anos, não apresentando uma tendência crescente nem decrescente. Apesar disso, os autores do estudo admitem que o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina realmente existe nos isolados de MRSA estudados.

2 dos 7 estudos de interesse publicados em 2017 foram realizados na Europa. Um deles foi realizado na Alemanha<sup>75</sup>, num hospital universitário em Colónia, entre Janeiro de 2006 e Dezembro de 2012. Foram estudados 91 isolados de MRSA provenientes de pacientes com infeções da corrente sanguínea e os seus valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 3 métodos: BMD, Etest e um sistema automatizado (Vitek 2).

Todos os isolados eram suscetíveis à vancomicina ( $\leq 2$  mg/L). Pelo sistema Vitek 2, os valores de CMI de vancomicina foram  $\leq 1$  mg/L para 87 isolados (95,6%) e 2 mg/L para 4 isolados (4,4%). Pelo método de BMD, os valores de CMI de vancomicina foram  $\leq 1$  mg/L para os 91 isolados e a média geométrica dos valores de CMI de vancomicina foi 0,60 mg/L. Pelo método de Etest, os valores de CMI de vancomicina foram  $\leq 1$  mg/L para 58 isolados (63,7%); 1,5 mg/L para 32 isolados (35,2%) e 2 mg/L para 1 isolado (1,1%). A média geométrica dos valores de CMI de vancomicina foi 1,13 mg/L, pelo Etest. A distribuição dos valores de CMI de vancomicina determinados pelos métodos de BMD e Etest está representada na figura 4.28.



**Figura 4.28.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina em 91 isolados de MRSA, determinados por BMD e Etest. Adaptada de <sup>75</sup>.

Os valores de CMI de vancomicina determinados pelo Etest são, geralmente, superiores aos valores de CMI obtidos por BMD e sistemas automatizados como o Vitek 2, o que vai de encontro ao que se verifica neste estudo.

Na tabela 4.23 é apresentada a distribuição e as médias geométricas dos valores de CMI de vancomicina, determinados por BMD e Etest nos 91 isolados de MRSA, entre 2006 e 2012.

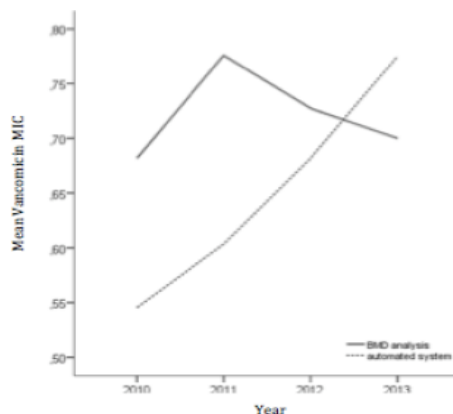
**Tabela 4.23.** Distribuição e médias geométricas dos valores de CMI de vancomicina, determinados por BMD e Etest, entre 2006 e 2012. Adaptada de <sup>75</sup>.

Annual no. (%) of isolates with given MIC																
MIC (mg/L)	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		Total	
	BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest	BMD	Etest
≤ 0.5	4 (36.4)	0 (0.0)	9 (75.0)	1 (8.3)	2 (0.25)	0 (0.0)	11 (78.6)	0 (0.0)	7 (77.8)	5 (55.6)	10 (62.5)	1 (6.3)	13 (61.9)	0 (0.0)	56 (61.5)	7 (7.7)
0.75	5 (45.5)	0 (0.0)	2 (16.7)	0 (0.0)	6 (0.75)	0 (0.0)	3 (21.4)	3 (21.4)	1 (11.1)	1 (11.1)	6 (37.5)	1 (6.3)	8 (38.1)	1 (4.8)	31 (34.1)	6 (6.6)
1.0	2 (18.2)	4 (36.4)	1 (8.3)	5 (41.7)	0 (0.0)	3 (37.5)	0 (0.0)	10 (71.4)	1 (11.1)	2 (22.2)	0 (0.0)	10 (62.5)	0 (0.0)	11 (52.4)	4 (4.4)	45 (49.5)
1.5	0 (0.0)	6 (54.5)	0 (0.0)	6 (50.0)	0 (0.0)	5 (62.5)	0 (0.0)	1 (7.1)	0 (0.0)	1 (11.1)	0 (0.0)	4 (25.0)	0 (0.0)	9 (42.9)	0 (0.0)	32 (35.2)
2.0	0 (0.0)	1 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.1)
Geometric mean	0.71	1.36	0.56	1.21	0.69	1.31	0.55	0.98	0.57	0.72	0.57	1.08	0.58	1.20	0.60	1.13

Pelo método de BMD, verifica-se que houve uma oscilação na média geométrica dos valores de CMI de vancomicina entre 0,55 mg/L (2009) e 0,71 mg/L (2007). Pelo método de Etest, esses valores oscilaram entre 0,72 mg/L (2010) e 1,36 mg/L (2006). Observando a tabela, verifica-se que ao longo do período de 7 anos não houve um aumento gradual nos valores de CMI de vancomicina entre os isolados de MRSA e, portanto, não se observa o fenómeno de “MIC Creep”.

