

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE  
UFCSPA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Bruna Gerardon Batista**

**Caracterização Molecular de  
Isolados Clínicos de *Staphylococcus  
aureus* Resistentes à Meticilina (MRSA)  
Isolados em um Hospital do Sul do  
Brasil**

**UFCSPA**  
Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre

**Porto Alegre**

**2015**

**Bruna Gerardon Batista**

**Caracterização Molecular de  
Isolados Clínicos de *Staphylococcus  
aureus* Resistentes à Meticilina (MRSA)  
Isolados em um Hospital do Sul do  
Brasil**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Pedro Alves d'Azevedo

**PORTO ALEGRE**

**2015**

Aos meus pais Sebastião e Sandra, por todo amor e apoio em todos os momentos da minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela excelente companhia e presença em minha vida.

Ao meu professor orientador Dr. Pedro Alves d'Azevedo, serei eternamente grata pela oportunidade e confiança ímpar depositada sobre mim e pelos ensinamentos repassados durante todo esse período de convivência.

A todos os meus colegas do Laboratório de Cocos Gram Positivos da UFCSPA, Renata, Janine, Thiago, Alessandro, Keli e Juliana que sempre contribuíram de alguma forma, tanto em conhecimento como na amizade. Ao Caio e Gustavo, pela paciência gigantesca, ensinamentos preciosos, apoio intelectual e parceria. A Mariana, amiga querida que sempre esteve ao meu lado durante toda a minha caminhada.

As técnicas Janira e Rebeca, que, com a alegria de viver, iluminam o dia.

As minhas estagiárias Kelen e Thaís pela ajuda na bancada.

A todos que de alguma forma estiveram presente em minha vida durante este período, meu muito obrigada pela amizade construída, pelos momentos de risada e apoio nos mais difíceis, vou levar a presença de vocês e os momentos bons que passamos no meu coração, isso com certeza é o bem mais precioso que alguém pode ter na sua vida.

As pessoas especiais presentes em minha vida, meus amigos verdadeiros, que sempre, com pequenos gestos e palavras, deixaram suas contribuições nos meus dias estressantes. Aos meus colegas do Laboratório Unilab, em especial minha chefe Alzira, imensa gratidão.

Aos meus pais, responsáveis por tudo que sou e tenho hoje, não imagino minha vida sem o apoio deles, meus maiores exemplos e inspiração.

As minhas irmãs Bibiana e Barbara, pela simples presença de vocês em minha vida, meus anjos mais lindos.

Aos meus avós Alcides e Deonir, que são exemplos vivos de amor a ser seguido, pelo incentivo de sempre.

## RESUMO

*Staphylococcus aureus* é considerado o microrganismo mais importante e com maior patogenicidade do gênero *Staphylococcus spp.* Responsável por infecções adquiridas tanto na comunidade como em ambiente hospitalar, pode apresentar perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos bastante restrito pela fácil aquisição de resistência, tendo os elementos genéticos móveis como responsáveis pelo processo. A resistência do microrganismo à metilina é a mais conhecida e mais estudada até o presente momento.

A colonização das mucosas e pele é um importante fator na patogenicidade e epidemiologia das infecções causadas por esses microrganismos, já que indivíduos colonizados apresentam maiores riscos de ser infectados.

*Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA) são causadores de doenças que comumente tem sua gravidade caracterizada de leve a grave, as principais são: foliculite, impetigo, furúnculos, osteomielite, bacteremia e síndrome do choque tóxico.

No Brasil, 20% das bacteremias são causadas por *S. aureus* e aproximadamente 50% desse percentual apresentam resistência a metilina, demonstrando assim, sua importância clínica. Resistência à metilina é determinada pela presença do gene *mecA*, inserido no elemento genético móvel SCC*mec*. A verificação do tipo de SCC*mec* constitui uma ferramenta bastante útil na epidemiologia de MRSA por possibilitar a caracterização da infecção como oriundas da comunidade ou do ambiente hospitalar.

O presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização molecular de isolados clínicos de MRSA oriundos do Grupo Hospitalar Conceição de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Todos os isolados apresentaram o gene *mecA*. De janeiro a junho de 2012, correspondendo o primeiro período, foram estudados 81 isolados. Do total de isolados, 24 foram tipados como SCC*mec* tipo I (30%), 10 tipo II (12%), 21 tipo III (26%), 4 tipo IVa (5%), 12 isolados tipo IVc (15%), 1 isolado tipo I e IVc (1%) e 1 tipo III e IVc (1%) simultaneamente. Amostras não tipáveis desse período corresponderam oito isolados (10%). Com isso, foi observado a incidência de SCC*mec* tipo I, caracterizando uma mudança com relação a tipagem de SCC*mec* se

comparados a resultados anteriores já descritos na literatura com estudos em hospitais desta mesma cidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, tipagem molecular.

## ABSTRACT

*Staphylococcus aureus* is considered the most important and pathogenic microorganism of the genus *Staphylococcus spp.* Responsible for infections acquired in both community and hospital environments, it may present restricted susceptibility profile to many antimicrobials because of its easy acquisition of resistance and mobile genetic elements as being responsible for the process. Methicillin resistance is the best known and most studied to date.

The colonization of mucous membranes and skin is an important factor in the pathogenesis and epidemiology of infections caused by these microorganisms. Colonized people have a higher risk of being infected.

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) causes diseases that commonly have gravity characterized from mild to severe. The main ones are: folliculitis, impetigo, boils, osteomyelitis, bacteremia and toxic shock syndrome.

In Brazil, 20% of bacteremia are caused by *S. aureus*. About 50% of this bacteremia are caused by MRSA, showing their clinical importance. Methicillin resistance is determined by the presence of the *mecA* gene, inserted in the mobile genetic element *SCCmec*. The verification of the type of *SCCmec* is a very useful tool in the epidemiology of MRSA since it enables the characterization of the infection as coming from the community or the hospital environment.

This study aimed to perform molecular characterization of clinical isolates of MRSA coming from Conceição Hospital Group of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

All isolates presented the *mecA* gene. From January to June 2012, representing the first period, we studied 81 isolates. Of all isolates, 24 were typed as *SCCmec* type I (30%), 10 type II (12%), 21 type III (26%) 4 Type IVa (5%), 12 isolates type IVc (15%) 1 isolate type I and IVc (1%) and 1 (1%) type III and IVc simultaneously. Non-typable samples of this period corresponded to eight isolates (10%). Thus, incidence of *SCCmec* type I was observed featuring a variation on *SCCmec* typing compared to previous results described in the literature studies in hospitals in the same city.

**KEYWORDS:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, molecular typing.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
DNase	Desoxirribonuclease
NaCl	Cloreto de Sódio
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
SCC <i>mec</i>	Staphylococcal cassette cromosome <i>mec</i>
orfX	open reading frame
<i>attB</i> <i>sc</i>	SCC <i>mec</i> attachment site
<i>ccr</i>	<i>cassette chromossome recombinase</i>
região J	<i>junkyard region</i>
PBP	proteína ligadora de penicilina
PBP 2a	proteína ligadora de penicilina alterada
HA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina oriundos do ambiente hospitalar
CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina oriundos da comunidade
PVL	Leucocidina Panton-Valentine
UTI	Unidades de Terapia Intensiva
PCR	Reação em cadeia polimerase

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1	Disposição genética do complexo <i>ccr</i>	14
Figura 2	Complexo <i>mec</i> e suas classes	14
Figura 3	Disposição genética para diferenciação dos tipos de <i>SCCmec</i>	15
Tabela 1	Principais diferenças entre CA-MRSA e HA-MRSA	16

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
1.2 Patogenicidade.....	11
1.3 Fatores de virulência .....	11
1.4 Resistência aos antimicrobianos .....	12
1.5 HA-MRSA e CA-MRSA .....	16
1.6 Epidemiologia de infecções causadas por MRSA .....	17
1.7 Distribuição dos tipos de SCCmec .....	18
1.8 Técnicas moleculares.....	19
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo geral .....	20
2.2 Objetivos específicos.....	20
3. JUSTIFICATIVA.....	21
4. ARTIGO CIENTÍFICO.....	22
4. 1 ARTIGO.....	23
5. CONCLUSÃO .....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
6. ANEXOS.....	47
6. 1 ANEXO A.....	48
6. 3 ANEXO B.....	51
6. 4 ANEXO C .....	53

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram positiva com arranjo microscópico em cocos agrupados que se assemelham a cachos de uva, são imóveis e não formam esporos. Para identificação em laboratório clínico, além das características morfológicas, são observadas características bioquímicas expressas pelo microrganismo<sup>1</sup>.

As principais provas realizadas na identificação são a coagulase, DNase e manitol. A prova da coagulase está relacionada ao fator de agregação contido na superfície celular das bactérias, que, ao entrar em contato com o plasma, reage com o fibrinogênio, formando assim fibrinas, observadas em forma de coágulo. A prova da desoxirribonuclease (DNase) está relacionada com a formação de coágulo, sendo útil para confirmação de uma prova coagulase fraca. Para a fermentação do manitol utiliza-se meio de crescimento bacteriano específico contendo manitol e cloreto de sódio (NaCl) em altas concentrações, essa alta concentração de sais do meio impede o crescimento de outros microrganismos, facilitando a identificação do patógeno em amostras clínicas, já que o *S. aureus* cresce nessas condições<sup>1</sup>.

É o microrganismo de maior importância e mais patogênico do gênero *Staphylococcus spp.*<sup>2, 1, 3, 4, 6</sup>, caracterizado como ubíquo devido a sua capacidade de sobrevivência em diversos ambientes<sup>7</sup>. A bactéria pode ser identificada em infecções adquiridas tanto na comunidade como em ambiente hospitalar<sup>3, 8</sup>.

Esse microrganismo apresenta elevada capacidade de aquisição de resistência aos antimicrobianos, através de elementos genéticos móveis. A principal resistência adquirida da espécie é frente à meticilina<sup>3, 9</sup>.

*S. aureus* apresenta habilidade de colonizar o corpo humano, principalmente as mucosas e pele. A colonização é um importante fator na patogenicidade e epidemiologia das infecções causadas por esses microrganismos, pois indivíduos colonizados apresentam maiores riscos de serem infectados<sup>3</sup>. Crianças constituem o grupo mais suscetível à colonização por *S. aureus*, apresentando uma prevalência com variação de 7,6 - 53,8%, dependendo da idade<sup>3</sup>. A taxa de colonização permanente ou transitória por essas bactérias em indivíduos saudáveis em geral é

de aproximadamente 80%<sup>10</sup>, onde nos adultos, a taxa de colonização nas narinas varia de 20-40%<sup>1, 11</sup>.

Por isso, *Staphylococcus aureus* caracteriza-se como um patógeno oportunista, causando infecções ao se aproveitar da imunossupressão do hospedeiro. Entre os fatores que predispõem a infecção estão os defeitos na quimiotaxia leucocitária, opsonização de anticorpos e destruição intracelular das bactérias após fagocitose. Estão também comumente associadas as lesões cutâneas, presença de corpos estranhos no organismo (cateter e prótese) e doenças subjacentes crônicas<sup>1</sup>.

## 1.2 Patogenicidade

Quando introduzido no organismo humano, o microrganismo pode vir a causar uma série de doenças, sendo estas infecções caracterizadas de leves a graves<sup>1, 12, 13, 14, 15</sup>.

