



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Doenças Infeciosas

Relevância Clínica de *Small Colony Variants* de *Staphylococcus aureus*

Pedro Miguel da Silva Carreira

Fevereiro'2019

U

LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Doenças Infecciosas

Dirigente: Prof. Doutora Emília Valadas

Relevância Clínica de *Small Colony Variants de Staphylococcus aureus*

Pedro Miguel da Silva Carreira

Orientado por:

Dr. Robert Alfred Badura

Fevereiro'2019

Resumo

SCV S. aureus constitui uma subpopulação de *S. aureus* com características fenotípicas distintas, tendo sido recentemente associado a infeções crónicas e resposta insatisfatória à terapêutica. Com o objetivo de determinar o real impacto clínico *SCV S. aureus*, identificar a população em risco, analisar os métodos de isolamento e o melhor tratamento procedeu-se a uma revisão da literatura disponível, com destaque à relevância clínica de *SCV S. aureus*.

Foram identificados um total de 46 artigos clínicos, dos quais 27 comunicações originais e 19 com casos clínicos, e 6 artigos de revisão sobre o tema.

Através desta análise, foi possível verificar a associação frequente de *SCV S. aureus* a infeções de dispositivos médicos. Em termos de métodos de identificação, verificou-se uma elevada necessidade de utilização de meios de cultura suplementados para identificar *SCV S. aureus* (51% dos casos clínicos e 100% das séries de doentes), bem como uma elevada utilização de métodos moleculares (em 50% dos casos clínicos e séries de doentes). Relativamente à terapêutica foi possível verificar uma elevada taxa de insucesso terapêutico (20%), bem como a necessidade frequente de utilização de antibioticoterapia combinada para atingir sucesso terapêutico. Verificou-se também que, quando este tipo de infeção se associava a dispositivos médicos, a sua remoção era frequentemente necessária – 89% dos casos. Constatou-se uma grande associação entre a presença de *SCV S. aureus* em doentes com fibrose quística e a diminuição da função pulmonar.

Assim, foi possível concluir que infeções por *SCV S. aureus* têm uma relevância clínica importante, particularmente em infeções associadas a dispositivos e em infeções crónicas, com relevância epidemiológica e elevada dificuldade de deteção e tratamento. Por esta razão, parece importante considerar *SCV S. aureus* em infeções crónicas, especialmente se o tratamento indicado não teve sucesso.

Palavras-chave: *SCV S. aureus*, Deteção, Tratamento, Infeção crónica, Resistência.

“O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.”

Abstract

SCV S. aureus represents a subpopulation of *S. aureus* with distinct phenotypic characteristics, which recently was associated with chronic infections and unsatisfactory response to therapy. In order to determine the clinical impact of *SCV S. aureus*, identify the population at risk, determine the best microbiologic methods for identification and the optimized treatment, we proposed a review of all available literature, with emphasis towards clinical relevance of *SCV S. aureus*.

A total of 46 clinical articles were identified, of which 27 were original communications and 19 were clinical cases. Further 6 review-articles on the subject were consulted.

By this analysis, it was possible to verify a frequent association between *SCV S. aureus* and medical device infections. In terms of identification methods, there was a high need to use supplemented culture media to identify *SCV S. aureus* (51% of the clinical cases and 100% of the patient series), as well as a high use of molecular methods (in 50% of clinical cases and patient series). Regarding therapy, it was possible to verify a high rate of therapeutic failure (20%) as well as the frequent need of using combined antibiotic therapy to achieve therapeutic success. It was also found that, when this type of infection was associated with medical devices, its removal was often necessary – 89% of the cases. A great association was found between the presence of *SCV S. aureus* in patients with cystic fibrosis and decreased lung function.

Thus, it was possible to conclude that infections by *SCV S. aureus* have an important clinical relevance, particularly in infections associated with devices and in chronic infections, with epidemiological relevance and high difficulty in detection and treatment. Therefore, it seems important to consider *SCV S. aureus* in chronic infections and especially if the indicated treatment was unsuccessful.

Key words: *SCV S. aureus*, Detection, Treatment, Chronic infection, Resistance

Índice

Resumo	3
Abstract	4
Índice	5
Agradecimentos	6
Lista de Abreviaturas	7
Introdução	8
Métodos	9
<i>Small Colony Variants de Staphylococcus aureus</i> - revisão do conhecimento atual.	10
<i>Small Colony Variants de Staphylococcus aureus</i> , o que são?	10
Como é selecionado <i>SCV S. aureus</i> ?	11
Quando procurar <i>SCV S. aureus</i> ?	14
Como se pode detetar <i>SCV S. aureus</i> ?	14
Terapêutica – regimes atuais e futuros	16
Quais as implicações clínicas de uma infeção por <i>SCV S. aureus</i> ? – Análise.....	18
Prevalência	18
Meios de Identificação de <i>SCV S. aureus</i>	21
Terapêutica de <i>SCV S. aureus</i>	22
Relação da presença de <i>SCV S. aureus</i> com diminuição da função pulmonar	25
Conclusão.....	26
Anexos	27
Bibliografia	37

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer ao Dr. Robert Badura toda a disponibilidade e interesse ao longo da realização deste trabalho e da sua revisão. Quero também agradecer o facto de ter sido para mim, desde as aulas práticas de Infeciologia, um exemplo e mentor a seguir. Em segundo lugar quero agradecer à Clínica Universitária de Doenças Infeciosas, em especial ao Hugo Caldeira, pela rápida resposta às minhas questões e no acesso a vários artigos.

Por fim quero dirigir uma palavra de agradecimento à minha família, amigos e colegas de curso, que me acompanharam ao longo deste percurso, sem os quais esta longa caminhada de 6 anos não teria sido possível.

Lista de Abreviaturas

SCV *S. aureus*: *Small Colony Variants de Staphylococcus aureus*

***S. aureus*:** *Staphylococcus aureus*

MRSA: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

***P. aeruginosa*:** *Pseudomonas aeruginosa*

HQNO: 4-hidroxi-2-heptilquinolina-N-óxido

PCR: *Polymerase Chain Reaction* - Reação em cadeia da polimerase

MALDI-TOF-MS - *Matrix assisted laser desorption ionization - time of flight - mass spectrometry*

MSA - Agar manitol salgado

BHIA - Agar *brain–heart infusion*

FISH - *Fluorescence in situ hybridization* - hibridização fluorescente in situ

Introdução

Small colony variants de *Staphylococcus aureus* (SCV *S. aureus*) foi descrito pela primeira vez há mais de 100 anos. Apenas recentemente foi feita a associação entre estas e as infecções crônicas estafilocócicas, mais especificamente a infecções associadas a dispositivos médicos, à osteomielite e infecção de tecidos moles e também à infecção das vias aéreas em doentes com fibrose quística(1)(2).

As infecções por SCV *S. aureus* são, assim, um problema emergente devido, por um lado, à dificuldade de diagnóstico laboratorial, que torna plausível o seu subdiagnóstico, e, por outro, devido à resistência à terapêutica antimicrobiana(3)(4). Isto pode explicar, a razão de certas infecções por *S. aureus*, apesar da sensibilidade mantida, se tornam difíceis de tratar, com recaídas frequentes e disseminações secundárias.

Assim, propõe-se com esta revisão da literatura analisar a globalidade dos relatos clínicos de infecções por SCV *S. aureus*, bem como as investigações clínicas existentes, de forma a não só determinar a relevância clínica que infecções por SCV *S. aureus* têm e que tipo de população está em maior risco, mas também analisar os métodos de isolamento e tratamento deste tipo de infecção que tenham apresentado melhores resultados, para poder determinar globalmente o impacto clínico real de SCV *S. aureus*.

Métodos

Pesquisa em Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) de artigos em língua inglesa, recorrendo às palavras chave: “*Small colony variants Staphylococcus aureus*”. De todos os artigos encontrados, foram excluídos manualmente, através da leitura do *abstract*, todos os que não se relacionavam com estudo clínico da infeção por SCV *S. aureus*. Adicionalmente, através da consulta de artigos de revisão sobre o tema, foram selecionados mais artigos que ainda não tinham sido previamente encontrados através da Pubmed. Desta forma, foram selecionados um total de 46 artigos clínicos [19 artigos casos clínicos (perfazendo 32 casos clínicos) e 27 artigos de investigação clínica] e 6 artigos de revisão sobre o tema.

Com o objetivo de determinar a que tipos de infeções se associava mais frequentemente SCV *S. aureus*, os meios de identificação capazes de isolar este agente e os tipos de tratamento que apresentavam melhores resultados, foram analisados os artigos acima identificados, tendo sido sintetizada a informação deles retirada nas tabelas 2, 3, 4 e 5 que se encontram em anexo. Com os dados recolhidos, foi realizada a sua contabilização e análise gráfica através do programa Microsoft Excel, e análise estatística através do Graphpad, recorrendo a chi quadrado para determinar a diferença significativa, assumindo valores de $p < 0,05$.

***Small Colony Variants de Staphylococcus aureus* - revisão do conhecimento atual.**

Small Colony Variants de Staphylococcus aureus, o que são?

S. aureus é, cada vez mais, reconhecido como sendo um agente também intracelular, capaz de invadir diversas células do hospedeiro, e persistir intracelularmente durante longos períodos, o que explica a recorrência de determinadas infecções por *S. aureus* passados meses ou mesmo anos (5). Durante esta persistência intracelular, a bactéria adapta-se ao meio mudando o seu fenótipo para SCV, apresentando um metabolismo reduzido, com baixa produção de fatores de virulência, preservando assim a integridade da célula hospedeira e impedindo a ativação do sistema imune.(6) Desta forma, a persistência intracelular protege a bactéria não só da ação da antibioticoterapia, mas também do sistema de defesa do hospedeiro(7).

SCV *S. aureus* cresce como colônias de reduzidas dimensões, cerca de 10 vezes mais pequenas que *S. aureus* de fenótipo normal(3), não pigmentadas e não hemolíticas. Adicionalmente, apresentam expressão alterada dos genes de virulência e deficiência na cadeia de transporte de eletrões, pelo que exibem dependência de fatores de crescimento, como a timidina, hemina e menadiona(7)(8), fazendo com que sejam resistentes a aminoglicosídeos(3). Quando suplementadas com os nutrientes apropriados, são capazes de reverter ao fenótipo de *S. aureus* com colônias grandes, pigmentadas, hemolíticas e sensíveis à gentamicina(9).

Assim, SCV *S. aureus* constitui uma subpopulação de bactérias de crescimento lento com características fenotípicas e patogénicas distintas(4). O crescimento lento de SCV *S. aureus* pode ser explicado pelas alterações genéticas que nele ocorre, havendo um predomínio de genes cuja expressão está diminuída em relação aos genes cuja expressão está aumentada(8). SCV *S. aureus* apresenta frequentemente atividade reduzida de algumas reações bioquímicas chave para a identificação de *S. aureus*, como é exemplo a atividade da coagulase e a utilização de manitol(10). Por estas razões, são difíceis de detetar, pelo que a sua prevalência precisa é desconhecida,(2) sendo que se estima, segundo diferentes estudos, que esta varie entre 1% e 30% nas amostras clínicas(11).