O outro estudo publicado, em 2017, na Europa foi realizado em Portugal<sup>79</sup> no hospital de Aveiro, entre 2010 e 2013. Foram estudados 82 isolados de MRSA provenientes de várias fontes tais como trato respiratório, feridas, amostras de sangue, urina, entre outras.

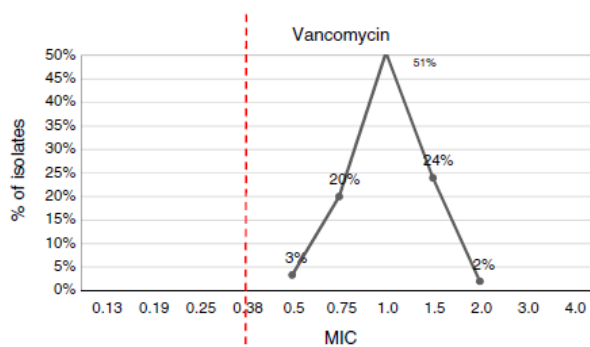
Os valores de CMI de vancomicina foram determinados através de 2 métodos: BMD e um sistema automatizado (Vitek 2). Dos 82 isolados, 47 (57,3%) apresentavam valores de CMI de vancomicina ≤0,5 mg/L e 35 isolados (42,7%) apresentavam valores de CMI de vancomicina de 1,0 mg/L. De acordo com os critérios estabelecidos pelo CLSI, todos os isolados de MRSA eram suscetíveis à vancomicina, apresentando valores de CMI <2mg/L. Contudo, neste estudo observaram-se diferenças significativas nos valores de CMI de vancomicina obtidos pelos 2 métodos. Os valores de CMI de vancomicina determinados pelo sistema automatizado (Vitek 2) eram significativamente mais baixos do que os determinados pelo método de BMD. Na figura 4.29 está representada a distribuição das médias geométricas dos valores de CMI de vancomicina entre 2010 e 2013, utilizando os dois métodos.



**Figura 4.29.** Distribuição das médias geométrica dos valores de CMI de vancomicina entre 2010 e 2013, determinadas por BMD e pelo sistema automatizado (Vitek 2). Adaptada de <sup>79</sup>.

Pelo método de BMD, não se verificou uma tendência crescente na média geométrica dos valores de CMI de vancomicina. Contudo, através do método automatizado (Vitek 2) verifica-se que houve uma tendência crescente na média geométrica dos valores de CMI de vancomicina, ao longo de todo o período. Uma vez que a fiabilidade dos métodos automatizados tem sido questionada, é necessário ter atenção aquando da interpretação dos resultados obtidos. Desta forma, tendo em conta os dados obtidos pelo método de BMD, não há evidência do fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina, durante o período de 4 anos de estudo.

Em 2017, o único estudo de interesse publicado na América Latina foi realizado na Colômbia<sup>89</sup>, em 3 hospitais de Medellin, desde Fevereiro de 2008 a Junho de 2010. Foram estudados 150 isolados de MRSA provenientes de pacientes com infeções de pele e tecidos moles. Os valores de CMI de vancomicina desses isolados foram determinados pelo método de Etest e a sua distribuição está representada na figura 4.30.



**Figura 4.30.** Distribuição dos valores de CMI de vancomicina determinados por Etest, em 150 isolados de MRSA. Adaptada de <sup>89</sup>.

Todos os isolados de MRSA eram suscetíveis à vancomicina, apresentando valores de CMI entre 0,5 µg/mL e 2 µg/mL. Dos 150 isolados de MRSA, 111 isolados (74%) apresentavam valores de CMI de vancomicina  $\leq 1$  µg/mL; 36 isolados (24%) apresentavam valores de CMI de vancomicina de 1,5 µg/mL e 3 isolados (2%) apresentavam valores de CMI de vancomicina de 2 µg/mL. Quanto ao fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina, nada se pode concluir apenas com estes dados, mas parece não existir.

Em 2018, foi publicado um estudo de interesse realizado na Polónia<sup>81</sup>. Este estudo decorreu num hospital em Varsóvia entre Maio de 2012 e Janeiro de 2014, abrangendo um total de 124 isolados de MRSA provenientes de feridas, abscessos, úlceras, fístulas e amostras de sangue. Os valores de CMI de vancomicina desses isolados foram determinados pelo método de Etest e a sua distribuição foi a seguinte: 0,38 µg/mL para 1 isolado; 0,5 µg/mL para 6 isolados; 0,75 µg/mL para 14 isolados; 1 µg/mL para 49 isolados; 1,5 µg/mL para 45 isolados e 2 µg/mL para 9 isolados. Portanto, os valores de CMI de vancomicina foram  $\geq 1,5$  µg/mL em 43,55% dos isolados de MRSA. Poderá existir o fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina neste estudo, contudo os dados disponíveis são insuficientes para concluir acerca deste assunto.

Na tabela 4.24, estão sintetizados alguns dados mais relevantes dos estudos que apresentaram o fenômeno de “MIC Creep”.