As doenças relacionadas à *S. aureus* consideradas de gravidade leve, são as lesões cutâneas. Quando a bactéria se aproveita de feridas decorrente de alguma intervenção cirúrgica, pode vir a causar infecções sistêmicas mais graves. Fazendo parte das infecções sistêmicas citamos a pneumonia por *S. aureus*, que acomete principalmente indivíduos em ambiente hospitalar, geralmente com doença pulmonar obstrutiva e com o uso de ventilação mecânica. As doenças malignas subjacentes são reconhecidas como importantes fatores de risco para o desenvolvimento de bacteremia e é através dela que o microrganismo pode se implantar em locais distantes, vindo a causar endocardite, osteomielite, piodartrite e formação de abscessos metastáticos na pele, tecido subcutâneo, pulmões, fígado, rins e cérebro<sup>16, 12, 17, 18, 19</sup>.

## 1.3 Fatores de virulência

A eficiência da disseminação de *S. aureus* nas infecções humanas se dá pela versatilidade do microrganismo em colonizar o homem e o ambiente ao seu redor<sup>20</sup>, processo que envolve uma grande quantidade de componentes extracelulares e da parede celular<sup>1</sup>.

A colonização é o resultado de um contato físico do hospedeiro com a bactéria. Após esse contato, adesinas específicas se fixam a célula do hospedeiro. Estabelecida no organismo humano, a bactéria se protege contra o ataque do sistema imunológico com o auxílio de genes expressos para evitar a fagocitose<sup>1</sup>. A regulação dos genes expressando fatores de virulência é auxiliada pelo sistema de *quorum sensing*, responsável pelo “sentir” das bactérias. Esse sistema proporciona o momento ideal para a expressão de determinados fatores de virulência pela bactéria, coordenando assim, seu comportamento de acordo com as condições do ambiente<sup>21, 1</sup>. Dentre os principais mecanismos de virulência presentes em *S. aureus* estão: a cápsula com ação antifagocitária; a parede celular composta por peptidoglicanos, ácidos teicóicos e proteína A; adesinas de superfície como a coagulase e fibrinogênio; produção de exotoxinas como as enterotoxinas e a toxina do choque tóxico e as enzimas como DNAse e beta-lactamase<sup>1, 19, 22</sup>.

#### 1.4 Resistência aos antimicrobianos

A penicilina, desde sua descoberta na década de 40, foi utilizada para tratar infecções causadas por *S. aureus*, antes da descoberta desse antimicrobiano, infecções causadas por esse microrganismo, comumente eram letais<sup>23</sup>.

Não muito tempo após o início do uso da penicilina no tratamento de infecções causadas por *S. aureus*, em 1942, foram relatados os primeiros casos de cepas resistentes. Essa resistência deu-se pela produção de  $\beta$ -lactamases (penicilinases), responsáveis pela inativação do antimicrobiano pela hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico<sup>23, 24</sup>. Como opção terapêutica para o tratamento de pacientes infectados por cepas resistentes a penicilina ou aqueles que apresentavam algum tipo de alergia a droga, foi introduzido no mercado, no ano de 1960, uma penicilina semi-sintética, denominada metilicina, nessa época, 80% dos isolados de *S. aureus* já apresentavam penicilinases<sup>23, 24</sup>.

A resistência do *S. aureus* frente à exposição da bactéria aos agentes antimicrobianos se dá pela aquisição de elementos genéticos móveis específicos, entre eles o gene *blaZ*, responsável pela codificação de penicilinases, enzimas extracelulares, que hidrolisam o anel  $\beta$ -lactâmico da penicilina e o gene *mecA*

inserido no *Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCC*mec*) responsável pela resistência à metilina<sup>8, 25</sup>.

Antimicrobianos de diferentes classes estão sendo utilizados no tratamento de infecções causadas por bactérias do gênero *Staphylococcus spp.*, incluindo os beta-lactâmicos, glicopeptídeos, aminoglicosídeos, macrolídeos, fluoroquinolonas, etc. Perante a exposição do microrganismo aos antimicrobianos, o aparecimento de resistência torna-se previsível, inclusive à vancomicina, antimicrobiano de escolha para MRSA<sup>25</sup>.

A resistência relacionada à expressão genética inclui os genes *erm* (*ermA*, *ermB*, *ermC*) que proporcionam a resistência a eritromicina, genes *tet* (*tetK*, *tetL*, *tetM*, *tetO*) responsáveis pela resistência a tetraciclina e os genes *aac(6')-aph(2'')*, *aph(3')-III* e *ant(4')-I* que são responsáveis pela resistência da bactéria à gentamicina. A resistência bacteriana pode ser repassada de uma bactéria para outra, essa troca de informação genética muitas vezes ocorre até mesmo entre espécies e não apenas entre isolados pertencentes ao mesmo gênero e espécie<sup>26</sup>.

Entre os elementos genéticos, o mais conhecido e estudado até o presente momento é o SCC*mec*, localizado em local específico do genoma bacteriano denominado "SCC*mec* attachment site" (*attB<sub>sc</sub>*) na porção 3' de uma sequência aberta de leitura (*orfX*), caracterizado por repetições terminais diretas e invertidas, elementos do complexo *ccr*, do complexo *mec* e regiões *junkyard*<sup>23, 27</sup>.

O complexo *cassette chromosome recombinases* (*ccr*), tem como função codificar as recombinases que medeiam a integração e excisão do SCC*mec*, habilitando a mobilidade desse elemento. Esses genes são encontrados em todos os tipos de SCC*mec* e tem como função a integração do mesmo em lugares específicos do genoma. São classificados em complexos denominados 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, podendo apresentar genes distintos em sua inserção<sup>15, 28</sup>. Figura 1

<i>ccr</i> gene complexes	<i>ccr</i> genes	SCC <i>mec</i> types carrying the <i>ccr</i> gene complexes
Type 1	A1B1	I, IX
Type 2	A2B2	II, IV
Type 3	A3B3	III
Type 4	A4B4**	VI, VIII
Type 5	C1	V, VII
Type 6	A5B3	
Type 7	A1B6	X
Type 8	A1B3	XI

Figura 1 Disposição genética do complexo *ccr*.

Fonte: [http://www.sccmec.org/Pages/SCC\\_TypesEN.html](http://www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN.html)

O complexo *mec* é representando, com suas variâncias, pelas classes A, B, C, D e E. Cada complexo apresenta diferentes genes inseridos, entre eles o IS431, IS1272, *mecA*, *mecI* e *mecR1* estando presente em tipos de SCC*mec* distintos<sup>23, 27, 28</sup>. Figura 2

<i>mec</i> gene complexes		SCC <i>mec</i> types carrying the <i>mec</i> gene complexes
class A	IS431- <i>mecA</i> - <i>mecR1</i> - <i>mecI</i>	II, III, VIII
class B	IS431- <i>mecA</i> - $\Delta$ <i>mecR1</i> -IS1272	I, IV, VI
class C1	IS431- <i>mecA</i> - $\Delta$ <i>mecR1</i> -IS431 (two IS431s were arranged in the same direction)	VII, X
class C2	IS431- <i>mecA</i> - $\Delta$ <i>mecR1</i> -IS431 (two IS431s were arranged in the opposite direction)	V, IX
class D	IS431- <i>mecA</i> - $\Delta$ <i>mecR1</i>	
class E	<i>blaZ</i> - <i>mecA</i> <sub>LGA251</sub> - <i>mecR1</i> <sub>LGA251</sub> - <i>mecI</i> <sub>LGA251</sub>	XI

Figura 2 Complexo *mec* e suas classes.

Fonte: [http://www.sccmec.org/Pages/SCC\\_TypesEN.html](http://www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN.html)

Para completar a região do SCC*mec*, ainda encontramos as “*junkyard region*” (região J). São regiões não essenciais para a célula e podem apresentar determinantes adicionais de resistência bacteriana. A região J é classificada em três subtipos. A J1 é a inserida entre a direita do cromossomo e do complexo de genes *ccr*, J2 está entre o complexo de genes *ccr* e do complexo de genes *mec* e J3 situa-se entre o complexo de genes *mec* e a junção cromossomal esquerda<sup>27, 28, 29</sup>.

O gene *mecA* é responsável por uma alteração na proteína ligadora de penicilina (PBP) que antes era inativada por um agente  $\beta$ -lactâmico. Após a

alteração, a proteína passa a ser chamada de PBP 2a e apresenta baixa afinidade por agentes  $\beta$ -lactâmicos possibilitando o crescimento do microrganismo<sup>1</sup>. Esse gene é regulado pelo sistema de genes regulatórios *mecI/mecR1*<sup>6, 23, 25, 27, 30</sup>.

Quando não há um agente  $\beta$ -lactâmico no meio em que a bactéria está exposta, por questão de economia de energia, a proteína *mecI* irá reprimir a transcrição do gene *mecA*. Porém, quando a bactéria é exposta a um agente  $\beta$ -lactâmico, *mecR1* (proteína transmembranosa sinalizadora sensível aos  $\beta$ -lactâmicos) localizado no citoplasma bacteriano, torna-se ativo. Esse processo de ativação faz com que o *mecI* seja clivado, deixando a região operadora do gene *mecA* livre permitindo a transcrição do gene e posterior produção da PBP 2a<sup>27</sup>.

A combinação de todos os elementos citados acima faz com que a diferenciação dos tipos de SCC*mec* seja realizada. Onze tipos de SCC*mec* foram descritos até o presente momento, constituindo uma ferramenta bastante útil quando se pensa em epidemiologia de MRSA<sup>15, 20, 24, 27, 28, 29, 31</sup>. Figura 3

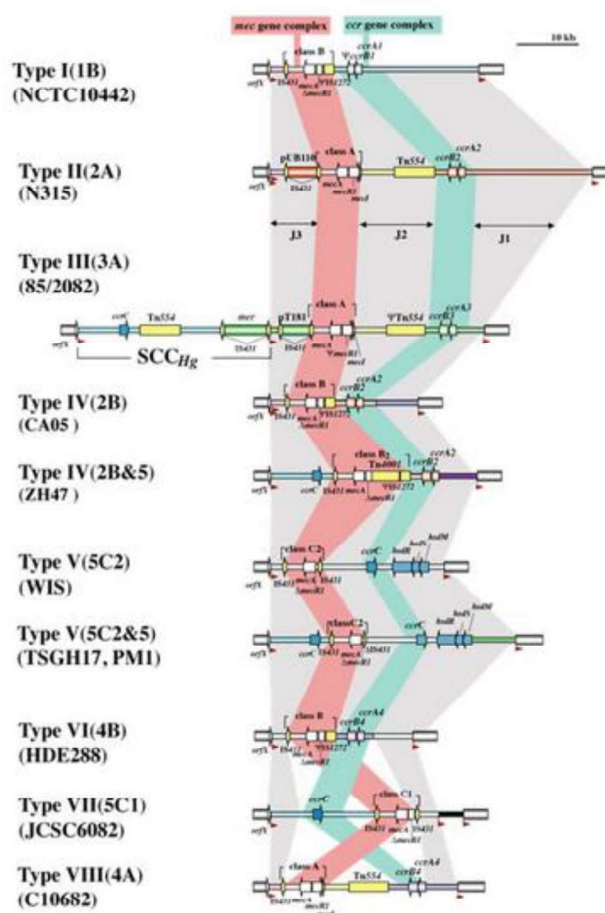


Figura 3 Disposição genética para diferenciação dos tipos de SCC*mec*.