SCV S. aureus tem sido observado em diversas infecções durante décadas, contudo, a sua relevância clínica ainda não é bem conhecida. As infecções por *SCV S. aureus* são de particular importância devido à sua resistência a aminoglicosídeos e possivelmente a outros antibióticos(12). *SCV S. aureus* tem sido associado a vários tipos de infecções persistentes, como osteomielite crônica, abscessos cutâneos profundos, endocardite, abscessos cerebrais, infecções associadas as próteses, infecções endobrônquicas e bacteriemia(13).

Os doentes em risco de infecção por *SCV S. aureus* são aqueles que são sujeitos a longos períodos de antibioticoterapia, como é o caso de doentes com fibrose quística, infecções dos tecidos moles, osteomielite e sinusite(14). *SCV S. aureus* tem sido isolado em doentes cuja infecção aguda parecia ter respondido à antibioticoterapia, tendo posteriormente ocorrido recorrência da infecção e também em doentes cujas infecções persistem apesar de terapêutica antibiótica apropriada(15).

Os defeitos metabólicos combinados com a sobrevivência intracelular e a produção de biofilme alteram o perfil de suscetibilidade de *SCV S. aureus*, contribuindo para o insucesso terapêutico(14).

Em termos de gravidade clínica da infecção, *SCV MRSA* causam infecções mais severas, com taxas de mortalidade superiores, em comparação com infecções provocadas por *MRSA*(11)(3).

O fenótipo *SCV* tem sido também observado noutras bactérias como *Staphylococcus coagulase negativa*, *Pseudomonas*, *Burkholderia cepacia* e *Escherichia coli*(16). O surgimento de *SCV* em muitas espécies bacterianas tem sido interpretado como um mecanismo natural de sobrevivência(10).

Como é selecionado *SCV S. aureus*?

A exposição a diferentes classes de antibióticos contribui frequentemente para a seleção de *SCV S. aureus* com origem numa população de *S. aureus* de fenótipo normal (4)(17)(18)(19)(20)(21). A emergência de *SCV S. aureus* associada à falha na resposta

terapêutica antimicrobiana sugere que as infecções associadas a *SCV S. aureus* não são eventos excepcionais, sendo que a sua frequência real poderá estar subestimada.(17)

SCV S. aureus pode ser selecionado pela exposição a aminoglicosídeos, surgindo frequentemente devido a mutações que impedem o funcionamento da cadeia transportadora de eletrões, o que leva à diminuição da entrada de fármaco para o interior da bactéria(12). Também foi demonstrado que a exposição prolongada de *S. aureus* a trimetropim-sulfametoxazol favorece a seleção de *SCV S. aureus* dependentes de timidina(22)(10). Esta relação pode ser verificada com frequência nos doentes com fibrose quística(10). Desta forma, todas as amostras clínicas de doentes com infecções crónicas e cuja anamnese apresenta tratamento com trimetropim-sulfametoxazol devem ser cuidadosamente estudadas para a presença de *SCV S. aureus*(23).

Apesar da emergência de *SCV S. aureus* estar associada à utilização prolongada de antibióticos, é possível o seu isolamento após períodos prolongados livres da sua utilização(24), pelo que a terapêutica antibiótica não pode ser o único fator a explicar a persistência de *SCV S. aureus* (7)(13).

A razão da emergência e persistência de *SCV S. aureus* na ausência de exposição a antibióticos tem sido explicada pela sua localização intracelular, garantida pelo aumento da expressão de genes de resposta ao stress e pela diminuição da virulência, resultando num menor dano da célula hospedeira e aumento da resistência da bactéria às defesas do hospedeiro(13). Um estudo recente demonstrou que as subpopulações de *SCV S. aureus* emergem e expandem durante o crescimento exponencial de *S. aureus*, através da mudança de fenótipo, num processo natural, que não requer nenhuma pressão seletiva(13)(3). Vários espécimes de *SCV S. aureus* isolados na clínica foram classificados como fenotipicamente instáveis, revertendo para o fenótipo normal em condições de crescimento normal no laboratório. Baseado nestas observações, tem sido sugerido que as alterações genéticas subjacentes ao fenótipo de *SCV S. aureus* são instáveis e autoinduzidas. (13)

A coinfeção por *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), é um outro fator que pode levar à seleção de *SCV S. aureus*(13). O exo produto de *P. aeruginosa*, o 4-hidroxi-2-heptilquinolina-N-óxido (HQNO), é capaz de inibir o metabolismo de *S. aureus*, protegendo-o contra a ação dos aminoglicosídeos. Adicionalmente o crescimento

prolongado de *S. aureus* juntamente com *P. aeruginosa*, leva à seleção de SCV *S. aureus*. Assim, nas coinfeções com *P. aeruginosa*, *S. aureus* pode ser subvalorizado como agente patogénico devido à formação de SCV *S. aureus*, por serem difíceis de detetar e resistentes à antibioticoterapia(12)(14)(22). Contudo, o facto da coinfeção de *S. aureus* com *P. aeruginosa* ser um fator indutor de SCV *S. aureus* não foi confirmado noutro estudo(25).

Existe também um efeito sinérgico na formação de SCV *S. aureus* entre os aminoglicosídeos e o exo produto HQNO, ou seja, o efeito de ambos os fatores a atuar em conjunto é superior à soma dos seus efeitos separadamente. Este sinergismo tem provável significado clínico dado que tanto os aminoglicosídeos com o HQNO estão facilmente presentes durante o tratamento de muitas coinfeções de *S. aureus* e *P. aeruginosa*(12). Vários estudos mostraram que os portadores de SCV *S. aureus* eram mais frequentemente colonizados também com *P. aeruginosa* do que os portadores de *S. aureus normal*(7)(14)(24).

Um outro estudo revelou que SCV *S. aureus* era selecionado in vivo mais frequentemente devido à antibioticoterapia com trimetropim-sulfametoxazol do que devido a coinfeção com *P. aeruginosa*(22).

Demonstrou-se que o pH baixo é também capaz de induzir a formação de SCV *S. aureus* não replicativo e de voltar a crescer, havendo também evidência de que SCV *S. aureus* pode ser selecionado pela resposta imune do hospedeiro, através dos péptidos antimicrobianos. Desta forma, é possível que o pH baixo das feridas infetadas, provocado pela baixa oxigenação e elevada infiltração celular, contribua para a seleção de SCV *S. aureus*(13).

Num outro estudo, SCV *S. aureus* foi isolado após ou na mesma altura do isolamento de *S. aureus* de fenótipo normal, sugerindo assim que SCV *S. aureus* é geralmente selecionado in vivo e não através de transmissão de SCV *S. aureus* entre indivíduos(22).

Quando procurar SCV *S. aureus*?

Devem ser realizados esforços adicionais para detetar SCV *S. aureus* quando determinada infecção é particularmente resistente à antibioticoterapia, quando persiste durante longos períodos ou quando falha em responder à terapêutica aparentemente adequada. Nestas situações, os clínicos devem pedir ao laboratório especificamente a pesquisa de SCV *S. aureus*(15).

Como se pode detetar SCV *S. aureus*?

O isolamento e identificação de SCV *S. aureus* é um grande desafio para os laboratórios de microbiologia. Por um lado, é difícil isolar estas colónias porque elas são instáveis e podem rapidamente reverter para o fenótipo original(3), por outro, o tempo de divisão de SCV *S. aureus* é cerca de seis vezes mais longo em comparação com *S. aureus* de fenótipo normal(20), pelo que facilmente este impede a identificação de SCV *S. aureus*(27). Esta dificuldade pode levar a um subdiagnóstico de SCV *S. aureus* e, assim, conduzir a insucesso terapêutico(11)(24)(13).

É necessário um alto nível de suspeita para detetar SCV *S. aureus*(13). Os laboratórios devem estar particularmente atentos para a presença de SCV *S. aureus* quando as amostras têm origem em doentes que receberam antibioticoterapia de longa duração, especialmente se a infecção é persistente ou recorrente(3)(4)(11)(26). Neste tipo de infeções, deve suspeitar-se de SCV *S. aureus* sempre que surgem colónias de reduzidas dimensões, mesmo na presença de colónias normais de *S. aureus*. Estes agentes devem ser ativamente pesquisados através do uso de meios seletivos e condições de crescimento apropriadas(5). No agar de Muller-Hinton, meio convencionalmente usado nos testes bacteriológicos, SCV *S. aureus* cresce com dificuldade(10), pois o agar de Muller-Hinton não contém concentração suficiente de timidina(28).

O agar de Columbia com sangue foi identificado como o melhor meio para a identificação de SCV *S. aureus*(10). Fenotipicamente, suspeita-se de SCV *S. aureus* se em agar de Columbia houver crescimento de pequenas colónias, não pigmentadas, não hemolíticas, mas estas forem de tamanho normal, hemolíticas e pigmentadas no agar de Schaedler

(11)(5)(29). A não utilização deste último meio pode levar à não identificação de *SCV S. aureus*(5).

Segundo outros estudos, o melhor método para detetar *SCV S. aureus* é cultivar nos meios MSA (agar manitol salgado) e BHIA (brain–heart infusion agar) 5% NaCl. Na utilização dos meios MSA e BHIA 5% NaCl em conjunto, a taxa de deteção de *SCV S. aureus* foi de 86,6%. Estes meios suprimem o crescimento de *P. aeruginosa* e suportam o crescimento de *S. aureus* de fenótipo normal e de *SCV S. aureus*. Desta forma, estes dois meios podem ser uma escolha apropriada para a deteção de *SCV S. aureus*, especialmente em laboratórios de menor dimensão.(24)

SCV S. aureus é raramente identificado pelos sistemas automáticos utilizados de rotina em muitos laboratórios de microbiologia. Estas dificuldades levaram ao desenvolvimento de ferramentas de identificação genética quando existem suspeitas clínicas de infeção por *SCV S. aureus*(5). A identificação bacteriana através de PCR é um procedimento simples que fornece resultados fiáveis em cerca de 4h. O tempo poupado com a utilização destas técnicas permite ter benefícios não só clínicos como também financeiros na gestão de infeções por *SCV S. aureus*(5).

Os erros de identificação que ocorrem nos sistemas automáticos podem dever-se aos curtos tempos de incubação usados nestes sistemas ou aos baixos níveis de discriminação das suas bases de dados(5)(3). Assim, os sistemas automáticos de identificação, como o *API* ou o *VITEK*, não são suficientes para a correta identificação de *SCV S. aureus*. Desta forma, existindo a suspeita de *SCV S. aureus*, as amostras devem ser avaliadas através da deteção de genes específicos da espécie (genes *spa*, *nuc* ou *coa*), ou através de *FISH* do gene *16s rRNA*. Estes métodos moleculares podem ser cruciais para identificar este tipo de agentes.(16)

Relativamente à avaliação da suscetibilidade antibiótica das *SCV S. aureus*, não existe nenhuma técnica standardizada(30)(31). Para deteção de resistência à meticilina, tanto os métodos de difusão como de microdiluição podem dar resultados de falsa sensibilidade. Nestes casos, o método mais eficaz para determinar a resistência antibiótica à meticilina será a realização de PCR para deteção do gene *mecA* ou a deteção da proteína *PBP2a*, permitindo assim a identificação de *SCV MRSA*.(10)(30)

Assim, a chave para identificar com sucesso *SCV S. aureus* é a utilização de uma extensa bateria de culturas e técnicas de identificação(5)(3). A raridade com que os laboratórios pesquisam *SCV S. aureus* indica que os médicos estão frequentemente inconscientes destas infecções altamente resistentes a antibióticos. Desta forma, a pesquisa de *SCV S. aureus* permitiria fornecer informação mais completa, que pode ter impacto na seleção da terapêutica(11)(22).