**Tabela 4.24.** Dados mais relevantes dos estudos que apresentaram o fenômeno de “MIC Creep”.

Referência, ano	País, período	Fonte de infecção ou dos isolados	Número de isolados de MRSA	Método Determinação de CMI
Ho, P.L. <i>et al.</i> , 2010	China, 1997-2008	Bacteriemia, amostras de sangue	247	Etest
Kehrmann <i>et al.</i> , 2011	Alemanha, 2004-2009	Amostras de sangue	287	Etest
Bassetti <i>et al.</i> , 2011	Itália, 2008-2010	Bacteriemia, amostras de sangue	359	Etest
Kincaid <i>et al.</i> , 2011	Estados Unidos da América, 1998-2008	Amostras de sangue, feridas ou infecções relacionadas com cateteres	241	Vitek
Yeh <i>et al.</i> , 2012	Taiwan, 2001, 2005 e 2009	Bacteriemia, amostras de sangue	140	Etest
Edwards <i>et al.</i> , 2012	Escócia (Reino Unido), 2007-2010	Amostras de sangue	99	Etest
Mahajan <i>et al.</i> , 2012	Estados Unidos da América, 2001-2009	Bacteriemia, amostras de sangue	250	Etest
Zhuo <i>et al.</i> , 2013	China, 2006-2011	Isolados provenientes de várias amostras (trato respiratório, secreções, sangue, urina, etc)	1411	BMD
Chang <i>et al.</i> , 2015	China, 2006-2010	Bacteriemia, amostras de sangue	1132	BMD
Singh <i>et al.</i> , 2015	Índia, 2009-2012	Isolados provenientes de várias amostras (sangue, feridas, abscessos, expetoração, urina e outros fluidos)	776	Etest
Niveditha <i>et al.</i> , 2015	Índia, 2012-2014	Isolados provenientes de várias amostras (pus, sangue, feridas, tecidos, entre outras)	200	Etest
Chang <i>et al.</i> , 2017	Taiwan, 2008-2012	Isolados provenientes de várias fontes (feridas, trato respiratório, expetoração, sangue, urina, entre outras)	195	Etest



# Discussão

---



## 5. Discussão

Nesta revisão sistemática da literatura, verificou-se que 12 dos 42 estudos analisados evidenciaram a existência do fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina em isolados de MRSA. Após a análise dos resultados, confirma-se que não há conformidade no que respeita aos critérios utilizados pelos diferentes autores dos estudos incluídos. Estas diferenças podem contribuir para um enviesamento de dados, tornando-se difícil fazer uma comparação dos resultados obtidos nas diferentes investigações.

Dos 12 estudos que registaram o fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina, 7 estudos foram realizados na Ásia (3 na China<sup>30,54,55</sup>, 2 em Taiwan<sup>9,58</sup> e 2 na Índia<sup>64,65</sup>), 3 estudos foram realizados na Europa (1 na Alemanha<sup>8</sup>, 1 na Itália<sup>76</sup> e 1 na Escócia<sup>74</sup>) e 2 estudos foram realizados nos Estados Unidos da América<sup>84,85</sup>.

O fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina apenas foi observado em alguns países, ou seja, parece tratar-se de um fenômeno que ocorre a nível local/regional. É importante salientar que as alterações nos valores de CMI de vancomicina variam bastante de uma área para outra. Portanto, é aconselhável monitorizar este fenômeno em todas as áreas geográficas. No entanto, há áreas geográficas que não têm estudos publicados sobre este tema, uma vez que os métodos de determinação dos valores de CMI envolvem custos bastante elevados, que alguns países em desenvolvimento não conseguem suportar. Esta parece ser uma razão válida para a escassez de dados sobre o “MIC Creep” no continente africano.

Entre os 12 estudos, 9 estudos foram realizados apenas numa instituição de saúde, enquanto 3 estudos (Ho *et al*, 2010; Kehrmann *et al*, 2011; Zhuo *et al*, 2013) envolveram várias instituições de saúde. Logo, verifica-se que grande parte dos estudos que registaram o fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina em isolados de MRSA foram realizados apenas numa única instituição de saúde. A combinação de dados de várias instituições pode obscurecer as tendências dos valores de CMI de vancomicina que podem existir numa determinada instituição ou região geográfica, como resultado das diferenças nas populações de pacientes e nos padrões de uso de antimicrobianos.

Os períodos de investigação dos 12 estudos variaram desde 3 anos (Bassetti *et al*, 2011; Niveditha *et al*, 2015) até 12 anos (Ho *et al*, 2010). A seleção e a duração do período de estudo são de extrema importância e têm um efeito notório na interpretação do fenômeno de “MIC Creep” para vancomicina.

Quanto à fonte de infeção, 5 dos 12 estudos analisaram amostras provenientes de pacientes com bacteriemia (ver tabela 4.24). Quanto à fonte dos isolados, 7 dos 12 estudos analisaram apenas amostras de sangue, enquanto 5 estudos analisaram isolados de MRSA

provenientes de amostras de sangue, urina, expetoração, feridas, pus, tecidos, abcessos, entre outras (ver tabela 4.24).