Fonte: [http://www.sccmec.org/Pages/SCC\\_ClassificationEN.html](http://www.sccmec.org/Pages/SCC_ClassificationEN.html)

### 1.5 HA-MRSA e CA-MRSA

Antes acometendo apenas pacientes que eram submetidos a longos períodos de internação hospitalar e uso prévio de antimicrobiano, MRSA começaram a causar infecções em pacientes da comunidade, primeiramente caracterizados como saudáveis. Devido a isso, tornou-se necessário uma análise cautelosa para a determinação da origem da infecção<sup>24</sup>. Tabela 1.

	HA-MRSA	CA-MRSA
Epidemiologia	Idosos, imunocomprometidos, com fatores de risco associados a cuidados médicos	Jovens e crianças saudáveis, atletas, sem fatores de risco
Clínica	Infecções de trato respiratório, sítio operatório, bacteremias (invasivo)	Infecções de pele e tecidos moles, pneumonia necrotizante
Fatores de risco	Hospitalização prolongada, uso de antimicrobiano por longo período, hemodiálise, dispositivos intravasculares	Contato físico, uso de drogas intravenosas, lesões de pele
Fenótipo de resistência	Na maioria das vezes são multiresistentes ( $\beta$ -lactâmicos e não- $\beta$ -lactâmicos)	Somente aos $\beta$ -lactâmicos
Marcadores genéticos	PVL em < 5% dos isolados; SCCmec tipos I, II e III (principalmente)	PVL em > 95% dos isolados; SCCmec tipos IV e V

Tabela 1 Principais diferenças entre CA-MRSA e HA-MRSA.

*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina oriundo da comunidade (CA-MRSA) passaram a ser conhecidos e classificados como isolados infectando pacientes sem histórico de isolamento prévio de MRSA, sem hospitalização, diálise ou cirurgia entre um período recente de um ano. Com relação às infecções causadas, geralmente estão presentes nas formas mais leves, acometendo a pele. Como características moleculares desses isolados, frequentemente apresentam cassete de menor tamanho, onde os tipos mais comuns de SCCmec encontrados são o IV, V ou VII. Também carregam os genes *lukS* e *lukF*, responsáveis pela expressão da leucocidina de Panton-Valentine (PVL)<sup>6, 8, 9, 12, 16, 17, 32, 33, 34</sup>.

Do outro lado, estão os MRSA oriundos do ambiente hospitalar (HA-MRSA), apresentando os tipos I, II e III de SCCmec, sendo, na maioria das vezes,

multirresistentes e causando infecções em pacientes submetidos a um longo período de internação, uso prévio de antimicrobianos ou infecção recorrente<sup>6, 8, 12, 35, 36, 37</sup>.

Um fato importante relacionado aos SCCmec presentes nos isolados é de que especula-se que o SCCmec tipo IV (CA-MRSA) possua uma maior capacidade adaptativa e reprodutiva se comparado aos tipos II e III característicos de isolados HA-MRSA<sup>38</sup>. Isso se dá pela ausência de fatores que preconizam resistência aos antimicrobianos e o tamanho menor do SCCmec tipo IV, facilitando a transferência horizontal entre isolados<sup>39, 40</sup>.

## 1.6 Epidemiologia de infecções causadas por MRSA

O primeiro relato de identificação e isolamento de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina foi realizado na Inglaterra em 1961. A partir dos anos 90, tanto colonização como infecções por MRSA vêm aumentando e acometendo pessoas da comunidade e ambiente hospitalar, correspondendo a altas taxas em todo o mundo<sup>26</sup>.

A incidência de infecções causadas por MRSA na China é de aproximadamente 50%<sup>41</sup>. Hospitais dos EUA, Canadá e Europa identificaram *S. aureus* como responsável por 22% das infecções sanguíneas, 23,2% das infecções do trato respiratório, e 39,2% das infecções de pele e mucosas<sup>42</sup>, com mortalidade associada a taxas entre 20% e 40%<sup>43</sup>.

Kahsay *et al.* (2014)<sup>5</sup> constatou que 49,7% das infecções de sítio cirúrgico na Etiópia são causadas por MRSA. Já na Índia, Vijayamohan e Nair (2014)<sup>44</sup> identificaram 22,2% de MRSA causando infecção.

Na maioria dos hospitais da Ásia, MRSA são endêmicos representando uma taxa de 28% em Hong Kong e Indonésia e maior que 70% na Coreia<sup>45</sup>.

No Brasil, 20% das bacteremias são causadas por *S. aureus* e aproximadamente 50% desses isolados apresentam resistência a meticilina<sup>15</sup>.

Amostras clínicas de um hospital de Caico, Rio Grande do Norte, Brasil, foram analisadas por Almeida *et al.* (2014)<sup>18</sup>. Dos 125 pacientes, 64,80% eram colonizados por bactéria do gênero *Staphylococcus spp.*, 20% eram *S. aureus*, das quais 32% eram resistentes a meticilina. Este estudo mostrou também uma associação entre a colonização do paciente com o desenvolvimento de pneumonia, onde dos pacientes

colonizados por MRSA, 75% apresentava uma ou mais comorbidades, 25% tinham câncer ou diabetes, 50% tinham doença cardiovascular e 50% foram a óbito.

Estudo realizado por Santos *et al.* (2010)<sup>46</sup> para identificar a colonização por *S. aureus* em pacientes admitidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, envolveu 473 pacientes, entre eles 297 adultos e 176 crianças. A prevalência de colonização por MRSA foi de 6,1% na população adulta e 2,3% em crianças. A colonização em adultos foi relacionada à internação prévia e faixa etária em torno de 60 anos. A identificação da colonização de pacientes por MRSA é um passo para que padrões de controle de disseminação entre pacientes sejam estabelecidos no ambiente hospitalar, evitando possíveis surtos.

As elevadas taxas de infecções ocasionadas por MRSA acometendo indivíduos principalmente em ambiente hospitalar pelo mundo evidencia a necessidade de estudos constantes. O estudo molecular desses microrganismos auxilia na determinação da distribuição epidemiológica e caracterização genética com relação à incidência de tipos de SCCmec em determinadas regiões.

### **1.7 Distribuição dos tipos de SCCmec**

Tipos de SCCmec são geograficamente distribuídos, porém, variações com relação a incidência dos mesmos podem ocorrer. Em Porto Alegre, estudos com isolados de MRSA determinaram uma incidência de SCCmec tipo III, seguido pelo tipo I<sup>46,47</sup>.

Perez e colaboradores estudaram isolados oriundos dos principais hospitais de Porto Alegre e também encontraram SCCmec tipo III como sendo o tipo mais incidente<sup>47</sup>.

Reiter e colaboradores<sup>48</sup> verificaram incidência do tipo III em pacientes com fibrose cística e pacientes não portadores da doença apresentaram uma maior diversidade com relação aos tipos de SCCmec presentes nos isolados de MRSA causando infecções. Destes, 31/89 (35%) carregavam tipo I, 44/89 (49%) tipo III.

Observando a distribuição global de SCCmec, na Suíça, estudos revelaram incidência do SCCmec tipo IV (42,9%), o tipo II foi o segundo encontrado com maior frequência (19,5%), tipo I com 18,2% e o III como sendo o menos incidente representando 7,8%<sup>49</sup>.

Em Israel, foram encontrados resultados semelhantes com o relatado acima, onde tipos II, V e IV de SCCmec corresponderam 29,4% dos isolados, tipo I com 11,8% e nenhum isolado apresentando SCCmec tipo III<sup>50</sup>.

Na Espanha, 135 isolados de MRSA foram analisados, destes, 87,4% apresentavam SCCmec tipo IV, 6,6% tipo I e 5,2% tipo III<sup>51</sup>.

Já na África do Sul, observamos uma mudança nesse perfil de incidência dos tipos de SCCmec, onde foram encontrados com maior frequência tipo II (67%) nos 97 isolados de MRSA analisados em um hospital, com uma incidência muito baixa para os tipos IV (4%) e o tipo III como sendo o segundo de maior frequência (14%)<sup>52</sup>.

Com os resultados acima citados, de estudos escolhidos justamente por serem realizados nas mais distintas regiões do mundo podemos constatar que a variação na distribuição dos tipos de SCCmec depende de fatores, como: de região para região, ao longo do tempo e da população estudada.

## 1.8 Técnicas moleculares

A reação em cadeia polimerase (PCR) é a técnica mais utilizada para replicação de sequências específicas do DNA, sendo utilizada para análises genéticas<sup>53</sup>. Essa técnica envolve amplificação de uma sequência do DNA usando *primers* capazes de hibridizar sítios cromossômicos. Os *primers* são utilizados conforme a sequência que se deseja amplificar. PCR possui baixo poder discriminatório se comparado ao PFGE, porém, é uma técnica de fácil reprodutibilidade, podendo ser utilizada para diferenciação e tipagem rápida de isolados<sup>54</sup>.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Caracterizar molecularmente isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina (MRSA) oriundos de um hospital geral no Sul do Brasil.

### **2.2 Objetivos específicos**

Através de reação em cadeia polimerase (PCR), detectar a presença do gene *mecA* e determinar o tipo de SCC*mec* presente nos MRSA.

### 3. JUSTIFICATIVA

A caracterização molecular bacteriana vem se consolidando como ferramenta chave na construção do conhecimento da epidemiologia das infecções associadas à assistência à saúde. MRSA é reconhecido mundialmente como um dos principais agentes causadores dessas infecções.

Embora cada região tenha uma incidência de tipos de *SCCmec* específicos, essa caracterização sofre evolução constante pela facilidade de transferência de material genético entre os microrganismos.

As mudanças regionais relatadas ao longo dos anos relacionadas aos tipos de *SCCmec* predominantes, eleva a importância de um monitoramento molecular de isolados causando infecções, para que se estabeleçam estratégias de controle de disseminação e tratamento dessas infecções.

#### 4. ARTIGO CIENTÍFICO

## 4. 1 ARTIGO

A ser submetido para Brazilian Journal of Microbiology.

Changes in SCC*mec* types in clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a hospital in Southern Brazil

Bruna Gerardon Batista<sup>1</sup>, Pedro Alves d'Azevedo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Cocos Gram Positivos, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS, Brazil.

### Abstract

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an opportunistic pathogen that affects public health representing the most common infections related to health care and community. MRSA infections are classified as health care-associated MRSA (HA-MRSA) and community-associated MRSA (CA-MRSA) defined by the bacteria genetic profile. This study conducts a molecular characterization of eighty-one MRSA isolates from a hospital in Porto Alegre, RS, Brazil, in a period from January to June of 2012. A *multiplex* PCR was performed to determine the SCC*mec* types. From the 81 isolates, 24 (30%) were type I, 10 (12%) type II, 21 (26%) type III, 4 (5%) type IVa, 12 (15%) isolates were type IVc, 1 isolate was type I and IVc (1%) and 1 was type III and IVc (1%) simultaneously, while non-typable isolates corresponded to 8 isolates (10%). However most of the isolates were carrying SCC*mec* types related to HA-MRSA, the results reveal a change in the epidemiology, considering the decrease of the incidence of SCC*mec* type III and the increase of isolates being typed as SCC*mec* I.