Terapêutica – regimes atuais e futuros

Alguns especialistas têm sugerido que o tratamento de infecções por *SCV S. aureus* deve ser realizado de forma diferente da realizada nas infecções por *S. aureus* de fenótipo normal(26)(18). Atualmente, não existem estudos clínicos prospectivos que demonstrem qual a melhor opção terapêutica para infecções por *SCV S. aureus*(16), não tendo as revisões realizadas sobre a atividade dos agentes antimicrobianos contra *SCV S. aureus* mostrado recomendações precisas sobre qual o melhor regime terapêutico(10)(26)(13). Tem sido demonstrado em vários estudos que *SCV S. aureus* é pouco sensível à maioria dos antibióticos(32) e a sua natureza heterogênea (características fenotípicas semelhantes, mas de mecanismos causais distintos) adiciona dificuldade no desenvolvimento de uma estratégia antibiótica(13).

Desta forma, o tratamento de *SCV S. aureus* é hoje um desafio. Possíveis escolhas poderão ser rifampicina, fluoroquinolonas ou dalfopristina. Os aminoglicosídeos não são recomendados(8), pois nestas bactérias existe defeito na cadeia transportadora de eletrões, que impede a manutenção do gradiente através da membrana, o que reduz a entrada deste tipo de antibiótico para o interior da bactéria, impedindo o seu efeito(10). Como *SCV S. aureus* cresce lentamente, tem baixa sensibilidade a antibióticos cujo alvo é a parede celular, como é o caso dos beta-lactâmicos(9)(24). A vancomicina é recomendada como 1ª linha para MRSA, contudo a sua atividade contra *SCV S. aureus* tem-se mostrado diminuída, com falhas terapêuticas a serem reportadas(13). Num estudo recente, foi ainda demonstrado que altas doses de vancomicina, aquando da coexistência de *SCV S. aureus* com *S. aureus* de fenótipo normal, tinham capacidade para selecionar *SCV S. aureus*, induzindo a sua expansão, colocando assim a hipótese de a vancomicina poder promover a expansão e persistência de *SCV S. aureus*(13).

Baseado no conhecimento de que *SCV S. aureus* persiste intracelularmente, uma opção clara é a utilização de fármacos com atividade intracelular, como é o caso da rifampicina, que tem atividade bactericida contra agentes de crescimento lento, produtores de biofilme, que aderem às superfícies(26). O uso de rifampicina em monoterapia origina rapidamente resistências(17), pelo que se recomenda a sua associação com outro antibiótico, como por exemplo β -lactâmicos para o tratamento de *SCV S. aureus* sensíveis à meticilina, ou a vancomicina se *SCV MRSA*. Também é recomendada a combinação de rifampicina com fluoroquinolona(10)(13)(26), devido à sua boa biodisponibilidade, atividade antimicrobiana e tolerabilidade. A escolha destes dois antibióticos pode ser também justificada pelo facto de a deficiência na cadeia transportadora de eletrões existente em *SCV S. aureus* provavelmente não interferir com a eficácia destes antibióticos(26). No entanto, esta opção parece inadequada para o tratamento de *SCV MRSA*, geralmente resistente a fluoroquinolonas(17).

Verificou-se que estas variantes morfológicas são hipermutáveis, o que pode favorecer a aquisição de resistências e persistência(10). Em caso de resistência, as decisões são feitas com base nas concentrações inibitórias mínimas. Dado que *SCV S. aureus* é difícil de tratar, em infeções associadas a dispositivos externos, estes devem ser removidos, de forma a alcançar a cura da infeção(16)(26)(19). A administração de vitamina K juntamente com terapêutica anti-estafilocócica pode ser eficaz, pois pode contornar os defeitos metabólicos de *SCV S. aureus*, permitindo o metabolismo normal *in vivo*, podendo assim os agentes β -lactâmicos ser eficazes(9)(20).

Assim, as opções de antibioticoterapia para o tratamento de *SCV S. aureus* são bastante limitadas, estando comprometidas pelo elevado risco de emergência de resistência antibiótica(17). Dado que os antibióticos atuam em bactérias em crescimento, a concentração inibitória mínima está aumentada em bactérias com crescimento lento. Como os antibióticos sistémicos não podem atingir concentrações tão elevadas tornam-se ineficazes(33). Assim, a alta capacidade destes agentes invadirem as células do hospedeiro e de se adaptarem ao meio intracelular deve ser considerada no desenvolvimento de estratégias preventivas (vacinação contra agentes intracelulares) e terapêuticas (antibióticos que atuem em bactérias adaptadas ao meio intracelular)(6).

Quais as implicações clínicas de uma infecção por *SCV S. aureus*? – Análise

Prevalência

A associação de *SCV S. aureus* a infecções crônicas e recorrentes de acordo com a sua capacidade de persistir intracelularmente apenas foi reconhecida em anos mais recentes(1). O primeiro artigo identificado que reporta casos clínicos de infecções por *SCV S. aureus* remonta a 1994 e 1995. Nos últimos 20 anos, têm sido publicados vários relatos de casos associados a infecções por *SCV S. aureus*. De seguida, vão ser analisados os casos clínicos e as séries de doentes presentes na literatura, tendo sido identificados 19 artigos, nos quais constavam um total de 32 casos clínicos e 18 artigos no qual constavam igual número de séries de doentes.

Em relação aos casos clínicos presentes na literatura, foi realizada a sua catalogação em relação ao tipo de infecção, aos detalhes clínicos de cada caso, aos meios de identificação utilizados (distinguindo aqueles que conseguiram identificar *SCV S. aureus*), à terapêutica utilizada (distinguindo a terapêutica que teve sucesso no tratamento da infecção) e à existência ou não antibioticoterapia prévia à identificação de *SCV S. aureus*. Esta catalogação pode ser encontrada na *tabela 2*, que se encontra em anexo. De igual forma, foi realizada a catalogação das séries de doentes, tendo em conta o tipo de infecção associada, detalhes clínicos, número de doentes estudados, número de doentes em que foi identificado *SCV S. aureus*, meios de culturas utilizados (distinguindo aqueles que tiveram sucesso na identificação de *SCV S. aureus*) e terapêutica antibiótica utilizada. Esta catalogação pode ser observada nas tabelas 3, 4, 5 em anexo.

Tal como se pode observar no gráfico 1, as infecções por *SCV S. aureus* relatadas na literatura ocorrem predominantemente em infecções associadas a dispositivos médicos, como é o caso de próteses ortopédicas e dispositivos cardíacos, que originam endocardite e bacteriemia, e a osteomielite e artrite séptica, o que vem de encontro ao relatado em vários artigos de revisão. Adicionalmente, a análise dos casos clínicos presentes na literatura permite concluir que infecções por *SCV S. aureus* podem ocorrer na sequência de intervenções cirúrgicas como é o caso de um doente que teve um abscesso cerebral.

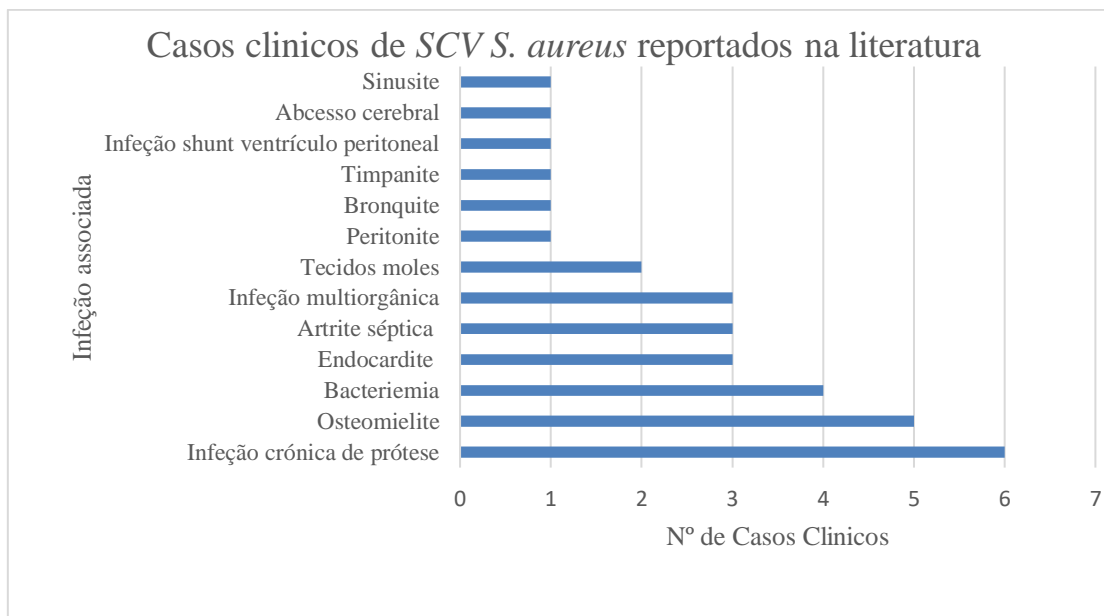


Gráfico 1: Infecções associadas a SCV *S. aureus* identificadas nos casos clínicos (n=32) presentes na literatura.

Já em relação às séries de doentes, é evidente uma predominância de séries que avaliam a presença de SCV *S. aureus* em doentes com fibrose quística, com 12 séries que avaliaram na sua globalidade 2987 portadores desta doença. Uma outra série avaliou a presença de SCV *S. aureus* em infeções de prótese articular em 113 doentes, (uma série que também avaliou o mesmo tipo de infeção foi excluída da análise por não apresentar o número de doentes em que foi identificado SCV *S. aureus*). Por fim, séries de doentes com infeção de úlcera de pé diabético (120 doentes avaliados), de doentes com rinossinusite crónica (23 doentes avaliados), e de doentes com infeção piogénica da pele, tecidos moles e osso.