Quanto ao número de isolados de MRSA analisados em cada estudo, este variou desde 99 isolados (Edwards *et al*, 2012) até 1411 isolados (Zhuo *et al*, 2013). Os métodos utilizados para a determinação dos valores de CMI de vancomicina foram o Etest em 9 estudos; a BMD em 2 estudos e um sistema automatizado (Vitek) num estudo (ver tabela 4.24). Portanto, verifica-se que grande parte dos estudos que registaram o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina em isolados de MRSA usaram o método de Etest para determinação dos valores de CMI de vancomicina.

Foi demonstrado por vários investigadores que os valores de CMI de vancomicina variam significativamente dependendo do método utilizado. Tendo em conta que um valor elevado de CMI, dentro do intervalo de suscetibilidade, pode reduzir a eficácia da vancomicina, os laboratórios clínicos devem adotar métodos com precisão para determinar os valores de CMI. De acordo com as entidades reguladoras, tais como o CLSI e o EUCAST, o método de referência recomendado para testar a suscetibilidade à vancomicina em *S. aureus* é a microdiluição em meio líquido (BMD). Contudo, como este é um teste bastante trabalhoso, alguns laboratórios clínicos geralmente optam por métodos menos trabalhosos, tais como sistemas automatizados e testes de gradiente, para determinar os valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA. É necessário realçar que alguns métodos automatizados são inadequados e pouco fiáveis, sendo importante determinar os verdadeiros valores de CMI de vancomicina por BMD ou Etest.

O método de BMD pode não ser capaz de detetar alterações subtis. Por outro lado, o método de Etest é capaz de detetar essas alterações, pela incorporação de diluições de CMI intermédias. Desta forma, o Etest é um método mais sensível na deteção de pequenas alterações nos valores de CMI de vancomicina. Este é um método mais rápido, mais prático e menos dispendioso que o BMD. O método de Etest demonstrou ser um método mais confiável e específico na identificação de estirpes de MRSA com suscetibilidade reduzida à vancomicina, quando comparado com a BMD e os sistemas automatizados. Um facto a ter em conta é que o método de Etest geralmente origina valores mais elevados de CMI de vancomicina, em comparação com os outros métodos.

Um fator que também influencia os valores de CMI de vancomicina em isolados de MRSA é o seu congelamento. Tem sido demonstrado que certos organismos podem tornar-se mais suscetíveis quando são armazenados e é possível que este fenómeno, juntamente com as diferentes metodologias utilizadas, possa explicar alguns resultados contraditórios na literatura. Não é possível tirar conclusões sobre se o valor de CMI no momento de isolamento é o mais preciso acerca da suscetibilidade de um isolado à vancomicina, contudo parece razoável afirmar que esse valor é o mais relevante em contexto clínico.

A questão do fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina ser observado em alguns locais e noutros não, ainda não foi completamente compreendida e respondida. A grande heterogeneidade dos estudos realizados até à data, dificulta uma comparação direta. De facto, os estudos diferem nos períodos de estudo, nas localizações geográficas, no tamanho da amostra de isolados, no tipo de isolados analisados, na sua fonte clínica, nos métodos utilizados para determinar os valores de CMI de vancomicina, entre outros fatores.

Uma variável que também produz resultados controversos são os pontos de corte. Para alguns autores, valores elevados de CMI de vancomicina correspondem a valores  $\geq 1,5$  mg/L, enquanto outros consideram valores  $\geq 1,0$  mg/L ou  $\geq 2,0$  mg/L. Isto conduz a proporções de isolados completamente diferentes.

As variações observadas entre estudos podem dever-se, também, às características moleculares e epidemiológicas dos isolados, à duração de armazenamento de isolados, à variabilidade de populações de pacientes, às variáveis estatísticas utilizadas e ainda à disseminação clonal.

As variáveis estatísticas utilizadas para identificar o fenómeno de “MIC Creep” são várias. Entre elas estão as percentagens de isolados, a média geométrica, a moda, a mediana, a CMI<sub>50</sub> e a CMI<sub>90</sub>. Apesar de haver bastantes marcadores que detetam alterações nos valores de CMI de vancomicina, a média geométrica dos valores de CMI é considerada o marcador mais sensível.

É importante distinguir o fenómeno de “MIC Creep” do aumento de clones epidémicos específicos com valores elevados de CMI de vancomicina. Grande parte dos estudos que evidencia a existência do fenómeno de “MIC Creep” não analisa os isolados com valores elevados de CMI de vancomicina através de métodos de tipagem molecular para determinar se o fenómeno se deve à disseminação clonal de MRSA.

Atualmente, as medidas para controlar as infeções por *S. aureus* são desafiadas por um grande e contínuo aumento na prevalência de MRSA em todo o mundo e pelo surgimento de *S. aureus* com suscetibilidade reduzida à vancomicina e outros glicopeptídeos.

Os investigadores começam a questionar a utilidade clínica da vancomicina para infeções por MRSA e esta deve ser usada com precaução em doenças graves provocadas por *Staphylococcus*, que coloquem os pacientes em perigo de vida. Para infeções invasivas provocadas por MRSA com valores de CMI de vancomicina elevados, os médicos devem considerar terapias alternativas, tais como a daptomicina ou o linezolid.