**Keywords:** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Molecular Typing, Polymerase Chain Reaction

### Introduction

*Staphylococcus aureus* is a microorganism responsible for a wide variety of infectious diseases (Gelatti *et al.*, 2013). Methicillin resistance in *staphylococci* is mainly due to the expression of the *mecA* gene, which specifies penicillin binding protein 2a (PBP2a), a transpeptidase with a low affinity for  $\beta$ -lactams (Vitali *et al.*, 2014). This gene is located on the staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*), a mobile genetic element (Valesia *et al.*, 2010). The SCC*mec* has been

classified in 11 types (I–XI) until now (Mohammadi *et al.*, 2014), however only type I–V are globally distributed (Vitali *et al.*, 2014).

Differences in SCC*mec* elements are classified and characterized according to combinations in *cassette chromosome recombinase* (*ccr*), the *mec* complex and the *junkyard* region (Vitali *et al.*, 2014, Hirmatsu *et al.*, 2001).

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an important pathogen of public health representing the most common bacteria in infections related to health care and community (Gelatti *et al.*, 2013, Mohammadi *et al.*, 2014). The rapid identification of the bacteria provides the successful control of the infection (Senda *et al.*, 2014).

Therefore, MRSA infections are classified as health care-associated MRSA (HA-MRSA) and community-associated MRSA (CA-MRSA) (Gelatti *et al.*, 2013, Mohammadi *et al.*, 2014). Infections caused by CA-MRSA isolates are usually associated with healthy people and are epidemiologically defined depending on two situations: if collected from outpatients or if collected up to 48 hours after hospital admission. Regarding to the genetic profile described, the most common SCC*mec* types are IV and V (Valsesia *et al.*, 2010, Gelatti *et al.*, 2013, Senda *et al.*, 2014).

On the other hand, HA-MRSA is associated with a longer period of hospitalization, previous use of antibiotic and epidemiologically related to SCC*mec* types I, II and III (Valsesia *et al.*, 2010).

This study evaluated the occurrence of SCC*mec* types I to V in clinical isolates of MRSA.

### **Materials and Methods**

Eighty-one isolates were collected at Conceição Hospital Group (GHC) in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

The study included isolates from January to June of 2012 previously identified at the Central Laboratory of the hospital. The isolates were collected from different sites of patients that present infection symptoms, regardless of the age. Among the sites we can mention tracheal aspirate, sputum, urine, secretions of wounds, abscesses and blood.

After DNA extraction, all MRSA isolates were submitted to a PCR for molecular confirmation of the presence of the genes investigated. The DNA extraction, a PCR to investigate the presence of *mecA* gene and a *multiplex* PCR using the SCC*mec* type I–V according to Zhang *et al.* (2005) were made. Isolates

were also confirmed by genus and specie by phenotypic methods through the presentation of positive biochemical tests for coagulase and DNase.

Control strains for *SCCmec* type I NCTC10442, type II N315, type III NCTC85/2082, type IVa CA05, type IVb 8/6-3P, type IVc MR-108, IVd JCSC4469 and for type V JCSC3624 were used.

### **Results**

The isolates included in the study were positive for the *mecA* gene, confirming the resistance of bacteria to methicillin, which is given by the expression of this gene. Twenty-four isolates were type I (30%), 10 type II (12%), 21 type III (26%), 4 type IVa (5%), 12 isolates type IVc (15%), 1 isolated type I and IVc (1%) and 1 was type III and IVc (1%) simultaneously, while non-typable isolates corresponded to 8 isolates (10%). Isolates were considered non-typable when there was no amplification for the primers tested. Table 1

### **Discussion**

Data demonstrated that infections related with HA-MRSA *SCCmec* types are still prevalent in health care, where type I was the most frequently found, followed by type III. Type IVc had a significant number of isolates and it is associated with infections caused by CA-MRSA.

Gelatti *et al.*, 2013 performed a study with MRSA isolates from others health care centers in Porto Alegre finding predominance of *SCCmec* type III (60%), followed by type I (36.7%). It was possible to observe a percentage similarity regarding to *SCCmec* types related to HA-MRSA with a small change in the predominant type.

Also related with isolates from Porto Alegre, Becker *et al.*, 2012 performed a study with thirty isolates of 2008. The incidence found was *SCCmec* type III with eighteen isolates (60%) clonally related with Brazilian epidemic clone, and eleven isolates (36.7%) harboring *SCCmec* type I closely related to the Cordobes/Chilean clone. The present study shows changes in the types of *SCCmec* in the clinical isolates at the studied hospital. This fact must be investigated more closely in order to determine if the prevalence of Brazilian epidemic clone is being replaced by other clones in hospitals from Porto Alegre.

A study involving the three largest hospitals in Porto Alegre (Clínicas Hospital, Conceição Hospitalar Group and Santa Casa de Misericórdia) was conducted by Perez *et al.*, 2008. In this study, 9 blood isolates from MRSA were obtained from

August to December of 2004. About this isolates, 8 harbored *SCCmec* type III and one were non-typable. We could also observe the change occurred in the incidence of certain types of *SCCmec* in the hospital environment.

Table 1 *SCCmec* typing of MRSA isolates. NT: non-typable

<i>SCCmec</i>	N (%)
I	24 (30)
II	10 (12)
III	21 (26)
IVa	4 (5)
IVc	12 (15)
I e IVc	1 (1)
III e IVc	1 (1)
NT	8 (10)
<b>Total</b>	<b>81</b>

Reiter *et al.*, 2010 analyzed 364 isolates of *Staphylococcus aureus* from inpatients of Clínicas Hospital in Porto Alegre, RS, Brazil. The study includes cystic fibrosis (CF) patients and non-cystic fibrosis. 104 (45%) *S. aureus* isolates were obtained from CF patients and 57 (45.5%) of these isolates were identified as MRSA. Among the isolates of non-CF patients, 89 (35%) were MRSA. All isolates of CF patients harbored *SCCmec* type III and one isolate harbored type I and II simultaneously. Isolates from non-CF patients, 31/89 (35%) harbored type I and 44/89 (49%) harbored type III with also one isolate harboring type I and II simultaneously. In the present study, we analyzed MRSA isolates from inpatients with the most distinct comorbidities not reported also causing infection. The molecular characterization also provided the observation of the change in the types of *SCCmec* circulating in the hospital. This study found incidence of isolates from GHC harboring *SCCmec* type I. It shows the importance of conducting epidemiological studies involving different hospitals in the same city to confirm the epidemiology change by the circulating *SCCmec* types.

Non-typable isolates probably occurs when there is some variation in the disposition of genetic elements inserted in the *SCCmec*, causing variants of the most frequently types or even new types that have not been reported suggesting the need to analyze other *SCCmec* types reported to date (VI to XI) (Martins *et al.*, 2014). This

Predominance of SCCmec types related to HA-MRSA found in this study confirms the infection occurred with circulating MRSA in the hospital environment, reinforcing the need of sanitizing hands and extreme caution in patient care. Precautionary measures related to contact avoid outbreaks due to the spread of bacteria (Senda *et al.*, 2014).

In conclusion, the molecular characterization of MRSA isolates makes possible to determine the changes in the types of SCCmec found in MRSA isolates causing infections in Porto Alegre, Southern Brazil.

### **Acknowledgments**

This study was supported by the National Counsel of Technological and Scientific Development (CNPq), Foundation for Research Support of Rio Grande do Sul State (FAPERGS) and Coordination of Higher Education Personal Improvement (CAPES).

### **References**

- Gelatti, LC, Bonamigo, RR, Inoue, FM, Carmo, MS, Becker, AP, Castrucci, FMS, Pignatari, ACC, d' Azevedo, PA. (2013) Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying SCCmec type IV in southern Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 46(1): 34-8.
- Vitali, LA, Petrelli, D, Lamikanra, A, Prenna, M, Akinkunmi, EO. (2014) Diversity of antibiotic resistance genes and *staphylococcal* cassette chromosome *mec* elements in faecal isolates of coagulase-negative *staphylococci* from Nigeria. BMC Microbiol 14: 106.
- Valsesia, G, Rossi, M, Bertschy, S, Pfyffer, GE. (2010) Emergence of SCCmec Type IV and SCCmec Type V Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Containing the Panton-Valentine Leukocidin Genes in a Large Academic Teaching Hospital in Central Switzerland: External Invaders or Persisting Circulators? J Clin Microbiol 48(3): 720-7.
- Mohammadi, S, Sekawi, Z, Monjezi, A, Maleki, M, Soroush, S, Sadeghifard, N, Pakzad, I, Azizi-Jalilian, F, Emaneini, M, Asadollahi, K, Pourahmad, F, Zarrilli, R, Taherikalani, M. (2014) Emergence of SCCmec type III with variable antimicrobial resistance profiles and *spa* types among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from healthcare- and community-acquired infections in the west of Iran. Int J Infect Dis 25: 152-8.

- Senda, Y, Takemori, Y, Iwata, Y, Fujita, S, Sakai, Y, Wada, T. (2014) Molecular epidemiology of the Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by the internal transcribed spacer PCR (ITS-PCR) method and the phage open reading frame typing (POT) method. *Rinsho Byori J* 62(5): 421-6.
- Zhang, K, McClure, JA, Elsayed, S, Louie, T. & Conly, J. M. (2005) Novel multiple PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome *mec* types I to IV in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 43: 5026–33.
- Becker, AP, Santos, O, Castrucci, FM, Dias, C, d’Azevedo, PA. (2012) First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Cordobes/Chilean clone involved in nosocomial infections in Brazil. *Epidemiol Infect* 140(8): 1372-5.
- Perez, LRR, d’Azevedo, PA. (2008) Clonal types and antimicrobial resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitals in south Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 50(3): 135-7.
- Reiter, KC, Machado, ABM, Freitas, AL, Barth, AL. (2010) High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with SCC*mec* type III in cystic fibrosis patients in southern, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 43(4): 377-81.
- Hirmatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. (2001) The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 9(10): 486-93.
- Martins A, Riboli DFM, Pereira VC, da Cunha MLRS. (2014) Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a Brazilian university hospital. *Braz J Infect Dis* 18(3): 331-335.



## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo da revista](#)
- [Submissão de um artigo](#)
- [Publicação do artigo](#)
- [Preparo do artigo](#)

### Escopo da revista

A revista *Brazilian Journal of Microbiology*, editada pela Sociedade Brasileira de Microbiologia, publica artigos originais, e trabalhos de revisão que cobrem todos os aspectos da Microbiologia. Não são cobradas taxas para publicação de artigos.

As seguintes categorias de artigos são aceitas para publicação no *Brazilian Journal of Microbiology*:

- **Artigos Originais:** reportam resultados científicos originais que ainda não tenham sido publicados em outro periódico;
- **Artigos de Revisão:** abordam temas ligados à microbiologia em geral e de amplo interesse da área.

Seu manuscrito deve ser escrito em inglês **claro e compreensível**.

Se você tiver dúvidas sobre o nível de inglês do seu texto, você pode optar por ter o seu manuscrito editado profissionalmente por um nativo da língua inglesa ou por um serviço de editoração científica **antes da submissão** do seu manuscrito. Todos os serviços devem ser organizados e pagos pelo autor, e o uso de um desses serviços não garante a aceitação ou preferência para publicação do manuscrito. No caso de o autor ser um nativo da língua inglesa, por favor, substituir o certificado de Inglês por uma carta de justificativa.

É um prazer aceitar o seu trabalho para ser publicado na Revista Brasileira de Microbiologia. No entanto, só será publicada uma vez revisada a versão final do texto em Inglês. Por favor, envie o texto revisado e o certificado emitido pelo "American Journal Experts".