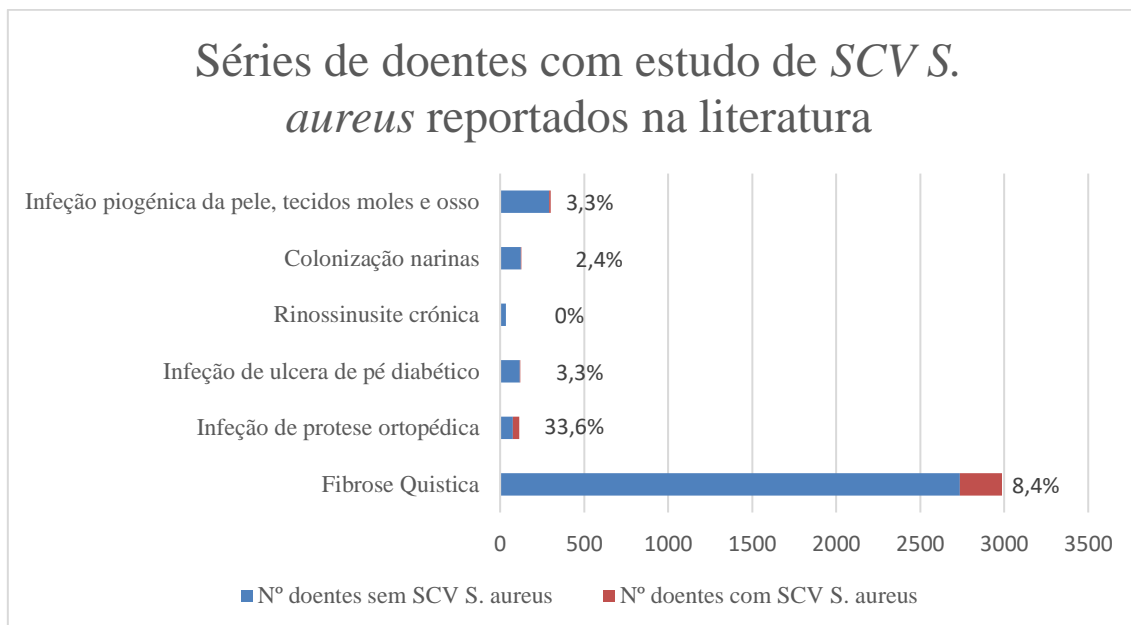


Gráfico 2: Séries de doentes presentes na literatura que avaliaram a presença de *SCV S. aureus* em vários tipos infeções, apresentando a relação entre o número de doentes em que não foram detetados *SCV S. aureus* e o número de doentes em que *SCV S. aureus* foi detetado. Em frente de cada barra encontra-se a percentagem do total de doentes avaliados em que foi detetado *SCV S. aureus*.

Da análise dos dados, é possível concluir que a série de doentes que avaliou infeções de próteses ortopédicas é aquela que apresenta uma maior prevalência de *SCV S. aureus*, cerca de 34%. De seguida, temos as séries que avaliaram doentes com fibrose quística, com uma prevalência global de 8,4%. Depois, temos as séries de infeções de úlcera do pé diabético (3,3%), infeções piogénicas da pele, tecidos moles e osso (3,3%) e colonização de narinas (2,4%). Por fim temos a série que avaliou doentes com rinossinusite crónica, que não detetou *SCV S. aureus*.

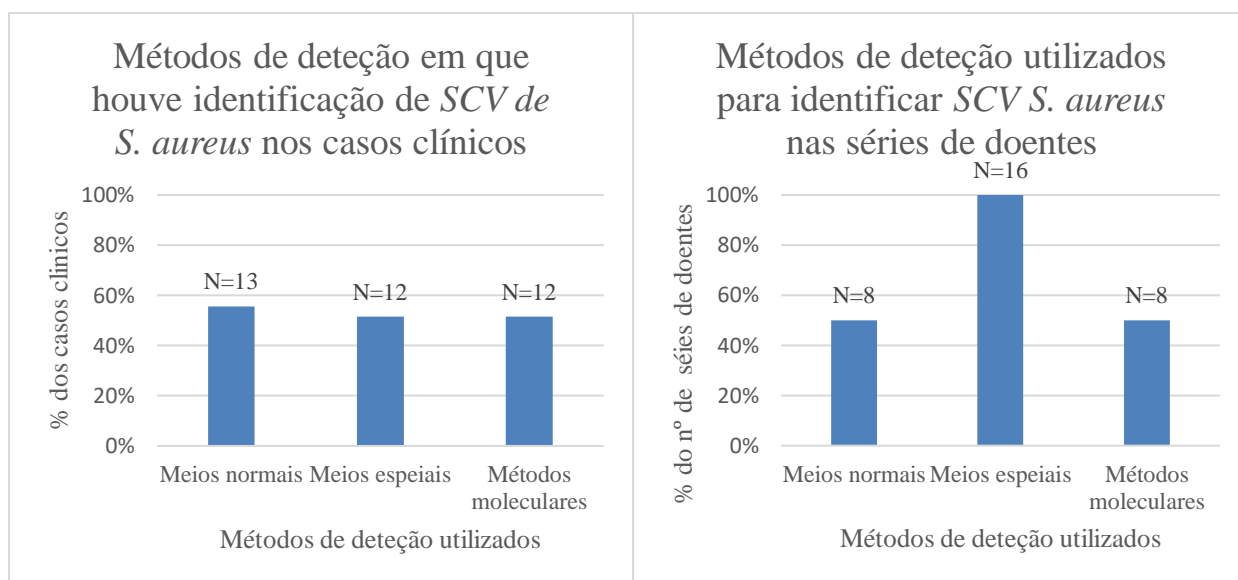
Estes resultados, apesar da elevada heterogeneidade das séries apresentada, com uma reduzida variedade de tipos de infeções estudadas, permitem verificar que existe uma predominância de *SCV S. aureus* em infeções de próteses ortopédicas e em doentes com fibrose quística, o que está de acordo com a literatura, que associa este tipo de infeções a doentes com dispositivos médicos, que é o caso das próteses ortopédicas, e doentes medicados frequentemente com antibióticos, de que são exemplo os doentes com fibrose quística.

Desta forma, não só pelo elevado número de casos clínicos descritos na literatura, mas também pela considerável percentagem de doentes nas séries apresentadas em que foi identificado *SCV S. aureus*, é possível concluir que a presença deste agente é uma

realidade, com possíveis consequências clínicas importantes, o que levanta a questão quais os métodos mais indicados para a sua identificação, bem como quais os melhores esquemas terapêuticos.

Meios de Identificação de SCV *S. aureus*

Da análise dos meios de deteção utilizados tanto nos casos clínicos como nas séries de doentes foi possível contruir os *gráficos 3 e 4*.



Gráficos 3 e 4: Meios de deteção utilizados com sucesso na identificação de SCV *S. aureus* e meios de deteção utilizados nas séries de doentes (nestas não se encontrava presente a informação se os métodos de deteção utilizado tiveram sucesso ou não). Como meios normais são considerados hemoculturas e agar de sangue, como meios especiais são considerados agar Columbia, agar Schaedler, agar Terrific, agar trypticase soy, agar manitol salgado, agar brain-heart-infusion, agar MacConkey, agar Mueller Hinton, agar chocolate, agar de identificação de *S. aureus*, agar seletivo para *Burkholderia cepacia*, agar meropenem e polimixina, agar Eosin Methylene Blue, agar OFPBL, agar brucela e agar endo, como métodos moleculares são considerados a PCR e MALDI-TOF MS. Não foram considerados 11 casos clínicos e 2 séries de doentes, pois não abordaram o tema dos meios de deteção utilizados.

É possível observar que houve uma elevada necessidade de utilização de meios de cultura especiais para identificar SCV *S. aureus* – 51% dos casos clínicos e 100% das séries de doentes. Esta informação vem de encontro ao relatado na literatura, ou seja, SCV *S. aureus* cresce de forma lenta, com alterações metabólicas, pelo que frequentemente necessita de meios suplementados para que a sua identificação seja possível. Adicionalmente, podemos observar uma elevada utilização de métodos moleculares – 51% dos casos

clínicos e 50% das séries de doentes, o que se poderá justificar pelo difícil crescimento em meios de cultura deste tipo de agente, com características que podem levar à sua identificação como outro tipo de agente, pelo que os métodos moleculares desempenham um papel muito importante como confirmação da identificação.

Terapêutica de SCV *S. aureus*

Em relação à terapêutica antibiótica utilizada que teve sucesso na aparente cura de infeção por SCV *S. aureus*, foi feita a análise, dividindo entre esquemas de dupla terapia e esquemas de monoterapia. Do total de 32 casos clínicos, 31 casos referiam o resultado da terapêutica implementada, sendo que dentro destes, 25 casos clínicos apresentavam terapêutica que obteve resultados positivos, e 6 casos clínicos em que nenhuma intervenção terapêutica teve sucesso [5 não responderam à terapêutica (monoterapia) e 1 faleceu].

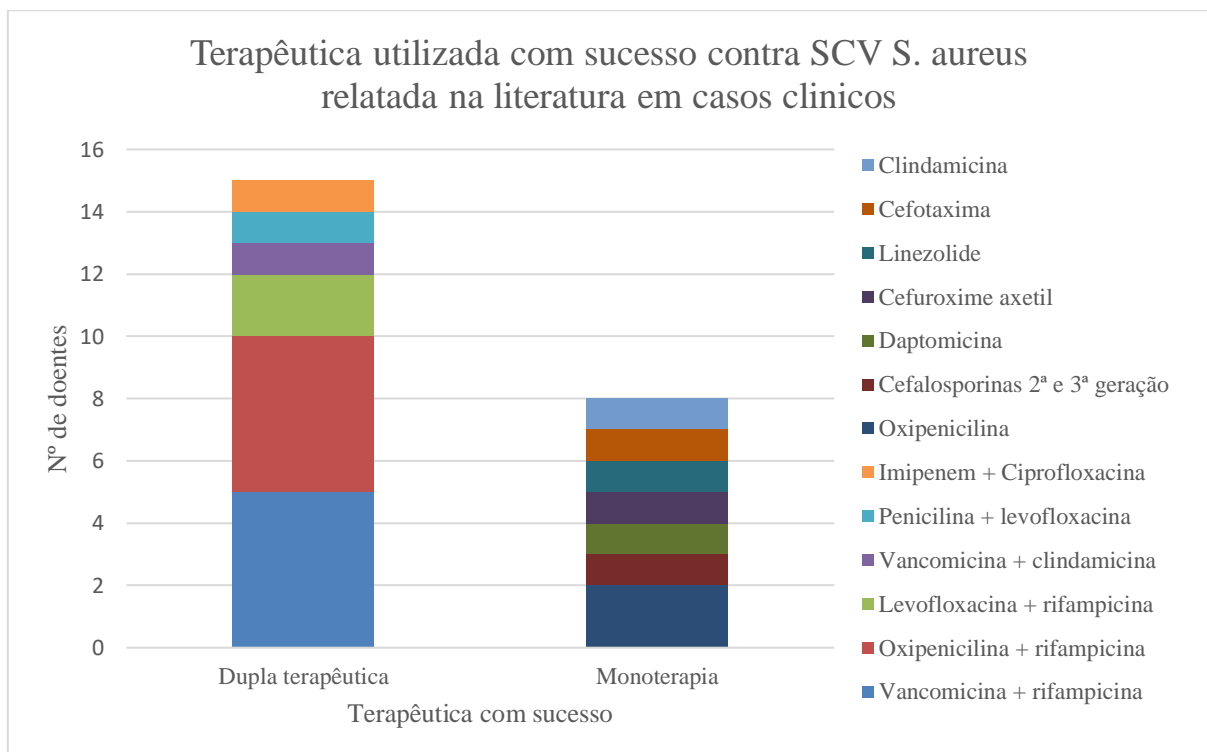


Gráfico 5: Terapêutica antibiótica utilizada com sucesso nos casos clínicos relatados na literatura, dupla terapêutica antibiótica vs monoterapia antibiótica. Estão representados os 23 casos clínicos existentes na literatura que reportavam o tipo de antibioticoterapia que teve sucesso, ficando assim de parte 6 casos clínicos em que não houve sucesso terapêutico e 2 casos clínicos em que a terapêutica com sucesso foi a remoção da prótese sem antibioticoterapia associada, perfazendo assim os 31 casos clínicos que abordaram o resultado da terapêutica implementada.