Desta forma, é realçada a importância do uso de métodos precisos e sensíveis para a determinação dos valores de CMI, capazes de captar pequenas mudanças graduais, pois estas podem ter significado clínico ao longo do tempo.

A monitorização específica de um local é crucial para orientar a comunidade médica na escolha da terapia empírica para diferentes pacientes e para ajudar a prever tendências

locais futuras. Assim, as tendências locais devem ser levadas em conta e a CMI deve ser sempre registada, tendo em conta o método utilizado para a sua determinação.

Esta revisão sistemática da literatura apresenta algumas limitações. Em primeiro lugar, esta revisão apenas considerou estudos escritos na língua inglesa, portuguesa e espanhola, sendo possível que tenham sido excluídos estudos que poderiam ser importantes para esta revisão. No entanto, hoje em dia é reconhecido o esforço que os investigadores fazem para publicar estudos na língua inglesa, independentemente do país ou da língua materna.

Em segundo lugar, todo o processo de localização e seleção dos estudos foi desenvolvido apenas por um investigador, o que torna maior a probabilidade de algum estudo relevante ter sido excluído.

Outra das limitações diz respeito à distribuição geográfica dos estudos. Nenhum estudo do continente africano foi incluído e dos 42 estudos analisados grande parte corresponde a estudos realizados na Ásia e na Europa.



# **Considerações finais**

---



## 6. Considerações finais

Após a análise detalhada dos artigos selecionados para esta revisão da literatura, verificou-se que o fenómeno de “MIC Creep” para vancomicina apenas foi observado em alguns países, maioritariamente pertencentes à Ásia e à Europa. Portanto, parece tratar-se de um fenómeno que ocorre a nível local/regional.

O facto do fenómeno de “MIC Creep” ser observado em alguns locais e noutros não, deve-se a vários fatores, tais como o período de estudo, a localização geográfica, o tamanho da amostra de isolados, o tipo de isolados analisados, a sua fonte clínica e os métodos utilizados para determinar os valores de CMI de vancomicina. Existe de facto uma grande heterogeneidade dos estudos realizados até à data, o que dificulta uma comparação direta entre estudos.

Foi demonstrado por vários investigadores que os valores de CMI de vancomicina variam significativamente dependendo do método utilizado. Desta forma, é realçada a importância do uso de métodos precisos e sensíveis para a determinação dos valores de CMI, capazes de captar pequenas mudanças graduais, pois estas podem ter significado clínico ao longo do tempo.

Todas as instituições médicas deveriam monitorizar os seus valores de CMI de vancomicina para isolados de MRSA, para orientar a comunidade médica na escolha da terapia empírica para diferentes pacientes e para ajudar a prever tendências locais futuras.

Muitas questões permanecem sem resposta e a cooperação entre a comunidade científica (componente laboratorial) e a comunidade médica (componente clínica) ainda está nos estágios iniciais de desenvolvimento. Contudo, estudos específicos parecem ser o caminho certo para nos dar uma noção exata dessa questão emergente.

O que se torna evidente é que as infeções causadas por MRSA continuarão a ser um grande desafio durante os próximos anos para médicos, microbiologistas, farmacêuticos, cientistas, mas sobretudo, para pacientes.



## 7. Referências Bibliográficas

1. Poormohammadi, S., Farahani, A. & Mohajeri, P. Genomic diversity and antimicrobial susceptibility profiling of nasal carriage *Staphylococcus aureus* isolated from pediatric ward in Western Iran. *Saudi J. Biol. Sci.* 1–7 (2016). doi:10.1016/j.sjbs.2016.10.001
2. Microbiology Focus 6.1 - The Role of *Staphylococcus aureus*. **6**, 1–8 (2014).
3. Zipcodezoo. Available at: <https://zipcodezoo.com/monera/staphylococcus-aureus/>.
4. Hassoun, A., Linden, P. K. & Friedman, B. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. *Crit. Care* **21**, 211 (2017).
5. Rae, N., Jarchow-macdonald, A., Nathwani, D. & Marwick, C. A. MRSA : treating people with infection. *BMJ Clin. Evid.* **2**, 1–18 (2016).
6. Aureden, K., Arias, K., Burns, L., Creen, C. & Hickok, J. Guide to the elimination of *Staphylococcus aureus* (MRSA) transmission in hospital settings. 1–65 (2010).
7. Wang, G., Hindler, J. F., Ward, K. W. & Bruckner, D. A. Increased vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* clinical isolates from a university hospital during a 5-year period. *J. Clin. Microbiol.* **44**, 3883–3886 (2006).
8. Kehrmann, J. *et al.* Vancomycin MIC creep in MRSA blood culture isolates from Germany: A regional problem? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **30**, 677–683 (2011).
9. Yeh, Y. C. *et al.* Impact of vancomycin MIC creep on patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **45**, 214–220 (2012).
10. Udo, E. E. Community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus: The new face of an old foe? *Med. Princ. Pract.* **22**, 20–29 (2013).
11. Das, S., Dasgupta, A. & Chopra, S. Drug repurposing: a new front in the war against *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiol.* **11**, 1091–9 (2016).
12. Joana, S., Pedro, P., Elsa, G. & Filomena, M. Is vancomycin MIC creep a worldwide phenomenon? Assessment of *S. aureus* vancomycin MIC in a tertiary university hospital. *BMC Res. Notes* **6**, 65 (2013).
13. Vidailiac, C. *et al.* Alternative mutational pathways to intermediate resistance to vancomycin in methicillin-resistant staphylococcus aureus. *J. Infect. Dis.* **208**, 67–74 (2013).
14. Otto, M. Community-associated MRSA: What makes them special? *Int. J. Med. Microbiol.* **303**, 324–330 (2013).
15. Gordon, R. & Lowy, F. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin. Infect. Dis.* **46**, S350-9 (2008).
16. World Health Organization - Antimicrobial Resistance (2018).
17. Pasberg-Gauhl, C. A need for new generation antibiotics against MRSA resistant bacteria. *Drug Discov. Today Technol.* **11**, 109–116 (2014).
18. ECDC 2016. *ECDC: SURVEILLANCE REPORT. Surveillance of antimicrobial resistance in*