• American Journal Experts: <http://www.JournalExperts.com?rcode=BSM1>

### SEÇÕES

#### Microbiologia Industrial: Fermentação Bacteriana

- Biossíntese e bioconversão de produtos naturais, como: antibióticos; xenobióticos e macromoléculas produzidas por bactérias.

- Aspectos moleculares de biotecnologia bacteriana.

### **Fermentação Fúngica**

- Biossíntese e bioconversão de produtos naturais, como: antibióticos; xenobióticos e macromoléculas produzidas por fungos.
- Aspectos moleculares de biotecnologia fúngica.

### **Microbiologia de Alimentos: Tecnologia de Alimentos**

- Aplicações de microrganismos (bactérias e fungos) na produção de alimentos.

### **Segurança e Qualidade dos alimentos**

- Doenças de origem alimentar.
- Deterioração de alimentos.
- Ecologia microbiana em alimentos.

### **Microbiologia Médica: Patogênese Bacteriana**

- Bases genéticas, bioquímicas e estruturais da patogênese bacteriana.

### **Patogenicidade de Fungos**

- Bases genéticas, bioquímicas e estruturais da patogênese fúngica.

### **Microbiologia Clínica: Bacteriologia**

- Estudos sobre bactérias de importância médica.

### **Micologia**

- Estudos sobre fungos de importância médica.

### **Virulogia**

- Estudos sobre vírus de importância médica.

### **Microbiologia Ambiental: Ecologia Microbiana**

- Ecologia de grupos microbianos naturais; diversidade microbiana de ambientes naturais, como água, solo, sedimentos e organismos superiores.
- Interações microbianas.

### **Biotecnologia**

- Aspectos ambientais de saúde pública.
- Biodegradação.
- Biorremediação.

- Considerações ambientais para microrganismos geneticamente modificados.

### **Fisiologia de Fungos**

- Bioquímica de fungos, biofísica, metabolismo, estrutura celular, respostas a fatores de estresse, crescimento, diferenciação e outros processos relacionados.

### **Fisiologia de Bactérias**

- Bioquímica de bactérias, biofísica, metabolismo, estrutura celular, respostas a fatores de estresse, crescimento, diferenciação e outros processos relacionados.

### **Genética e Biologia Molecular de Fungos**

- Genética de fungos, biologia molecular, regulação gênica, replicação e reparo de DNA, proteomas e transcriptomas

### **Genética e Biologia Molecular de Bactérias**

- Genética de bactérias, biologia molecular, regulação gênica, replicação e reparo de DNA, proteomas e transcriptomas

### **Genética e Biologia Molecular de Vírus**

- Genética de vírus, biologia molecular, regulação gênica, replicação e reparo de DNA, proteomas e transcriptomas

### **Microbiologia Veterinária**

- Doenças de animais
- Controle e/ou tratamento de animais
- Diagnóstico de patógenos de animais
- Patógenos veterinários ou zoonóticos

### **Ensino de Microbiologia**

- Estratégias de ensino em microbiologia
- Novas ferramentas de ensino em microbiologia

### **Submissão de um artigo**

Um artigo para ser submetido ao *Brazilian Journal of Microbiology* não deve ter sido previamente publicado (exceto na forma de resumo) nem ter sido submetido em qualquer outro periódico.

As instruções para submissão *online* estão disponíveis neste site.

Todos os autores serão informados por mensagem eletrônica a respeito da submissão eletrônica. A mensagem também questionará se todos os autores concordam com a submissão. Ausência de resposta será considerada como concordância à submissão.

A responsabilidade pela exatidão do conteúdo do manuscrito é de inteira responsabilidade dos autores.

### **Publicação do artigo**

Os artigos são aceitos para publicação após terem sido revisados de forma crítica por pelo menos dois revisores, indicados pelos editores.

As sugestões e recomendações dos revisores e editores serão encaminhadas eletronicamente ao autor para correspondência, o qual deverá retornar o artigo revisado aos editores na data estipulada, pelo sistema *online*. O autor para correspondência deverá explicar ou comentar as alterações introduzidas no texto.

O autor para correspondência receberá uma mensagem eletrônica sempre que houver alteração do *status* do artigo.

Não é necessário ser associado da Sociedade Brasileira de Microbiologia para submeter artigo para publicação.

Todos os cientistas, brasileiros ou estrangeiros, são convidados a submeterem artigos para publicação.

### **ÉTICA**

O(s) autor(es) devem informar, no texto do artigo, se o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de sua Instituição, em consoante à Declaração de Helsinki (<http://www.ufrgs.br/HCPA/gppg/helsin5.htm>). Nos trabalhos experimentais que envolvem animais, as normas estabelecidas no "*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*" (*Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D. C. 1996*), e os "*Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal* (COBEA - <http://www.cobea.org.br/index.php?pg=Principios%20eticos>) devem ser respeitados.

### **Preparo do artigo**

O Artigo deverá ser submetido como **um único arquivo em WORD**. Este arquivo deve conter texto, figuras, tabelas, etc. Serão aceitas apenas submissões de artigos redigidos em inglês.

Para **artigos originais**, o arquivo em **WORD** deve conter:

- Título
- Autores e Afiliações
- Resumo (200 a 250 palavras)
- 3 a 5 palavras-chave
- Introdução
- Material e Métodos
- Resultados
- Discussões
- Agradecimentos (opcional)
- Referências

Para **artigos de revisão**, o arquivo em **WORD** deve conter:

- Título
- Título resumido
- Resumo (200 palavras)
- 3 a 5 palavras-chave
- Texto
- Agradecimentos (opcional)
- Referências

Os artigos devem ser digitados com espaço duplo, margens de 3 cm e numerados seqüencialmente. As linhas das páginas do artigo devem ser numeradas. Os editores recomendam que antes da submissão o artigo seja lido de forma crítica por alguém fluente em língua inglesa. Os artigos escritos com inglês de baixa qualidade não serão aceitos.

*Artigos Originais e Artigos de revisão* deverão conter até, no máximo, 20 páginas, incluindo referências tabelas e figuras.

Abreviaturas e símbolos devem seguir as recomendações da IUPAC-IUB *Comission on Biochemical Nomenclature, Amendments and Corrections*). As unidades de medida devem seguir o Sistema Internacional de Unidades.

## **SUGESTÕES DE REVISORES**

Os autores poderão enviar sugestões de revisores para avaliação dos artigos. Deverão constar as seguintes informações: nome; e.mail e Instituição de Origem.

## **USO DE EXTRATOS DE PLANTAS EM EXPERIMENTOS MICROBIOLÓGICOS**

Artigos que apresentarem estudos com extratos de plantas, ou extratos de outras substâncias complexas, serão aceitos apenas após identificação dos compostos.

Os autores podem precisar, ou desejar, fazer uso de serviços de edição de línguas para melhorar a qualidade do inglês e, portanto, a qualidade final do texto. Este tipo de assistência é recomendada antes mesmo da submissão dos artigos ou, no caso de solicitação pelos revisores, antes do artigo ser definitivamente aceito para publicação. Autores que não são nativos de língua inglesa que desejem assistência na escrita em inglês podem considerar as seguintes sugestões:

- American Journal Experts: <http://www.JournalExperts.com?rcode=BSM1>
- Joanne Roberts: [joroberts@uol.com.br](mailto:joroberts@uol.com.br)
- ATO Traduções: [www.atotraining.com.br](http://www.atotraining.com.br)
- Prof. Julian D. Gross, University of Oxford, Oxford Biomedical Editors: [julian.gross@pharm.ox.ac.uk](mailto:julian.gross@pharm.ox.ac.uk)
- BioMed Proofreading LLC: <http://www.biomedproofreading.com>

## ORGANIZAÇÃO

O **Título** deve ser conciso, não conter abreviações e indicar claramente o tema do artigo.

Expressões como "Effects of", "Influence of", "Study on", etc, devem ser evitadas. Os cuidados na escolha das palavras do título são importantes, pois são usadas em sistemas eletrônicos de busca.

O **Resumo** deve resumir o conteúdo básico do artigo. Ele deve ser representativo do texto. Não deve conter referências, tabelas nem abreviações pouco usuais. São de grande importância, pois serão lidos por muitas pessoas que não têm acesso ao artigo completo.

A **Introdução** deve oferecer informações que possibilitem ao leitor avaliar adequadamente os resultados apresentados no artigo sem que obrigatoriamente tenha que recorrer à literatura corrente. No entanto, a introdução não deve ser uma extensa revisão de literatura. Deve informar claramente as justificativas e os objetivos do artigo.

Os **Materiais e Métodos** devem proporcionar informações suficientes para que outros pesquisadores possam reproduzir o trabalho. A repetição de detalhes de procedimentos que já tenham sido publicados em outros artigos deve ser evitada. Se um método publicado for modificado, tais modificações devem estar claras no artigo. Fontes de reagentes, meios de cultura e equipamentos (empresa, cidade, estado e País) devem ser mencionadas no texto. Nomes que são marcas registradas devem ser claramente indicados. Subtítulos podem deixar este tópico mais fácil de ler e entender.

Os **Resultados** devem, por meio de texto, tabela e/ou figuras dar os resultados dos experimentos. Se o item **Discussão** for incluído, evite interpretações extensas dos resultados, pois isto deverá ser feito na discussão. Se os **Resultados e Discussões** forem redigidos concomitantemente, então os resultados devem ser discutidos no local mais apropriado do texto. Tabelas e figuras devem ser

numeradas em algarismos arábicos. Todas as tabelas e figuras devem ser mencionadas no texto.

O local aproximado das tabelas e figuras no texto deve ser indicado.

O item **Discussão** deve discutir os resultados em função da literatura citada.

As **Referências** devem ser redigidas em ordem alfabética e começar pelo último nome do primeiro autor. Todos os autores devem ser citados. As citações no texto devem ser escritas pelo último nome do primeiro autor, seguido pelo ano de publicação. Como exemplo, tem-se: "... *while Silva and Pereira (1987) observed that resistance depended on soil density*" ou "*It was observed that resistance depended on soil density (Silva and Pereira, 1987).*" Para a citação de dois ou mais artigos do mesmo autor, liste em ordem cronológica sendo que os anos devem ser separados por vírgula (exemplo: Freire-Maia et al., 1966a, 1966b, 2000; Hene 2010; Padonou et al., 2012). Os nomes dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o *BIOSIS*. Todas as referências incluídas na lista final devem ter sido citadas no texto e todas as referências mencionadas no texto devem aparecer na lista final.