Da análise do gráfico 4, pode verificar-se que há um predomínio de esquemas de dupla terapia e, dentro deste, pode-se observar que os esquemas de vancomicina mais rifampicina e oxi-penicilinas mais rifampicina foram aqueles mais vezes utilizados com sucesso.

Tabela 1 – Comparação da resposta terapêutica dupla terapia vs monoterapia dos casos clínicos presentes na literatura, com uma diferença estatisticamente significativa $p=0,0012$.

Terapêutica usada/Resposta à terapêutica	Respondeu antibioticoterapia	Não respondeu à antibioticoterapia
Dupla terapia	15	0
Monoterapia	8	5

Analisando a tabela 1, podemos concluir que todos os doentes que não responderam à terapêutica estavam a realizar antibioticoterapia em monoterapia, e que, dentro dos doentes que obtiveram sucesso terapêutico com antibioticoterapia (23 doentes), 65% encontravam-se medicados com dupla antibioticoterapia. Estes dados vêm reforçar, por um lado, a dificuldade de tratamento de infeções por *SCV S. aureus*, o que vem de acordo com a literatura, e, por outro, a necessidade bastante frequente de dupla antibioticoterapia para atingir o sucesso terapêutico.

Importa ainda destacar o papel da remoção dos dispositivos médicos (quer seja uma prótese ortopédica ou dispositivo cardíaco) e da amputação de estruturas com tecido infetado, para o sucesso da terapêutica de infeções associadas a *SCV S. aureus*. Este facto pode comprovar-se pelo elevado número de casos clínicos identificados (9) em que foi necessário a remoção do dispositivo/tecido infetado para tratar com sucesso a infeção.

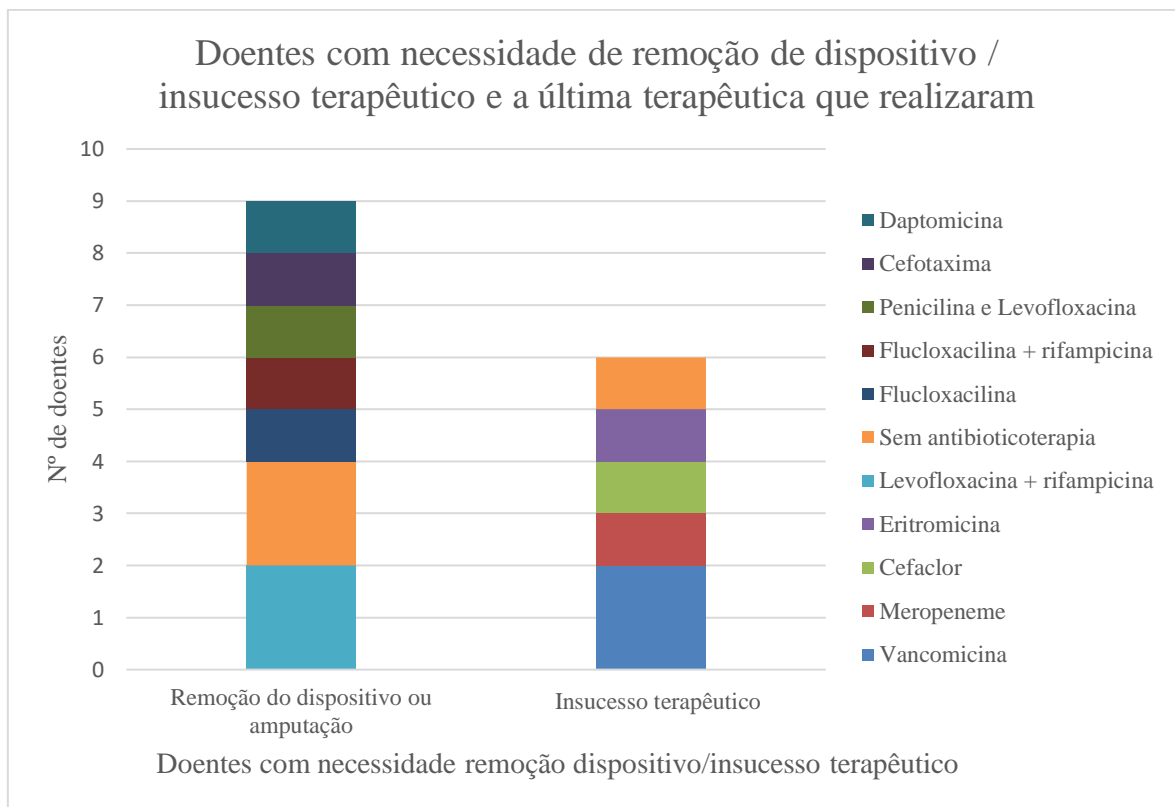


Gráfico 6: Doentes com necessidade de remoção de dispositivo/amputação ou doentes com insucesso terapêutico. São apresentadas as terapêuticas que os doentes com necessidade de remoção de dispositivo realizaram simultaneamente, bem como a última terapêutica antibiótica que os doentes com insucesso terapêutico realizaram.

De todos os casos clínicos presentes na literatura que apresentavam doentes com dispositivos médicos (9 doentes), apenas um conseguiu realizar terapêutica antibiótica sem necessidade de remoção do dispositivo, necessitando neste caso de antibioticoterapia contínua.

Relativamente à taxa de insucesso terapêutico, podemos observar que dos 31 casos clínicos que referiam o resultado da terapêutica, 6 doentes apresentaram insucesso terapêutico. Assim, podemos ver que a taxa de insucesso terapêutico ronda os 20%. Este valor vem de novo reforçar a importância de infeções por *SCV S. aureus*, uma vez que estas se associam a elevadas taxas de insucesso terapêutico. Curiosamente, todos os doentes que faleceram estiveram sob monoterapia e nenhum em terapêutica dupla.

Apesar do valor da taxa de insucesso terapêutico aqui determinado, o estudo de Tande et al, 2014, que avaliou 113 doentes com infeção de prótese ortopédica, em que 34% destes estavam infetados por *SCV S. aureus*, chegou à conclusão de que a presença deste agente não contribuía para um maior risco de insucesso terapêutico. Assim, este estudo concluiu

que, quer o agente bacteriano presente fosse *SCV S. aureus* ou fosse *S. aureus* de fenótipo normal, o resultado terapêutico seria semelhante, o que levanta novas dúvidas sobre a terapêutica deste agente.

Relação da presença de SCV *S. aureus* com diminuição da função pulmonar

Dos estudos aqui apresentados que avaliaram a presença de *SCV S. aureus* em doentes com fibrose quística, 4 avaliaram a relação da função pulmonar, através dos valores de FEV1, com a presença de *SCV S. aureus*. No seu global, estas 4 séries avaliaram 1000 doentes, nas quais foram identificados 101 doentes com *SCV S. aureus*. Todas estas séries verificaram uma associação significativa entre infecção por *SCV S. aureus* e diminuição da função pulmonar. Este resultado vem suportar a importância de infecções por *SCV S. aureus*, que têm consequências clínicas importantes.

Conclusão

SCV S. aureus pode estar associado tanto a infecções refratárias como recorrentes. A literatura aqui revista mostra que as infecções por *SCV S. aureus* são uma realidade, não só com importância microbiológica, mas também com importantes consequências clínicas. Em termos epidemiológicos, pode-se encontrar subdiagnosticado pela sua difícil detecção. Relativamente aos métodos de identificação, devido ao seu crescimento lento e morfologia de colônias atípicas, estes organismos podem não ser ou ser incorretamente identificados pelos laboratórios de microbiologia. Pelos artigos aqui revistos, há uma tendência clara para a necessidade de utilização de meios de cultura suplementados para identificar *SCV S. aureus* e também uma utilização frequente de métodos moleculares para confirmar os resultados dos meios de cultura. Em relação ao tratamento de infecções por este agente, a sua baixa atividade metabólica pode permitir a sua sobrevivência intracelular e exibir baixa sensibilidade à antibioticoterapia. Tal como descrito na literatura, continua a não existir um protocolo terapêutico claro que indique qual o tipo de antibiótico mais indicado, contudo, com base nos resultados dos artigos aqui revistos, é possível verificar que há uma tendência clara para a necessidade de utilização de terapêuticas duplas, tendo sido a associação de vancomicina com rifampicina e oxipenicilinas com rifampicina, as que mais frequentemente contribuíram para o sucesso terapêutico.

Podemos assim concluir que infecções por *SCV S. aureus* têm uma importante relevância clínica, com relevância epidemiológica, com elevada dificuldade de detecção, o que pode contribuir para o seu atual subdiagnóstico, e com inexistência de protocolos claros que identifiquem qual a terapêutica mais indicada. Desta forma, não só os clínicos mas também os microbiologistas devem considerar a pesquisa de *SCV S. aureus* nas situações clínicas apropriadas.