Europe 2016. *ECDC surveillance report* (2016). doi:10.2900/296939

19. Levy, S. B. & Bonnie, M. Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses. *Nat. Med.* **10**, S122–S129 (2004).
20. Moellering, R. C. MRSA: the first half century. *J. Antimicrob. Chemother.* **67**, 4–11 (2011).
21. Rice, L. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *Am J Infect Control* **34**, 11–9 (2006).
22. Direção-Geral da Saúde. *PPCIRA - Programa Nacional de Controlo de Infeções e Resistências Antimicrobianas* (2017). doi:2184-1179
23. Palavecino, E. L. *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Protocols, Methods in Molecular Biology.* **1085**, (2014).
24. Peacock, S. J. & Paterson, G. K. Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu. Rev. Biochem.* **84**, 577–601 (2015).
25. Fuda, C., Suvorov, M., Vakulenko, S. & Mobashery, S. The basis for resistance to beta-lactam antibiotics by penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem* **279**, 40802–6 (2004).
26. Lowy, F. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest. Am. Soc. Clin. Investig.* **111**, 1265–73 (2003).
27. Katayama, Y., Ito, T. & Hiramatsu, K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* **44**, 1549–55 (2000).
28. Kawada-matsuo, M. & Komatsuzawa, H. Factors affecting susceptibility of *Staphylococcus aureus* to antibacterial agents. *J. Oral Biosci.* **54**, 86–91 (2012).
29. Uhlemann, A.-C., Otto, M., Lowy, F. & DeLeo, F. Evolution of community- and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol.* **21**, 563–74 (2014).
30. Ho, P. L. *et al.* Vancomycin MIC creep in MRSA isolates from 1997 to 2008 in a healthcare region in Hong Kong. *J. Infect.* **60**, 140–145 (2010).
31. Van Hal, S. J., 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.* **54**, 755–771 (2012).
32. Gasch, O. *et al.* Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Bloodstream Infection. *Medicine (Baltimore).* **90**, 319–327 (2011).
33. Dhand, A. & Sakoulas, G. Reduced vancomycin susceptibility among clinical *Staphylococcus aureus* isolates ('the MIC Creep'): implications for therapy. *F1000 Med. Rep.* **4**, (2012).
34. Robert, J., Bismuth, R. & Jarlier, V. Decreased susceptibility to glycopeptides in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A 20 year study in a large French teaching hospital, 1983-2002. *J. Antimicrob. Chemother.* **57**, 506–510 (2006).
35. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge - Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos.
36. Kupferschmidt, K. Resistance fighters. *Science* **352**, 758–61 (2016).

37. Gould, I. M. Clinical relevance of increasing glycopeptide MICs against *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Antimicrob. Agents* **31**, 1–9 (2008).
38. Steinkraus, G., White, R. & Friedrich, L. Vancomycin MIC creep in non-vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) blood isolates from 2001-05. *J. Antimicrob. Chemother.* **60**, 788–794 (2007).
39. Rubinstein, E. & Keynan, Y. Vancomycin Revisited - 60 Years Later. *Front. Public Heal.* **2**, 1–7 (2014).
40. Howden, B., Davies, J., Johnson, P., Stinear, T. & Grayson, M. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: Resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews. Am. Soc. Microbiol.* 99–139 (2010).
41. Musta, A. C. *et al.* Vancomycin MIC plus heteroresistance and outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: Trends over 11 years. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 1640–1644 (2009).
42. Alós, J. I., García-Cañas, A., García-Hierro, P. & Rodríguez-Salvanés, F. Vancomycin MICs did not creep in *Staphylococcus aureus* isolates from 2002 to 2006 in a setting with low vancomycin usage. *J. Antimicrob. Chemother.* **62**, 773–775 (2008).
43. Holmes, R. L. & Jorgensen, J. H. Inhibitory activities of 11 antimicrobial agents and bactericidal activities of vancomycin and daptomycin against invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates obtained from 1999 through 2006. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**, 757–760 (2008).
44. Appelbaum, P. C. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int. J. Antimicrob. Agents* **30**, 398–408 (2007).
45. Friães, A. *et al.* Epidemiological survey of the first case of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in Europe. *Epidemiol. Infect.* **143**, 745–748 (2015).
46. McGuinness, W. A., Malachowa, N. & DeLeo, F. R. Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale J. Biol. Med.* **90**, 269–281 (2017).
47. Pitz, A. M. *et al.* Vancomycin susceptibility trends and prevalence of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in clinical methicillin-resistant *S. aureus* isolates. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 269–274 (2011).
48. Rybak, M. *et al.* Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: a consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Am J Heal. Syst Pharm* **66**, 82–98 (2009).
49. EUCAST - Antimicrobial susceptibility testing. Available at: [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/).
50. Jones, R. N. Microbiological Features of Vancomycin in the 21st Century: Minimum Inhibitory