Exemplos:

- a. **Artigos de Periódicos**  
Brito DVD, Oliveira EJ, Darini ALC, Abdalla VOS, Gontijo-Filho PP (2006) Outbreaks associated to bloodstream infections with *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp in premature neonates in a university hospital from Brazil. *Braz J Microbiol*37:101-107.
- b. **Artigos ou Capítulos de Livro**  
Franco BDGM, Landgraf M, Destro MT, Gelli DS, (2003) Foodborne diseases in Southern South America. *In*: Miliotis, M.D., Bier, J.W.(eds). *International Handbook of Foodborne Pathogens*. Marcel Dekker, New York, USA, 733-743.
- c. **Livros**  
Montville TJ, Matthews KR (2005) *Food Microbiology - an introduction*. ASM Press, Washington, D.C.
- d. **Patentes**  
Hussong RV, Marth EH, Vakaleris DG. January 1964. Manufacture of cottage cheese. U.S. Pat. 3, 117, 870.
- e. **Teses e Dissertações**  
Santos MVB (2005) O papel dos anticorpos contra os componentes da parede celular de *Paracoccidioides brasiliensis* na evolução da doença experimental. São Paulo, Brasil, 110p. (M.Sc. Dissertation. Instituto de Ciências Biomédicas. USP).
- f. **Comunicações em Eventos (Simpósios, Conferências, etc)**  
Silveira TS, Martins JL, Abreu FA, Rosado AS, Lins UGC (2005) Ecology of magnetotactic multicellular organisms in microcosms. XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos, SP, p. 272.
- g. **Publicações na Web**  
Abdullah MAF, Valaitis AP, Dean DH (2006) Identification of a *Bacillus thuringiensis* Cry11 Ba toxin-binding aminopeptidase from the mosquito *Anopheles quadrimaculatus*. *BMC*

*Biochemistry*. <http://www.biomedcentral.com/1471-2091/7/16>

h. **Webpage**

U.S. Food and Drug Administration. 2006. Enjoying Homemade Ice Cream without the Risk of *Salmonella* Infection. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fs-eggs5.html>. Accessed 26 May 2006.

As citações do tipo "personal communication" ou "unpublished data" devem ser evitadas, embora se reconheçam que, eventualmente, elas possam ser usadas. Nestes casos, elas devem ser citadas no texto e não na lista final de referências. As referências que consistem de artigos que foram "aceitos para publicação" ou "no prelo" são aceitáveis. No entanto, as referências dos artigos que são "submetidos" ou "em preparação" não são aceitas.

**AGRADECIMENTOS:** Esta seção é opcional. Ela reconhece a assistência financeira e pessoal recebida para execução do trabalho.

**TABELAS:** devem ser inseridas no texto de acordo com que são citadas e numeradas seqüencialmente por algarismos arábicos. O título deve ser colocado acima da tabela e deve ser curto, porém representativo, com descrição completa da informação contida na tabela. Cabeçalhos e rodapés devem ser concisos, com colunas e linhas cuidadosamente centralizadas. Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada. ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image\\_quality\\_table.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html))

**FIGURAS:** devem ser inseridas no texto de acordo com que são citadas e numeradas seqüencialmente por algarismos arábicos. Os dados que foram apresentados em tabelas não devem ser repetidos na forma de figuras. As legendas devem ser colocadas abaixo das figuras. Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada. ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image\\_quality\\_table.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html))

**FOTOGRAFIAS:** Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada. ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image\\_quality\\_table.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html))

### **Conflitos de Interesses**

É política do periódico *Brazilian Journal of Microbiology* que qualquer pessoa envolvida no processo de publicação (autores, revisores, membros do corpo editorial e assistentes) deve estar isenta de conflitos de interesses que possam influenciar negativamente o parecer, a objetividade e a lealdade a seus autores. O BJM reconhece que qualquer conflito de interesse detectado deve ser prontamente comunicado e rapidamente resolvido. Conflitos de interesses em publicações podem ser definidos como condições nas quais um indivíduo possui conflito ou competição de interesses que podem resultar em decisões editoriais tendenciosas. Os conflitos de interesses podem ser potenciais, percebidos ou factuais. Considerações pessoais, políticas, financeiras, acadêmicas ou religiosas podem

afetar a objetividade de diferentes formas.

### **DIREITOS AUTORAIS**

Os autores dos manuscritos aprovados deverão encaminhar para *BJM* (Fax: 55 11-3037-7095; [bjm@sbmicrobiologia.org.br](mailto:bjm@sbmicrobiologia.org.br)), previamente à publicação, a declaração de transferência de direitos autorais, assinada por todos os co-autores (ver formulário abaixo) ou por pelo menos um dos autores que concorda em informar os outros autores.

#### **Transferência de "Direitos Autorais"**

"O(s) autor(es) abaixo assinado(s) afirmam que o artigo é original, que não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros, que não foi enviado para publicação em nenhuma outra revista e que não foi publicado anteriormente. O(s) autor(es) confirma(m) que a versão final do manuscrito foi revisada e aprovada por ele(s). Todos os manuscritos publicados tornam-se propriedade permanente do *Brazilian Journal of Microbiology* e não podem ser publicados sem o consentimento por escrito de seus Editores."

## 5. CONCLUSÃO

Com o presente estudo conclui-se que há incidência de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina causando infecções relacionadas à assistência à saúde carregando SCCmec característicos dentro do Grupo Hospitalar Conceição (GHC) de Porto Alegre, RS, Brasil, sendo eles tipo I, II e III caracterizados como HA-MRSA. Com isso, a tipagem molecular de SCCmec e a correlação com a fonte da infecção, sendo ela hospitalar ou comunitária, ainda podem ser ferramentas úteis para a determinação da epidemiologia das infecções.

Constatou-se uma mudança na incidência de tipos de SCCmec. O presente estudo relatou que a maioria dos isolados clínicos analisados apresentavam SCCmec tipo I, diferente de relatos na literatura com estudos envolvendo hospitais gerais também da cidade de Porto Alegre, onde a incidência estava relacionada ao tipo III de SCCmec. Essa mudança pode estar relacionada com a transferência genética de elementos móveis que combinados formam o *Staphylococcal cassette chromosome mec*.

Podemos observar que isolados caracterizados como CA-MRSA não estão causando infecções de forma significativa dentro do ambiente hospitalar, onde há baixa incidência de isolados carregando tipos de SCCmec específicos.

Com isso, conclui-se que as infecções ainda devem ter seu agente infeccioso identificado o mais rápido possível, visto que os tipos de maior incidência são caracterizados como multirresistentes, para escolha terapêutica adequada, evitando gastos desnecessários por parte do hospital, disseminação do microrganismo no meio e morte do paciente decorrente da falha dos processos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Winn W Jr, Allen S, Janda W, Koneman, E, Procop, G, Schreckenberger, P, Woods G. Diagnóstico Microbiológico. 6ª 39P. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2008. 617-632.
2. Sobhy N, Aly F, Kader OAE, Ghazal A, Elbaradei A. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from skin and soft tissue infections (in a sample of Egyptian population): analysis of *mec* gene and staphylococcal cassette chromosome. Braz J Infect Dis. 2012; 16(5):426–431.
3. Rodríguez EA, Correa MM, Ospina S, Atehortú SL, Jiménez JN. Differences in epidemiological and molecular characteristics of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* (MSSA-MRSA) in children from a university hospital and day care centers. Plos One. 2014; 9(7).
4. Ocampo AM, Vélez LA, Robledo J, Jiménez JN. Cambios a 39P largo 39PA 39empo em 39P distribución de 39PA complejos de clones dominantes de *Staphylococcus aureus* resistente a 39P metilina ver Medellín, Colombia. Biomédica. 2014; 34(1): 34-40.
5. Kahsay, A, Mihret, A, Abebe, T, Andualem, T. Isolation and antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* in patients with surgical site infection at Debre Markos Referral Hospital, Amhara Region, Ethiopia. Archives of Public Health. 2014; 72:16.
6. Valsesia G, Rossi M, Bertschy S, Pfyffer GE. Emergence of SCC*mec* Type IV and SCC*mec* Type V Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the Pantón-Valentine leukocidin genes in a large academic teaching hospital in central Switzerland: external invaders or persisting circulators? Jour Clin Microb. 2010; 48(3):720–727.

7. Kleeman KT, Bannermann TL, Kloss WE. Species distribution of coagulase-negative *staphylococcal* isolates at a community hospital and implications for selection of *staphylococcal* identification procedures. J Clin Microbiol. 1993; 31(5): 1318-21.
8. Mohammadi S, Sekawi Z, Monjezi A, Maleki M, Soroush S, Sadeghifard N, Pakzad I, Jalilian FA, Emaneini M, Asadollahi K, Pourahamad F, Zarrilli R, Taharikalani M. Emergence of SCC*mec* type III with variable antimicrobial resistance profiles and *spa* types among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from healthcare- and community-acquired infections in the west of Iran. Intern J Infect Dis. 2014; 25: 152–158.
9. Sobhya N, Alyb F, Abd O, Kaderb E, Ghazalb A, Elbaradeic A. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from skin and soft tissue infections (in a sample of Egyptian population): analysis of *mec* gene and staphylococcal cassette chromosome. Braz J Infect Dis. 2012; 16(5):426–431.
10. Alvarez-Uria G, Reddy R. Prevalence and antibiotic susceptibility of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a rural area of India: is MRSA replacing methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a community? ISRN Dermatol. 2012; 2012:5.
11. Porto JP, Santos RO, Gontijo PP, Ribas RM. Active surveillance to determine the impact of methicillin resistance on mortality in patients with bacteremia and influences of the use of antibiotics on the development of MRSA infection. Rev Soc Bras Med Trop. 2013; 46(6):713-718.
12. Klein EY, Sun L, Smith DL, Laxminarayan R. The changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States: a national observational study. Am J Epidemiol. 2013;177(7):666–674
13. Chen X, Wang W, Han L, Liu Y, Zhang H, Tang J, Liu Q, Huangfu Y, Ni Y. Epidemiological and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infection in Shanghai, 2009-2011. Plos One. 2013; 8(9).

14. Maree CL, Daum RS, Boyle-Vavra S, Matayoshi K, Miller LG. Community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing healthcare associated infections. *Emerg Infect Dis*. 2007; 13(2).
15. Martins A,b, Ribolia DFM, Pereira VC, Cunha MLRS. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a Brazilian university hospital. *Braz J Infect Dis*. 2014; 18(3): 331–335.
16. Sharma Y, Jain S, Singh H, Govil V. *Staphylococcus aureus*: screening for nasal carriers in a community setting with special reference to MRSA. *Scientifica*. 2014.
17. Wang J, Wang J, Chen S, Chen Y, Chang S. Distribution of staphylococcal cassette chromosome *mec* types and correlation with comorbidity and infection type in patients with MRSA bacteremia. *Plos One*. 2010; 5(3).
18. Almeida, GCM, Santos, MM, Lima, NGM, Cidral, TA, Melo, MCN, Lima, KC. Prevalence and factors associated with wound colonization by *Staphylococcus spp.* And *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients in inland northeastern Brazil: a cross-sectional study. *BCM Infectious Disease*. 2014; 14:328.
19. Miyahara HS, Helito CP, Oliva GB, Aita PC, Croci AT, Vicente JRN. Clinical and epidemiological characteristics of septic arthritis of the hip, 2006 to 2012, a seven-year review. *CLINICS*. 2014; 69(7):464-468.
20. Leite GB. Análise de portadores assintomáticos de *Staphylococcus aureus* no hospital universitário de Brasília [dissertação]. Brasília (DF): Universidade de Brasília; 2008.
21. Müller R. Pesquisa de anticorpos anti-PBP2a em pacientes colonizados por *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina (MRSA) [dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Instituto Oswaldo Cruz; 2009.