Anexos:

Tabela 2 – Relatos de casos clínicos de infecções por *Small Colony Variants de Staphylococcus aureus*

Autor	Ano	Infeção associada a <i>SCV S. aureus</i>	Detalhes clínicos	Deteção – todos os meios utilizados	Meio que funcionou na identificação de <i>SCV S. aureus</i>	Terapêutica – toda a antibioticoterapia usada	Terapêutica que teve sucesso	Associação de antibioticoterapia com formação de <i>SCV S. aureus</i>	Referência
Chen et al	2017	Endocardite	Doente sujeito a valvuloplastia, desenvolve febre, sendo que após 3 meses de tratamento para <i>S. aureus</i> com vancomicina e cefoperazona/sulbactam são identificadas hemoculturas positivas para <i>SCV S. aureus</i> e vegetação valvular que resolve com terapêutica com vancomicina e clindamicina	Hemoculturas	Hemoculturas	Vancomicina e clindamicina	Vancomicina e clindamicina	Não realizou terapêutica com gentamicina	(8)
Lin et al	2016	Artrite séptica	Emergência de <i>SCV S. aureus</i> em doentes com VISA durante tratamento de longa duração com daptomicina	Colónias de pequena dimensão em agar de sangue	Agar de sangue	Início 1º oxacilina, depois trocou para vancomicina, depois para daptomicina e depois linezolid)	Linezolid	Antes da deteção de <i>SCV S. aureus</i> realizou 3 meses de antibioticoterapia	(34)
Kim et al	2016	Bacteriemia	Doente submetido a cirurgia cardíaca desenvolve bacteriemia persistente na sequência de uma mediastinite tendo as hemoculturas sido positivas para <i>SCV S. aureus</i>	Hemoculturas agar de columbia agar Schaedler	Hemoculturas, agar columbia e agar Schaedler PCR	Vancomicina, que devido à persistência de MRSA alterou para linezolid, que devido a efeito secundário mudou para vancomicina + rifampicina,	Vancomicina + rifampicina	Deteção de <i>SCV S. aureus</i> na ausência de antibioticoterapia de longa duração	(13)
Kim et al	2016	Bacteriemia	Doente submetido a cirurgia cardíaca desenvolve bacteriemia persistente na sequência de uma mediastinite tendo as hemoculturas sido positivas para <i>SCV S. aureus</i>	Hemoculturas agar de columbia agar Schaedler	Hemoculturas, agar Columbia e agar Schaedler PCR	Realizou vancomicina (para MRSA que é sensível) mas não respondeu tendo falecido	Faleceu	Deteção de <i>SCV S. aureus</i> na ausência de antibioticoterapia de longa duração	(13)
Rit et al	2014	Osteomielite crónica	Infeção crónica por <i>SCV S. aureus</i> na sequência de fratura traumática do úmero	Amostras foram cultivadas em blood agar (BA) e em	Agar de sangue Agar Nutriente	Realizou várias cefalosporinas de 2ª e 3ª geração	Cefaloporinas 2ª e 3ª geração	Associado a antibioticoterapia	(4)

				McConkey's agar (MA), tendo havido crescimento de pequenas colónias no primeiro e nada cresceu no segundo. Foram subcultivadas em Nutrient agar tendo mantido-se pequenas				mas não a gentamicina	
Bhattacharya et al	2013	Endocardite	Endocardite infecciosa por <i>SCV S. aureus</i> em doente pediátrico	Agar de sangue, Agar Nutrient Sem crescimento em MacConkey Agar.	Agar de sangue Agar Nutrient	Ceftriaxona e amicacina IM, e mais tarde ofloxacina.	-	-	(35)
Piffaut et al	2013	Infeção crónica prótese articular do joelho	Sonicação como auxiliar na identificação de <i>SCV S. aureus</i> e resposta terapêutica positiva à daptomicina	Não aborda meios cultura. Apenas que a sonicação ajudou a identificar <i>SCV S. aureus</i> .	-	Removeu a próteses. Iniciou vancomicina + rifampicina que por efeito adverso alterou para daptomicina.	Daptomicina Remoção prótese	-	(36)
Maduka-Ezeh et al	2011	Endocardite de válvula tricúspide, infeção de pacemaker e de dispositivo de assistência ventricular	Infeção persistente de dispositivo de assistência ventricular, de prótese valvular e de pacemaker, que respondeu apenas à remoção dos dispositivos médicos	Agar de sangue	Agar de sangue	Iniciou vancomicina+rifampicina + gentamicina sem resultado. Iniciou daptomicina, gentamicina e rifampicina que também não resultou.	Remoção do dispositivo	Fez terapêutica durante alguns meses com vários antibióticos	(31)
Nielsen et al	2009	Bacteriemia associada a pacemaker	Bacteriemia recorrente a <i>SCV S. aureus</i> provavelmente devida a infeção persistente de pacemaker que respondeu a antibioticoterapia continua sem remoção do pacemaker (motivo religioso)	Hemocultura Agar de sangue	Agar de sangue PCR e FISH do gene 16s rRNA confirmou que era <i>S. aureus</i>	Cefuroxime, rifampicina, ácido fusídico, vancomicina Antibióticoterapia continua com cefuroxime axetil	Antibioticoterapia continua com cefuroxime axetil	Fez vários esquemas terapêuticos durante terapêutica mas sem relação clara com formação de <i>SCV S. aureus</i>	(16)
Besier et al	2008	Infeção tecidos moles	Doente com doença crónica em que foi isolado <i>SCV S. aureus</i> dependentes de timidina	-	-	Cefaclor	Não respondeu à terapêutica	Fez terapêutica longa duração com Trimetropim sulfametoxazol	(23)

Besier et al	2008	Peritonite	Doente com doença crónica em que foi isolado <i>SCV S. aureus</i> dependentes de timidina	-	-	Imipenem + ciprofloxacina	Imipenem + ciprofloxacina	Fez terapêutica longa duração com Trimetropim sulfametoxazol	(23)
Besier et al	2008	Bronquite	Doente com doença crónica em que foi isolado <i>SCV S. aureus</i> dependentes de timidina	-	-	Sem antibioticoterapia	Não respondeu à terapêutica	Fez terapêutica longa duração com Trimetropim sulfametoxazol	(23)
Besier et al	2008	Sépsis	Doente com doença crónica em que foi isolado <i>SCV S. aureus</i> dependentes de timidina	-	-	Cefuroxima e tobramicina, rifampicina, meropenem e trimetropim sulfametoxazol	Não respondeu à terapêutica	Fez terapêutica longa duração com Trimetropim sulfametoxazol	(23)
Besier et al	2008	Timpanite	Doente com doença crónica em que foi isolado <i>SCV S. aureus</i> dependentes de timidina	-	-	Eritromicina	Não respondeu à terapêutica	Fez terapêutica longa duração com Trimetropim sulfametoxazol	(23)
Agarwal et al	2007	Infeção multiorgânica	Piomiosite e osteomielite multifocais, abscesso espinhal epidural e colecistite aguda alitiásica que respondeu a terapêutica com oxacilina, rifampicina	Hemocultura	Hemocultura	Ampicilina, gentamicina, cefotaxime, doxiciclina, depois alterou para vancomicina, doxiciclina e cefotaxima	Oxacilina + rifampicina	-	(27)
Sendi et al	2006	Infeções prótese anca	Doente com insucesso da terapêutica antibiótica antes da identificação de <i>SCV S. aureus</i>	Agar Columbia <i>S. aureus</i> ID agar PCR	Agar Columbia PCR	Flucloxacilina, depois ciprofloxacina mais rifampicina	Remoção prótese Flucloxacilina e rifampicina	Terapêutica antibiótica antes da deteção de <i>SCV S. aureus</i>	(26)
Sendi et al	2006	Infeções prótese anca	Doente com insucesso da terapêutica antibiótica antes da identificação de <i>SCV S. aureus</i>	Agar Columbia <i>S. aureus</i> ID agar PCR	Agar Columbia PCR	Flucloxacilina, depois ciprofloxacina mais rifampicina	Remoção prótese Levofloxacina e rifampicina	Terapêutica antibiótica antes da deteção de <i>SCV S. aureus</i>	(26)
Sendi et al	2006	Infeções prótese anca	Doente com insucesso da terapêutica antibiótica antes da identificação de <i>SCV S. aureus</i>	Agar Columbia <i>S. aureus</i> ID agar PCR	Agar Columbia PCR	Vancomicina e cefepime depois ciprofloxacina e rifampicina	Remoção prótese Levofloxacina e rifampicina	Terapêutica antibiótica antes da deteção de <i>SCV S. aureus</i>	(26)
Sendi et al	2006	Infeções prótese anca	Doente com insucesso da terapêutica antibiótica antes da identificação de <i>SCV S. aureus</i>	Agar Columbia <i>S. aureus</i> ID agar PCR	Agar Columbia PCR	Ciprofloxacina e rifampicina	Remoção prótese Flucloxacilina	Terapêutica antibiótica antes da deteção de <i>SCV S. aureus</i>	(26)

Sendi et al	2006	Infeções prótese anca	Doente com insucesso da terapêutica antibiótica antes da identificação de <i>SCV S. aureus</i>	Agar Columbia S. aureus ID agar PCR	Agar Columbia PCR	ciprofloxacina e rifampicina	Remoção prótese Penicilina e Levofloxacina	Terapêutica antibiótica antes da deteção de <i>SCV S. aureus</i>	(26)
Spanu et al	2005	Infeção Shunt ventrículo-peritoneal	Meningite recorrente relacionada com shunt ventrículo-peritoneal	Agar MacConkey Agar Columbia Agar chocolate Agar Schaedler Brain-heart infusion broth suplementado com 5% NaCl PCR	Agar Columbia Agar Schaedler PCR	Ciprofloxacina depois vancomicina depois Vancomicina ciprofloxacina e rifampicina	Vancomicina e rifampicina	Terapêutica antibiótica antes da deteção de <i>SCV S. aureus</i>	(5)
Seifert et al	2003	Bacteriemia relacionada com infeção de pacemaker	Bacteriemia persistente e recorrente associada a infeção de elétrodo de pace-maker	Primeiras hemoculturas negativas. Hemoculturas feitas mais tarde (3 semanas depois) positivas possivelmente para <i>SCV S. aureus</i> , tendo sido confirmado por PCR	Hemocultura PCR	Cefuroxime depois meropenem + vancomicina depois vancomicina + rifampicina depois flucloxacilina	Remoção total do dispositivo	Terapêutica antibiótica antes da deteção de <i>SCV S. aureus</i>	(19)
Kipp et al	2003	Abcesso cerebral	Doente com história de intervenção cirúrgica há 10 anos atrás, na mesma região anatómica. Respondeu à terapêutica de drenagem cirúrgica juntamente com vancomicina, rifampicina e teicoplanina.	Columbia agar PCR 16S rRNA-directed in situ hybridisation technique	Agar Columbia PCR 16S rRNA-directed in situ hybridisation technique	Meropeneme, clindamicina e gentamicina depois vancomicina e rifampicina depois teicoplanina	Vancomicina + rifampicina e teicoplanina	Associação a neurocirurgia prévia	(15)
Rolauffs et al	2002	Osteomielite crónica	Infeção crónica por <i>SCV S. aureus</i> em doente com osteopetrose	-	-	Cefotaxima depois ciprofloxacina e cefotaxima	Cefotaxima e cirurgia remoção cabeça femur	Associação com terapêutica com gentamicina	(37)
Abele-Horn et al	2000	Infeção de ferida operatória	História de herniotomia 13 meses antes com desenvolvimento de infeção persistente da ferida operatória	Agar de sangue Agar Schaedler Agar Chocolate Agar McConkey	Schaedler agar em anaerobiose	Clindamicina	Rifampicina + flucloxacilina	Associação a terapêutica com clindamicina	(38)