- Concentration Creep, Bactericidal/Static Activity, and Applied Breakpoints to Predict Clinical Outcomes or Detect Resistant Strains. *Clin. Infect. Dis.* **42**, S13–S24 (2006).
51. Sader, H. S. *et al.* Evaluation of vancomycin and daptomycin potency trends (MIC creep) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected in nine U.S. Medical Centers from 2002 to 2006. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 4127–4132 (2009).
  52. Higgins JPT; Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0.* (2011).
  53. Ip, Margaret; Chau, Shirley SL; Lui, Sau L; Leung, Eric; Ling, T. Vancomycin minimum inhibitory concentrations (MICs) for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Hong Kong. *Int. J. Antimicrob. Agents* **36**, 386–387 (2010).
  54. Zhuo, C., Xu, Y. C., Xiao, S. N., Zhang, G. Y. & Zhong, N. S. Glycopeptide minimum inhibitory concentration creep among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from 2006–2011 in China. *Int. J. Antimicrob. Agents* **41**, 578–581 (2013).
  55. Chang, W. *et al.* Vancomycin MIC creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from 2006 to 2010 in a hospital in China. *Indian J. Med. Microbiol.* **33**, 262–266 (2015).
  56. Lu, C. *et al.* Decreased Vancomycin MICs among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates at a Chinese Tertiary Hospital over a 12-year Period. *Front. Microbiol.* **7**, 1–5 (2016).
  57. Hsieh, Y., Lin, Y. & Huang, Y. Vancomycin, teicoplanin, daptomycin, and linezolid MIC creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is associated with clonality. *Medicine (Baltimore)*. **95**, 1–6 (2016).
  58. Chang, C., Lo, W. & Chan, M. An investigation of vancomycin minimum inhibitory concentration creep among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from pediatric patients and healthy children in Northern Taiwan. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **50**, 362–369 (2017).
  59. Chen, C., Liu, M., Lin, C., Lin, S. & Shi, Z. The association of molecular typing, vancomycin MIC, and clinical outcome for patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **50**, 619–626 (2017).
  60. Choi, E. Y. *et al.* Relationship between the MIC of vancomycin and clinical outcome in patients with MRSA nosocomial pneumonia. *Intensive Care Med.* **37**, 639–647 (2011).
  61. Wi, Y. M. *et al.* High vancomycin minimum inhibitory concentration is a predictor of mortality in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Int. J. Antimicrob. Agents* **40**, 108–113 (2012).
  62. Shoji, H. *et al.* More accurate measurement of vancomycin minimum inhibitory concentration indicates poor outcomes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Int. J. Antimicrob. Agents* **46**, 532–537 (2015).
  63. Takesue, Y. *et al.* Antimicrobial susceptibility of pathogens isolated from surgical site infections in Japan: Comparison of data from nationwide surveillance studies conducted in