22. Marquez-Ortiz RA, Álvarez-Olmos MI, Pérez JAE, Leal AL, Castro BE, Mariño AC, Barrero ER, Mujica SC, Gaines S, Vanegas N. USA300-related methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone is the predominant cause of community and hospital MRSA infections in Colombian children. *Internl J Infect Dis.* 2014; 25: 88–93.
23. Figueiredo AMS, Ferreira FA. The multifaceted resources and microevolution of the successful human and animal pathogen methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014; 109(3): 265-278.
24. Souza FC. Caracterização fenotípica e genotípica de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina isolados na cidade de Natal/RN [dissertação]. Natal (RN): Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2009.
25. Mendes J. Resistência antibiótica no *Staphylococcus aureus*: da investigação básica à prática clínica. *Ver Port Med Int.* 2010; 17(1).
26. Sun DD, Ma XX, Hua J, Tian Y, Pang L, Shang H, Cui LZ. Epidemiological and molecular characterization of community and hospital acquired *Staphylococcus aureus* strains prevailing in Shenyang, Northeastern China. *Braz J Infect Dis.* 2013; 17(6): 682–690.
27. Reiter KC. Distribuição dos SCCmec tipos I, II, III, IV em *Staphylococcus aureus* meticilina-resistente isolados de pacientes do Hospital de Clínicas de Porto Alegre [dissertação]. Porto Alegre (RS): Univerdidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009.
28. International Working Group on the Staphylococcal Cassette Chromosome elements [internet]. Disponível em <http://www.sccmec.org>.
29. Souza CSM. *Staphylococcus aureus*: resistência aos antimicrobianos, fatores de virulência e tipagem de MRSA pelas técnicas de MLST e 42PA typing [dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2014.

30. Asghar AH. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary care hospitals. Pak J Med Sci. 2014; 30(4): 698-702.
31. Pacheco RL. Avaliação da disseminação de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina em Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas [dissertação]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2008.
32. Kraushaar B, Fetsch A. First description of PVL-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wild boar meat. Intern Jo Food Microbiol. 2014; 186: 68–73.
33. Shrestha B, Singh W, Raj SV, Pokhrel BM, Mohapatra TM. High prevalence of Panton-Valentine Leukocidin (PVL) genes in nosocomial-acquired *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary care hospitals in Nepal. BioMed Res Intern. 2014.
34. Nichol KA, Adam HJ, Roscoe DL, Golding GR, Lagacé-Wiens PRS, Hoban DJ, Zhanel GG. Changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canada. J Antimicrob Chemother. 2013; 68(1):47–55.
35. Dulon M, Peters C, Schablon A, Nienhaus A. MRSA carriage among healthcare workers in non-outbreak settings in Europe and the United States: a systematic review. BMC Infect Dis. 2014; 14:363.
36. Caboclo RMF, Cavalcante FS, Iorio NLP, Schuenck RP, Olendzki AN, Felix MJ, Chamon RC, Santos KRN. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Rio de Janeiro hospitals: Dissemination of the USA400/ST1 and USA800/ST5 SCCmec type IV and USA100/ST5 SCCmec type II lineages in a public institution and polyclonal presence in a private one. Americ J Infect Contr. 2013; 4:21-26.
37. Cavalcante FS, Schuenck RP, Ferreira DC, da Costa CR, Nouér AS, dos Santos KRN. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*: spread of specific

lineages among patients in different wards at a Brazilian teaching hospital. *Journ Hosp Infect.* 2014; 86:151-154.

38. Vandenesch F, Naimi T, Enrigh MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME, Etienne J. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9 (8): 978-84.

39. Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD, Grubb WB, Bell JM, O'Brien FG, Coombs GW, Pearman JW, Tenover FC, Kapi M, Tiensasitorn C, Ito T, Hiramatsu K. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. *J Clin Microbiol.* 2002; 40 (11): 4289-49.

40. Wisplinghoff H, Rosato AE, Enright MC, Noto M, Craig W, Archer GL. Related clones containing SCCmec types IV predominate among clinically significant *Staphylococcus epidermidis* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47 (11): 3574-9.

41. Liu YD, Wang H, Du N, et al. Molecular evidence for spread of two major methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones with a unique geographic distribution in Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 512–518.

42. Fattom AI, Horwith G, Fuller S, Propst M, Naso R. Development of *StaphVax*, a polysaccharide conjugate vaccine against *S. aureus* infection: from the bench to phase III clinical trials. *Vaccine.* 2004; 22(7): 880-887.

43. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* 2003; 111(9): 1265-1273.

44. Vijayamohan, N, Nair, SP. A study of the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dermatology inpatients. *Indian Derm Online J.* 2014; 5:441-445.

45. Chen CJ, Huang YC. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20:605.
46. Santos HB, Machado DP, Camey SA, Kuchenbecker RS, Barth AL, Wagner MW. Prevalence and acquisition of MRSA amongst patients admitted to a tertiary-care hospital in Brazil. *BMC Infect Dis*. 2010; 10: 328.
47. Becker AP, Santos O, Castrucci FM, Dias C, d'Azevedo PA. (2012) First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Cordobes/Chilean clone involved in nosocomial infections in Brazil. *Epidemiol Infect* 140(8): 1372-5.
48. Perez LRR, d'Azevedo PA. (2008) Clonal types and antimicrobial resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitals in south Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 50(3): 135-7.
49. Reiter KC, Machado ABM, Freitas AL, Barth AL. (2010) High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with SCCmec type III in cystic fibrosis patients in southern, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 43(4): 377-81.
50. Strandén AM, Frei R, Adler H, Fluckiger U, Widmer AF. Emergence of SCCmec type IV as the most common type of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital. *Infection*. 2009; 37(1):44-48.
51. Makgotlho PE, Kock MM, Hoosen A, Lekalakala R, Omar S, Dove M, Ehlers MM. Molecular identification and genotyping of MRSA isolates. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2009; 57(2):104-15.
52. Vindel A, Cuevas O, Cercenado E, Marcos C, Bautista V, Castellares C, Trincado P, Boquete T, Pérez-Vázquez M, Marín M, Bouza E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: molecular epidemiology and utility of different typing methods. *J Clin Microbiol*. 2009; 47(6): 1620-7.

53. Makgotlho PE, Kock MM, Hoosen A, Lekalakala R, Omar S, Dove M, Ehlers MM. Molecular identification and genotyping of MRSA isolates. FEMS Immunol Med Microbiol. 2009; Jul 22. [Epub ahead of print]

54. Palavecino E. Clinical, epidemiologic, and laboratory aspects of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Methods Mol Biol. 2014;1085:1-24.

## 6. ANEXOS

## 6. 1 ANEXO A

## PARECERES DE APROVAÇÃO DO PROJETO

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Caracterização molecular de isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) provenientes de um hospital do Sul do Brasil.

**Pesquisador:** Pedro Alves d'Azevedo

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 21294013.0.0000.5345

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 441.882

**Data da Relatoria:** 17/10/2013

**Apresentação do Projeto:**

Caracterização molecular de isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) provenientes de um hospital do Sul do Brasil trata-se de um projeto de mestrado da UFCSPA.

**Objetivo da Pesquisa:**

Realizar uma caracterização molecular de isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) provenientes de um hospital do Sul do Brasil.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Com o estudo, poderá ser realizada uma caracterização molecular de isolados de *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA), a fim de enriquecer um conhecimento epidemiológico já existente sobre as infecções e os microrganismos causadores das mesmas. A caracterização molecular juntamente com um estudo epidemiológico bem direcionado irá proporcionar um melhor conhecimento sobre as cepas da amostragem, fornecendo uma posterior relação com o sítio da infecção e gravidade da mesma.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa pertinente e viável, apenas recomendo a inclusão do número da aprovação do CEP do HNSC previamente obtido.

**Endereço:** Rua Sarmento Leite, 245

**Bairro:**

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

De acordo.

**Recomendações:**

Aprovação

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

..

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

De acordo com o parecer do relator.

PORTO ALEGRE, 31 de Outubro de 2013

---

**Assinador por:**  
**José Geraldo Vernet Taborda**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Sarmento Leite, 245

**Bairro:**

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br



HOSPITAL M. S. DA CONCEIÇÃO S.A.  
R. Passagem Faria, 596  
CEP 91260-200 - Porto Alegre - RS  
Fone: 3337 2200  
CNPJ: 02.047.774/0001-20

HOSPITAL DA CRIANÇA CONCEIÇÃO  
Unidade Pediátrica do Hospital Santa  
Cecília da Conceição S.A.

HOSPITAL CRISTO RECEPTOR S.A.  
R. da Glorinha, Facho, 20  
CEP 91040-000, Porto Alegre - RS  
Fone: 3337 4150  
CNPJ: 02.107.024/0001-76

HOSPITAL FEMINA S.A.  
R. Moscardini, 17  
CEP 91400-001 - Porto Alegre - RS  
Fone: 3314 3000  
CNPJ: 02.693.944/0001-01

Venúsculos de Manutenção de Saúde - Decreto nº 99.244/99

## COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP/GHC

O Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo Hospitalar Conceição (CEP/GHC), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS desde 31/10/1997, pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0001105) e pelo FWA - Federalwide Assurance (FWA 00000378), em reunião ordinária analisou o seguinte projeto de pesquisa:

**Projeto:** 09-065

**Versão do Projeto:**

**Versão do TCLE:**

### Pesquisadores:

CÍCERO ARMÍDIO GOMES DIAS  
RENAN RANGEL BONAMIGO  
VLADIMIR VICENTE CANTARELLI  
MARIA DO CARMO FONTOURA PEREIRA  
PEDRO ALVES D'AZEVEDO

**Título:** Caracterização fenotípica e genotípica de amostras de *Staphylococcus aureus* metilicina-resistente (MRSA) isoladas em hospitais e unidades ambulatoriais da região metropolitana de Porto Alegre, RS, Brasil.

Documentação: Aprovados  
Aspectos Metodológicos: Aprovados  
Aspectos Éticos: Aprovados

**Parecer final:** Este projeto, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, por estar de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde, obteve o parecer de APROVADO.

**Considerações Finais:** Toda e qualquer alteração do projeto, deverá ser comunicada imediatamente ao CEP/GHC, bem como os Eventos Adversos ocorridos. O Pesquisador compromete-se a encaminhar dentro dos prazos estipulados, o(s) relatório(s) parcial(ais) e final ao Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo Hospitalar Conceição e ao Centro de Resultado onde a pesquisa for desenvolvida.

Porto Alegre, 24 de agosto de 2009.

  
Vito Giancarlo dos Santos  
Coordenador do CEP

## 6. 3 ANEXO B

### ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO COM TEMA RELACIONADO AO PROJETO

Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção - ISSN 2238-3360 Qualis B3

#### ARTIGOS REVISÃO

#### Novas cefalosporinas como alternativa no tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)

Bruna Gerardon Batista<sup>1</sup>  
Janine Rauber de Melo<sup>1</sup>  
Jaíne Stypulsowski Bruschi<sup>1</sup>  
Pedro Alves d'Azevedo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

SUBMISSÃO: 10/06/14  
ACEITE: 07/11/14  
bruna\_batista@hotmail.com

#### RESUMO

**Justificativa e Objetivos:** O aumento na incidência de microrganismos multirresistentes aliado ao surgimento de novos mecanismos de resistência bacteriana tem dificultado o tratamento de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). *Staphylococcus aureus* tem apresentado limitações terapêuticas devido a grande prevalência de isolados resistentes à meticilina (MRSA). A constante evolução dos microrganismos em relação à suscetibilidade aos antimicrobianos disponíveis e a rápida disseminação dos mesmos exige a introdução de novas drogas na prática clínica a fim de controlar infecções causadas por microrganismos multirresistentes. Nos últimos anos, desenvolveu-se um número limitado de novos antimicrobianos, dentre eles estão as cefalosporinas de 5ª geração, ceftarolina e ceftobiprole, que têm se mostrado eficazes contra isolados de MRSA. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão na literatura em relação às características e evolução da resistência em *S. aureus*, bem como uso de novos antimicrobianos na prática clínica, caracterizando as principais vantagens e limitações das atuais alternativas terapêuticas. **Métodos:** Foi realizada uma revisão bibliográfica em base de dados virtuais, utilizando como descritores cefalosporinas. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e terapia combinada. A busca foi realizada nas bases de dados MEDLINE e Scielo com trabalhos publicados até o mês de julho de 2014. **Resultados:** Foram selecionados 9 artigos científicos publicados em periódicos nacionais e internacionais para análise. **Conclusão:** Conclui-se que as cefalosporinas de 5ª geração constituem uma opção terapêutica viável devido aos resultados satisfatórios revelados em diferentes estudos frente ao

tratamento de infecções, cabendo a cada hospital, determinar e adaptar na sua prática clínica, o uso das novas opções de tratamento de infecções causadas por MRSA.