			que respondeu a antibioticoterapia com vancomicina e rifampicina						
Seifert et al	1999	Infeção multiorgânica fatal	Abcesso no membro inferior por SCV MRSA em doente com SIDA, que levou a osteomielite e bacteriemia por SCV <i>S. aureus</i> , não tendo respondido a vancomicina, causando a morte do doente.	Hemocultura PCR	Hemocultura PCR	Clindamicina, depois vancomicina	Faleceu	Associação a trimetropim sulfametoxazol	(39)
Spearman et al	1996	Artrite séptica esternoclavicular	Criança de 11 anos sem antecedentes de trauma nem antibioticoterapia, desenvolve artrite séptica esternoclavicular que respondeu lentamente à terapêutica anti estafilocócica standard, tendo sido identificado SCV <i>S. aureus</i> nas hemoculturas.	Hemocultura Agar de sangue Agar de sangue suplementado com hemina e menadiona	Agar de sangue	Nafcilina + rifampicina vitamina K depois cloxacilina + rifampicina	cloxacilina + rifampicina	Sem antibioticoterapia prévia	(9)
Proctor et al	1995	Osteomielite	História de múltiplas injeções na coxa direita durante a adolescência. Osteomielite não respondeu a terapêutica com vancomicina, tendo respondido a clindamicina.	Agar de sangue Agar tryptic soy, Agar Mueller-Hinton	-	Vancomicina depois clindamicina	Clindamicina	Não	(20)
Proctor et al	1995	Osteomielite	História de osteomielite aos 12 anos, que respondeu a lincomicina. A biópsia atual de tecido ósseo revelou a presença de SCV <i>S. aureus</i> , que respondeu lentamente a terapêutica com nafcilina e rifampicina e a terapêutica de longo prazo com dicloxacilina.	Agar de sangue Agar tryptic soy, Agar Mueller-Hinton	-	Cefazolina depois nafcilina mais rifampicina e depois dicloxacilina	Nafcilina mais rifampicina e depois dicloxacilina	Sim mas não estava a fazer antibiótico quando SCV <i>S. aureus</i> foi isolado	(20)
Proctor et al	1995	Sinusite	Realiza antibioticoterapia com cefuroxime axetil desde há 4 meses, mantendo febre ligeira e seio preenchidos, tendo a antibioticoterapia sido alterada para nafcilina IV, tendo as	Agar de sangue Agar tryptic soy, Agar Mueller-Hinton	-	Cefuroxima axetil depois nafcilina	Nafcilina	Sim mas não estava a fazer antibiótico quando SCV <i>S. aureus</i> foi isolado	(20)

			queixas clinicas melhorado lentamente.						
Proctor et al	1995	Osteomielite	Artroplastia anca há 5 anos, inicia febre 4 dias após prostatectomia radical e deiscência da ferida abdominal. Ao 13º dia as hemoculturas revelaram MRSA que não responderam a vancomicina. Hemoculturas revelaram <i>SCV S. aureus</i> não tendo sido possível identificar a fonte da bacteriemia.	Hemoculturas Agar de sangue Agar tryptic soy, Agar Mueller-Hinton	Hemoculturas	Ceftazidima depois ceftizoxima e clindamicina depois vancomicina à qual foi depois adicionada rifampicina	Vancomicina e rifampicina	Sim estava a fazer antibiótico quando <i>SCV S. aureus</i> foi isolado	(20)
Proctor et al	1995	Abcesso muscular, artrite séptica	Osteomielite no pé esquerdo complicada com bacteriemia e abscessos em múltiplos músculos há 5 anos. Apresenta febre, hipotensão ortostática, inflamação em ambas as ancas, CID, rabdomiólise, LRA. Realizou vancomicina e rifampicina e trimetopim-sulfametoxazol tendo melhorado clinicamente.	Agar de sangue Agar tryptic soy, Agar Mueller-Hinton	-	Vancomicina, cefuroxima e ciprofloxacina depois nafcilina e rifampicina, depois vancomicina e rifampicina depois nafcilina depois cefazolina depois vancomicina rifampicina vitamina k e trimetopim sulfametoxazol	Vancomicina rifampicina vitamina K e trimetopim sulfametoxazol	Sim mas não estava a fazer antibiótico quando <i>SCV S. aureus</i> foi isolado	(20)

Tabela 3: Estudos clínicos em grupos de doentes com infeção de prótese ortopédica

Autor	Ano	Infeção associada a <i>SCV S. aureus</i>	Detalhe clínico	Nº de doentes	Nº de doentes com <i>SCV S. aureus</i>	Meio em que houve deteção <i>SCV S. aureus</i>	Terapêutica (antibiótico usado, respostas a terapêutica)	Terapêutica com sucesso	Associação de antibioticoterapia com formação de <i>SCV S. aureus</i>	Referência
Yang et al	2018	Infeção de Prótese ortopédica	Comprovação da infeção dos osteócitos por <i>S. aureus</i>	24	-	Agar/ broth Terrific	-	-	-	(32)
Tande et al	2014	Infeção de Prótese ortopédica	34% dos doente estavam infetados por <i>SCV S. aureus</i> , contudo estes não tinham maior risco de insucesso terapêutico.	113	38	Agar trypticase soy	Vancomicina, β -lactâmico, daptomicina e linezolid	O outcome quer fosse <i>SCV S. aureus</i> ou <i>S. aureus</i> de fenótipo normal era semelhante.	33 recebiam antibioticoterapia prévia	(18)

Tabela 4: Os estudos clínicos em grupos de doentes com Infeções diversas

Autor	Ano	Infeção associada a <i>SCV S. aureus</i>	Detalhe clínico	Nº de doentes	Nº de doentes com <i>SCV S. aureus</i>	Meios/ métodos usados	Meio/ métodos em que houve deteção <i>SCV S. aureus</i>	Terapêutica (antibiótico usado, respostas a terapêutica)	Terapêutica com sucesso	Associação de antibioticoterapia com formação de <i>SCV S. aureus</i>	Referência
Cervantes et al	2015	Infeção de úlcera de pé diabético	Foram identificadas 4 amostras como <i>SCV S. aureus</i> , com origem em doentes tratados com antibioticoterapia múltipla durante 1 ou mais meses, em particular trimetropim-sulfametoxazol	120	4	Agar de sangue Agar manitol salgado Agar MacConkey	Agar de sangue Agar manitol salgado	Trimetropim sulfametoxazol, vancomicina e outros que não aparecem referidos	-	Nenhum tinha recebido gentamicina, mas tinham recebido trimetropim sulfametoxazol os doentes em que <i>SCV S. aureus</i> foram detetadas	(3)

Gito mer et al	2015	Rinossinu site crónica	SCV <i>S. aureus</i> neste estudo não foi associado a rinossinusite crónica	23 + 12 controlo	0	Agar de sangue Agar manitol salgado Agar Columbia naladixic acid (CNA) PCR	4 potenciais SCV <i>S. aureus</i> foram analisadas por PCR (sequenciação gene 16S rRNA) que mostrou que não eram <i>S. aureus</i>	-	-	Não foram detetados SCV <i>S. aureus</i>	(21)
Von Eiff et al	2003	Colonizaç ão narinas por SCV <i>S. aureus</i>	Foi detetado apenas em 2,4% dos doentes SCV <i>S. aureus</i> nas narinas, enquanto que <i>S. aureus</i> normal tinha uma prevalência de 29,6%, não tendo sido detetada relação entre a antibioticoterapia com trimetropim-sulfametoxazol e o surgimento e SCV <i>S. aureus</i>	125	3	Agar Columbia Agar Schaedler Agar brain-heart infusion com 5% NaCl	Agar Columbia Agar Schaedler Agar brain-heart infusion agar with 5% NaCl	-	-	1 doente tinha feito profilaxia com trimetropim sulfametoxazol, e 2 doentes não tinham feito profilaxia	(29)
Ansa ri et al	2015	Infeção piogénica da pele, tecidos moles e osso	Apenas em 10 das 333 amostras foram identificados SCV <i>S. aureus</i> , sendo 90% resistentes a penicilina, 50% resistentes a cotrimoxazol, sendo que nenhum era resistente a amicacina, vancomicina e teicoplanina	333 amostras	10 amostras	Agar de sangue Broth Brain heart infusion Agar MacConkey Agar DNase Agar manitol salgado	Caldo brain heart infusion Agar MacConkey Agar Mueller Hinton	-	-	-	(40)

Tabela 5: Estudos clínicos em grupos de doentes com Fibrose Quística.

Autor	Ano	Nº de doentes	% doentes com SCV <i>S. aureus</i>	Período de estudo	Influência negativa das SCV <i>S. aureus</i> na função pulmonar	Meios de deteção utilizados	Terapêutica (antiótico usado, respostas a terapêutica)	Associação de antibioticoterapia com formação de SCV <i>S. aureus</i>	Referência
Schwerdt et al	2017	283	11%	22 anos (1994-2016)	-	-	-	-	(41)
Carzino et al	2017	124	0	1 ano (2014-2015)	-	Agar manitol salgado Agar de sangue PCR (gene nuc)	-	-	(2)
Suwantarat et al	2017	550	49 – 8,9%	6 meses (julho-dezembro 2014)	Doentes com SCV <i>MRSA</i> tinham FEV1 inferior em comparação com os doentes com <i>MRSA</i> normal	Agar manitol salgado MALDI-TOF MS para confirmar que era <i>S. aureus</i>	-	-	(42)
Masoud-Landgraf et al	2016	147	12 – 8,1%	3 anos – 2011 - 2013	-	Agar de sangue Agar Tryptocase-Soja Agar MacConkey <i>Staphylococcus aureus</i> identification-Agar, Agar Chocolate Agar BCSA, Agar Schaedler Agar Meropenem e Polymyxin MALDI-TOF MS	-	Doentes tinham sido tratados com trimetropim sulfametoxazol	(25)
Pakasticali et al	2016	84	18 - 21%	10 meses	-	Agar Columbia Agar manitol salgado Agar Schaedler PCR (gene nuc)	-	-	(43)
Morelli et al	2015	222	28 - 12,6 %	-	-	Agar de sangue Agar manitol salgado PCR (gene nuc)	-	Terapêutica com gentamicina prévia e trimetropim sulfametoxazol	(14)
Wolter et al	2013	100	24 – 24%	2 anos	Associação significativa entre infeção por SCV <i>S.</i>	-	-	Terapêutica prévia com trimetropim sulfametoxazol	(22)

					<i>aureus</i> e diminuição da função pulmonar				
Yagci et al	2011	248	20 – 8%	11 meses	-	Agar de sangue Agar Columbia Agar Schaedler Agar chocolate Agar manitol salgado Eosin Methylene Blue agar Agar brain–heart infusion agar com 5% NaCl oxidation/fermentation polymyxin–bacitracin– lactose agar PCR nucA	-	Vários tipos de antibiótico sendo os mais frequentes Amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina-sulbactam e fluoroquinolonas. Trimetropim-sulfametoxazol	(24)
Green el al	2011	260	17 – 6%	6 meses	-	Agar de sangue Agar manitol salgado Agar de chocolate Agar brucela	-	Sem associação entre terapêutica com azitromicina e formação de <i>SCV S. aureus</i>	(44)
Schneider et all	2008	98	8 – 8,2%	3 meses	Associação significativa entre infecção por <i>SCV S. aureus</i> e diminuição da função pulmonar	Agar Schaedler Agar manitol salgado Agar Columbia	-	Associação de <i>SCV S. aureus</i> com maior duração de antibioticoterapia com trimetropim sulfametoxazole e com aminoglicosídeos	(45)
Besier et al	2007	252	20 – 8%	1 ano	Associação significativa entre infecção por <i>SCV S. aureus</i> e diminuição da função pulmonar	Agar de sangue Agar chocolate Agar endo Agar manitol salgado Agar seletivo para <i>B. cepacia</i> PCR gene 16S rRNA	-	Maior frequência de terapêutica antibiótica profilática de longa duração	(7)
Vergison et al	2007	627	25 – 4%	7 meses	-	Agar de sangue Agar manitol salgado PCR (nucA gene e 16S rRNA)	-	Maior frequência de terapêutica antibiótica profilática de longa duração	(30)