- 2010 and 2014–2015. *J. Infect. Chemother.* **23**, 339–348 (2017).
64. Singh, A. *et al.* Glycopeptide and daptomycin susceptibility trends among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care center in North India. *J. Infect. Public Health* **8**, 341–345 (2015).
  65. Niveditha, N. & Sujatha, S. Worrisome trends in rising minimum inhibitory concentration values of antibiotics against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* - Insights from a tertiary care center, South India. *Brazilian J. Infect. Dis.* **19**, 585–589 (2015).
  66. Ahmad, N. *et al.* Increased vancomycin minimum inhibitory concentration among *Staphylococcus aureus* isolates in Malaysia. *J. Med. Microbiol.* **59**, 1530–1532 (2010).
  67. Sit, P. S. *et al.* Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ( MRSA ) infection and the molecular characteristics of MRSA bacteraemia over a two-year period in a tertiary teaching hospital in Malaysia. *BMC Infect. Dis.* **17**, 1–14 (2017).
  68. Sancak, B., Yag, S. & Mirza, H. C. Evaluation of vancomycin and daptomycin MIC trends for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates over an 11 year period. *J. Antimicrob. Chemother.* 2689–2691 (2013). doi:10.1093/jac/dkt247
  69. Sancak, B. *et al.* Vancomycin and daptomycin minimum inhibitory concentration distribution and occurrence of heteroresistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates in Turkey. *BMC Infect. Dis.* **13**, 1–6 (2013).
  70. Velasco, C. *et al.* Clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing bacteraemia in Southern Spain. *J. Hosp. Infect.* **81**, 257–263 (2012).
  71. Rojas, L. *et al.* Vancomycin MICs do not predict the outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in correctly treated patients. *J. Antimicrob. Chemother.* **67**, 1760–1768 (2012).
  72. Aguadero, V., González-Velasco, C., Vindel, A., González-Velasco, M. & Moreno, J. J. Situación actual de la infección por *Staphylococcus aureus* resistente a metilina en Extremadura : sensibilidad, clonalidad y protagonismo de la adquisición extrahospitalaria. *Rev. Española Quimioter.* **27**, 180–189 (2014).
  73. Lewis, T., Chaudhry, R., Nightingale, P., Lambert, P. & Das, I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia : epidemiology , outcome and laboratory characteristics in a tertiary referral center in the UK. *Int. J. Infect. Dis.* **15**, e131–e135 (2011).
  74. Edwards, B. *et al.* Is Vancomycin MIC “ Creep ” Method Dependent ? Analysis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Susceptibility Trends in Blood Isolates from North East Scotland from 2006 to 2010. *J. Clin. Microbiol.* **50**, 318–325 (2012).
  75. Hos, N. J. *et al.* Determining vancomycin Etest MICs in patients with MRSA bloodstream infection does not support switching antimicrobials. *J. Infect.* (2017). doi:10.1016/j.jinf.2016.12.007
  76. Bassetti, M., Mesini, A., Molinari, M. P. & Viscoli, C. Vancomycin susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteraemia isolates in an Italian hospital. *Int. J. Antimicrob. Agents* **38**, 453–454 (2011).

77. Cojutti, P. *et al.* A 5-year survey of antimicrobial susceptibility profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from patients with bloodstream infections in Northeast Italy. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **81**, 53–56 (2015).
78. Silvestre, J., Póvoa, P., Gonçalves, E. & Martins, F. Is vancomycin MIC creep a worldwide phenomenon? Assessment of *S. aureus* vancomycin MIC in a tertiary university hospital. *BMC Res. Notes* **6**, 1–4 (2013).
79. Diaz, R., Ramalheira, E., Afreixo, V. & Gago, B. Evaluation of vancomycin MIC creep in *Staphylococcus aureus* infections. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **10**, 281–284 (2017).
80. Souli, M. *et al.* Nationwide surveillance of resistance rates of *Staphylococcus aureus* clinical isolates from Greek hospitals, 2012 – 2013. *Infect. Dis. (Auckl)*. (2015). doi:10.3109/23744235.2015.1110858
81. Guzek, A., Rybicki, Z. & Tomaszewski, D. In vitro analysis of the minimal inhibitory concentration values of different generations of anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotics. *Indian J. Med. Microbiol.* **36**, 119–120 (2018).
82. Appleman, M. D. & Citron, D. M. Efficacy of vancomycin and daptomycin against *Staphylococcus aureus* isolates collected over 29 years. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **66**, 441–444 (2010).
83. Zheng, X. *et al.* Lack of increase in vancomycin resistance of pediatric methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from 2000 to 2007. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **29**, 882–884 (2010).
84. Kincaid, K. A., Syverson, S., Borchardt, S. M., Ji, M. & Lo, T. S. Vancomycin MIC trend and association with outcomes. *Arch. Clin. Microbiol.* **2**, 1–6 (2011).
85. Mahajan, S. N. *et al.* Characteristics and Outcomes of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections in Patients with Cancer Treated with Vancomycin: 9-Year Experience at a Comprehensive Cancer Center. *Oncologist* **17**, 1329–1336 (2012).
86. Shoyinka, A. *et al.* Evaluation of in vitro susceptibility trends by strain type to vancomycin and daptomycin of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infection. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* (2014). doi:10.1016/j.jgar.2014.05.002
87. Mcneil, J. C., Kok, E. Y., Forbes, A., Lamberth, L. & Hulten, K. G. Healthcare-associated *Staphylococcus aureus* bacteremia in children: Evidence for reverse vancomycin creep and impact of vancomycin trough levels on outcome. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **35**, 263–268 (2016).
88. Silveira, A. C. O., Cunha, G. R., Caierão, J., Cordova, C. M. De & Pedro, A. MRSA from Santa Catarina State, Southern Brazil: intriguing epidemiological differences compared to other Brazilian regions. *Brazilian J. Infect. Dis.* **19**, 384–389 (2015).
89. Múnera, J. M., Ríos, A. M., Urrego, D. M. & Quiceno, J. N. In vitro susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from skin and soft tissue infections to vancomycin , daptomycin , linezolid and tedizolid. *Brazilian J. Infect. Dis.* **21**, 493–499 (2017).
90. van Hal, S. J. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* vancomycin susceptibility testing: methodology correlations, temporal trends and clonal patterns. *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 2284–2287 (2011).