Bibliografía

1. Kahl BC, Becker K, Löffler B. Clinical significance and pathogenesis of *Staphylococcal* small colony variants in persistent infections. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29(2):401–27.
2. Carzino R, Hart E, Sutton P, King L, Ranganathan S. Lack of small colony variants of *Staphylococcus aureus* from lower respiratory tract specimens. *Pediatr Pulmonol*. 2017;52(5):632–5.
3. Cervantes-García E, García-Gonzalez R, Reyes-Torres A, Resendiz-Albor AA, Salazar-Schettino PM. *Staphylococcus aureus* small colony variants in diabetic foot infections. *Diabet Foot Ankle* 2015;6(1):26431.
4. Rit K. A case report of Small Colony variant of *Staphylococcus aureus* isolated from a patient with chronic osteomyelitis in a tertiary care hospital of eastern India. *Adv Biomed Res* 2014;3(1):32.
5. Spanu T, Romano L, D’Inzeo T, Masucci L, Albanese A, Papacci F, *et al*. Recurrent ventriculoperitoneal shunt infection caused by small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2005;41(5):e48–52.
6. Kalinka J, Hachmeister M, Geraci J, Sordelli D, Hansen U, Niemann S, *et al*. *Staphylococcus aureus* isolates from chronic osteomyelitis are characterized by high host cell invasion and intracellular adaptation, but still induce inflammation. *Int J Med Microbiol* 2014;304(8):1038–49.
7. Besier S, Smaczny C, Von Mallinckrodt C, Krahl A, Ackermann H, Brade V, *et al*. Prevalence and clinical significance of *Staphylococcus aureus* small-colony variants in cystic fibrosis lung disease. *J Clin Microbiol*. 2007;45(1):168–72.
8. Chen H, Wang Q, Yin Y, Li S, Niu DK, Wang H. Genotypic variations between wild-type and small colony variant of *Staphylococcus aureus* in prosthetic valve infectious endocarditis: a comparative genomic and transcriptomic analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2017;51(4):655–8.
9. Spearman P, Lakey D, Jotte S, Chernowitz A, Claycomb S, Stratton C. Sternoclavicular joint septic arthritis with small-colony variant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1996;26(1):13–5.
10. Chaves F. Infecciones por variantes de colonia pequeña de *Staphylococcus aureus*: implicaciones clínicas y microbiológicas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2014;32(2):67–9.
11. Yagci S, Sancak B, Hascelik G. Detection of small colony variants among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* blood isolates. *Microb Drug Resist* 2016;22(8):712–6.
12. Hoffman LR, Deziel E, D’Argenio DA, Lepine F, Emerson J, McNamara S, *et al*. Selection for *Staphylococcus aureus* small-colony variants due to growth in the presence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci* 2006;103(52):19890–5.
13. Kim N-H, Kang YM, Han WD, Park KU, Park K-H, Yoo J Il, *et al*. Small-colony variants in persistent and recurrent *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Microb Drug Resist* 2016;22(7):538–44.
14. Morelli P, Alessandri A De, Manno G, Marchese A, Bandettini R, Bassi M, *et al*. Characterization of *Staphylococcus aureus* small colony variant strains isolated from Italian patients attending a regional cystic fibrosis care centre. 2015;235–43.
15. Kipp F, Ziebuhr W, Becker K, Krimmer V, HoB N, Peters G, *et al*. Detection of *Staphylococcus aureus* by 16S rRNA directed in situ hybridisation in a patient with a brain abscess caused by small colony variants. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74:1000–2.

16. Nielsen XC, Nielsen FT, Kurtzhals JAL, Moser C, Boye K, Christensen JJ, *et al.* Management of recurrent pacemaker-related bacteraemia with small colony variant *Staphylococcus aureus* in a haemodialysis patient. *BMJ Case Rep.* 2009;(July 2006):1–11.
17. Vaudaux P, Kelley WL, Lew DP. *Staphylococcus aureus* small colony variants: difficult to diagnose and difficult to treat. *Clin Infect Dis.* 2006;43(1537–6591):968–70.
18. Tande AJ, Osmon DR, Kerry E, Tande AJ, Osmon DR, Greenwood-Quaintance KE, *et al.* Clinical characteristics and outcomes of prosthetic joint infection caused by small colony variant *Staphylococci*. *MBio.* 2014;5(5):1–9.
19. Seifert H, Schnabel P, von Eiff C. Small colony variants of *Staphylococcus aureus* and pacemaker-related infection. *Emerg Infectious Dis.* 2003;9(10):1316–8.
20. Proctor RA, van Langevelde P, Kristjansson M, Maslow JN, Arbeit RD. Persistent and relapsing infections associated with small colony variants of *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 1995;20(February):95–102.
21. Gitomer SA, Ramakrishnan VR, Malcolm KC, Kofonow JM, Ir D, Frank DN. Initial investigation of small colony variants of *Staphylococcus aureus* in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy* 2015;29(1):29–34.
22. Wolter DJ, Emerson JC, McNamara S, Buccat AM, Qin X, Cochrane E, *et al.* *Staphylococcus aureus* small-colony variants are independently associated with worse lung disease in children with cystic fibrosis. *Clin Infect Dis.* 2013;57(3):384–91.
23. Besier S, Zander J, Siegel E, Saum SH, Hunfeld KP, Ehrhart A, *et al.* Thymidine-dependent *Staphylococcus aureus* small-colony variants: Human pathogens that are relevant not only in cases of cystic fibrosis lung disease. *J Clin Microbiol.* 2008;46(11):3829–32.
24. Yagci S, Hascelik G, Dogru D, Ozcelik U, Sener B. Prevalence and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* small-colony variants in cystic fibrosis patients. *Clin Microbiol Infect* 2013;19(1):77–84
25. Masoud-Landgraf L, Zarfel G, Kaschnigg T, Friedl S, Feierl G, Wagner-Eibel U, *et al.* Analysis and characterization of *Staphylococcus aureus* small colony variants isolated from cystic fibrosis patients in Austria. *Curr Microbiol.* 2016;72(5):606–11.
26. Sendi P, Rohrbach M, Graber P, Frei R, Ochsner PE, Zimmerli W. *Staphylococcus aureus* Small Colony Variants in Prosthetic Joint Infection. *Clin Infect Dis* 2006;43(8):961–7.
27. Agarwal H, Verrall R, Singh SP, Tang Y-W, Wilson G. Small colony variant *Staphylococcus aureus* multiorgan infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26(3):269–71.
28. Sato T, Kawamura M, Furukawa E, Fujimura S. Screening method for sulfamethoxazole-trimethoprim resistant small colony variants of *Staphylococcus aureus*. *J Glob Antimicrob Resist* 2018.
29. Von Eiff C, Lubritz G, Heese C, Peters G, Becker K. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in AIDS patients on the formation of the small colony variant phenotype of *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;48(3):191–4.
30. Vergison A, Denis O, Deplano A, Casimir G, Claeys G, DeBaets F, *et al.* National survey of molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* colonization in Belgian cystic fibrosis patients. *J Antimicrob Chemother* 2007;59(5):893–9.
31. Maduka-Ezeh A, Seville MT, Kusne S, Vikram HR, Blair JE, Greenwood-Quaintance K, *et al.* Thymidine auxotrophic *Staphylococcus aureus* small-colony variant endocarditis and left

ventricular assist device infection. *J Clin Microbiol.* 2011;50(3):1102–5.

32. Yang D, Wijenayaka AR, Solomon LB, Pederson SM, Findlay DM, Kidd SP, *et al.* Novel insights into *Staphylococcus aureus* deep bone infections: The involvement of osteocytes. *MBio.* 2018;9(2):1–10.
33. Diefenbeck M, Mückley T, Hofmann GO. Prophylaxis and treatment of implant-related infections by local application of antibiotics. *Injury.* 2006;37(2 SUPPL.).
34. Lin YT, Tsai JC, Yamamoto T, Chen HJ, Hung WC, Hsueh PR, *et al.* Emergence of a small colony variant of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a patient with septic arthritis during long-term treatment with daptomycin. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(7):1807–14.
35. Bhattacharyya S, Roy S, Mukhopadhyay PK, Rit K, Dey JB, Ganguly U, *et al.* Small Colony variants of *Staphylococcus aureus* isolated from a patient with infective endocarditis: A case report and review of the literature. *Iran J Microbiol* 2012;4(2):98–9.
36. Piffaut C, Lustig S, Laurent F, Chidiac C, Ferry T, Perpoint T, *et al.* Small colony variant-producing *S. aureus* prosthesis joint infection highlighted by sonication and treated with prolonged high doses of daptomycin. *BMJ Case Rep.* 2013;1–2.
37. Rolaufts B, Bernhardt TM, von Eiff C, Hart ML, Bettin D. Osteopetrosis, femoral fracture, and chronic osteomyelitis caused by *Staphylococcus aureus* small colony variants (SCV) treated by girdlestone resection - 6-year follow-up. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2002;122(9–10):547–50.
38. Abele-Horn M, Schupfner B, Emmerling P, Waldner H, Göring H. Persistent wound infection after herniotomy associated with small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. *Infection.* 2000;28(1):53–4.
39. Seifert H, von Eiff C, Fatkenheuer G. Fatal case due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* small colony variants in an AIDS patient. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(3):450–3.
40. Ansari S, Nepal HP, Gautam R, Shrestha S, Chhetri MR, Chapagain ML. *Staphylococcus aureus*: methicillin resistance and small colony variants from pyogenic infections of skin, soft tissue and bone. *J Nepal Health Res Counc.* 2015;13(30):126–32.
41. Schwerdt M, Neumann C, Schwartbeck B, Kampmeier S, Herzog S, Görlich D, *et al.* *Staphylococcus aureus* in the airways of cystic fibrosis patients - A retrospective long-term study. *Int J Med Microbiol.* 2017;308(6):631–9.
42. Suwantararat N, Rubin M, Bryan L, Tekle T, Boyle MP, Carroll KC, *et al.* Frequency of small-colony variants and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017;90(4):296–9.
43. Pakasticali N, Kaya G, Senel U, Kipritci O, Tamay Z, Guler N, *et al.* Prevalence, antibiotic and pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Staphylococcus aureus* small-colony variants in cystic fibrosis patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2016;47(3):475–84.
44. Green N, Burns JL, Mayer-Hamblett N, Kloster M, Lands LC, Anstead M, *et al.* Lack of association of small-colony-variant *Staphylococcus aureus* strains with long-term use of azithromycin in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 2011;49(7):2772–3.
45. Schneider M, Mühlemann K, Droz S, Couzinet S, Casaulta C, Zimmerli S. Clinical characteristics associated with isolation of small-colony variants of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from respiratory secretions of patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 2008;46(5):1832–4.