**Palavras chave:** Cefalosporinas. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. Terapia Combinada.

#### SUMMARY

**Background and Objectives:** The increased incidence of multiresistant microorganisms allied with the emergence of new mechanisms of bacterial resistance has led treatment-related health care infections. *Staphylococcus aureus* has shown therapeutic limitations due to high prevalence of isolates resistant to methicillin (MRSA). The constant evolution of microorganisms in relation to antimicrobial susceptibility and rapid dissemination requires the introduction of new drugs in clinical practice to control infections caused by multiresistant microorganisms. In recent years, it has developed a limited number of new antimicrobial agents, among them are the 5th generation cephalosporins, ceftobiprole and ceftarolina, which have proven effective against MRSA isolates. The aim of this study was to review the literature about the characteristics and evolution of resistance in *S. aureus*, and about new antimicrobials used in clinical practice, featuring the main advantages and limitations of current treatment options. **Methods:** A literature review was performed in the MEDLINE and Scielo with papers published until the year 2014 survey was grouped according to the thematic focus following: cephalosporins, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and combined modality therapy. **Results:** 9 papers published in national and international journals were selected for analysis. **Conclusion:** It is concluded that cephalosporins 5th generation is a viable therapeutic option due to the satisfactory results reported in different studies to the treatment of infections, with each hospital, determine and adapt in their clinical practice, the use of new options treatment of MRSA infections.

**Keywords:** Cephalosporins. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Combined Modality Therapy.

Editor 2014-11-07 11:48	REV EPIDEMIOL CONTROL INFECT <a href="http://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia">http://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia</a>	<a href="#">EXCLUIR</a>
	Assunto: [Rev Epidemiol CI] Decisão editorial	
	Bruna Gerardon Batista,	
	Foi tomada uma decisão sobre o artigo submetido à revista Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, "Novas cefalosporinas como alternativa no tratamento de infecções por <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA)".	
	A decisão é: aceito	
	Em breve entraremos em contato para a revisão da edição de texto.	
	Lia Gonçalves Possuelo Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC <a href="mailto:liapossuelo@unisc.br">liapossuelo@unisc.br</a> Prof. Lia Gonçalves Possuelo, PhD Prof. Marcelo Carneiro, MD, MSC Prof. Eliane Carlosso Krummenauer, RN Prof. Andréia Rosane Moura Valim, PhD	
	<hr/> REV EPIDEMIOL CONTROL INFECT <a href="http://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia">http://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia</a>	

## 6. 4 ANEXO C

## APRESENTAÇÃO DE RESUMOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS

ANAIS :: SIMC 2014

Resumo: 218-1

## Poster (Painel)

218-1 **Caracterização do cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*) em isolados de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) de Porto Alegre, RS**

Autores: Batista, B.G. (UFCSPA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE) ; Ghisi, K.T. (UFCSPA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE) ; Paim, T.C. (UFCSPA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE) ; d'Azevedo, P.A. (UFCSPA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE)

## Resumo

**Introdução:** O cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*) é um elemento genético móvel, no qual está inserido o gene *mecA*, mecanismo responsável pela resistência a meticilina em isolados de *Staphylococcus spp.* A tipagem do SCC*mec* é uma ferramenta epidemiológica útil, que diferencia *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) oriundos de ambiente hospitalar (HA-MRSA) dos de origem comunitária (CA-MRSA). Neste estudo avaliamos a prevalência dos tipos de SCC*mec* em isolados de MRSA provenientes do Grupo Hospitalar Conceição de Porto Alegre- RS, no primeiro semestre de 2012. **Materiais e Métodos:** Foram analisados 81 isolados. Para determinação dos tipos de SCC*mec* realizou-se uma PCR *multiplex* abrangendo os tipos I, II, III, IVa, IVb, IVc, IVd e V, segundo Zhang e colaboradores, 2005. **Resultados e Discussão:** Todos isolados apresentaram o gene *mecA*, sendo 24 isolados do tipo I (30%), 10 do tipo II (12%), 21 com tipo III (26%), tipo IVa apresentou 4 isolados (5%), tipo IVc 12 isolados (15%), 1 isolado tipo I e IVc (1%) e 1 com tipo IVc e III (1%) simultaneamente, isolados não tipáveis corresponderam 8 (10%) isolados. O fato de isolados não tipáveis serem encontrados está relacionado à presença de outros tipo de SCC*mec*, evidenciando a necessidade de análise abrangendo os demais tipos relatados até o momento (VI ao XI). Dados obtidos revelam que tipos de SCC*mec* HA-MRSA são prevalentes em infecções relacionadas a assistência à saúde, onde o tipo I foi o mais encontrado, seguido pelo tipo III. O tipo IVc, apresentou quantidade significativa de isolados e está relacionado a infecções causadas por CA-MRSA. Trabalho realizado recentemente pelo nosso grupo com amostras de outras instituições de Porto Alegre em 2010, encontrou um predomínio do tipo III (60%), seguido pelo tipo I (36,7%), mostrando uma similaridade nos perfis epidemiológicos. Os demais tipos de SCC*mec* relacionados a CA-MRSA não foram encontrado pois pacientes que tiveram culturas positivas para MRSA estavam internados por tempo superior a 48 horas. **Conclusão:** Com o predomínio de tipos de SCC*mec* HA-MRSA, subentende-se que a infecção do paciente ocorreu dentro do ambiente hospitalar, reforçando a necessidade da higienização de mãos e o extremo cuidado na assistência ao paciente, evitando surtos decorrente da disseminação das bactérias dentro do ambiente de assistência à saúde.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus* resistente a metic. Prevalência de SCC*mec*, Tipagem genotípica

4º Simpósio Internacional de Microbiologia Clínica, Sociedade Brasileira de  
Microbiologia, João Pessoa, Paraíba, Brasil

23 - 24 de outubro de 2014

**Poster (Painel)****218-2 Formação de biofilme e detecção de genes de adesão em *Staphylococcus aureus* isolados de hemoculturas**

Autores: Stypulkowski, J.B. (UFCSPA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE) ; Batista, B.G. (UFCSPA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE) ; Caeirão, J. (UFCSPA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE) ; d'Azevedo, P.A. (UFCSPA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE)

**Resumo**

Uma das características do *Staphylococcus aureus* é a sua capacidade de formar biofilme em substâncias bióticas ou abióticas, se tomando um fator importante na patogênese de bacteremia associada a cateter e infecções relacionadas ao uso de outros dispositivos médicos. *S. aureus* pode expressar mais de 21 diferentes tipos de proteínas de superfície (MSCRAMMs -*Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*) que parecem ser responsáveis pela adesão inicial das células bacterianas tanto nos tecidos nativos como em biomateriais contribuindo para a sua patogenicidade e formação de biofilme. Entre essas proteínas estão a proteína ligadora de elastina (*ebpS*), proteína ligadora de laminina (*eno*), proteína ligadora de fibronectina (*finbA* e *finbB*) e proteína ligadora de fibrinogênio (*fib*). O presente estudo teve como objetivo detectar a capacidade de formação de biofilme e verificar a presença dos genes *ebpS*, *eno*, *fib*, *finbA* e *finbB*, entre 78 isolados de *Staphylococcus aureus* provenientes de amostras de sangue. Os isolados foram recuperados de pacientes internados no Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre no período de janeiro a junho de 2012. A formação de biofilme foi avaliada conforme técnica adaptada de Stepanovic et al (2007), e a pesquisa de cada gene de adesão foi realizada por uma reação de PCR simplex. Houve formação de biofilme em 83% (65/78) dos isolados, sendo a maioria deles de forte intensidade. Os genes *ebpS*, *eno*, *fib* e *finbA* foram detectados na maioria dos isolados bacterianos, sendo que o gene da proteína ligadora de laminina (*eno*) apresentou maior prevalência (87%) entre eles. O gene *finbB* esteve presente em apenas 8 dos 78 isolados, confirmando sua baixa ocorrência em *S. aureus*. O estudo evidenciou a alta capacidade de formação de biofilme entre isolados de *S. aureus*, observando a alta frequência dos genes codificadores de proteínas de adesão nos mesmos. Considerando que esses genes foram detectados tanto em isolados formadores como em não formadores de biofilme, pode-se afirmar que a presença deles não é determinante para o desenvolvimento desse mecanismo de virulência e, da mesma forma, a ausência desses genes não impede a formação do biofilme. Embora esse processo de formação não esteja totalmente claro, sabe-se que a adesão tem um papel fundamental nesse processo, sendo de extrema importância pesquisas relacionadas a este mecanismo.

**Palavras-chave:** Formação de biofilme, Genes de adesão de *Staphylococcus aureus*, Detecção da formação de biofilme



113th General Meeting | American Society for Microbiology  
May 18–21, 2013 | Denver, Colorado

Presentation Abstract

Abstract Title: SCCmec Profile Changes Of Coagulase Negative Staphylococci: A Ten Year Period In A Hospital From Porto Alegre, Brazil

Author Block: C. F. Oliveira<sup>1</sup>, M. P. Mott<sup>1</sup>, B. G. Batista<sup>1</sup>, K. C. Reiter<sup>1</sup>, A. Rieger<sup>2</sup>, P. A. d'Azevedo<sup>1</sup>,  
<sup>1</sup>UFCSA, Porto Alegre, BRAZIL, <sup>2</sup>UNISC, Santa Cruz do Sul, BRAZIL.

Presentation Number: 1382

Poster Board Number: 1382

Keywords: SCCmec, Coagulase negative Staphylococcus

Abstract: Coagulase negative staphylococci (CoNS) are opportunistic pathogens that can serve as reservoir of mobile genetic elements, like staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec), which could be transferred to *S. aureus*. Along with the molecular typing of individual species, characterization of SCCmec in CoNS can provide useful information to understand the evolution of these elements and the epidemiology of these microorganisms. In this study, we analyze 275 CoNS isolated from nosocomial infections in a hospital from Porto Alegre, Brazil during 2002-2004 and 2010-2011. The main objective was to compare the SCCmec profile of these isolates considering the period of isolation: 192 isolates were collected during 2002-2004 and 83 isolates during 2010-2011. Chromosomal DNA was extracted with the QIAamp DNA mini kit (Qiagen). SCCmec types I, II, III, IVa, IVb, IVc, IVd and V were determined by multiplex PCR. SCCmec presence was also correlated with the presence of multidrug-resistance (MDR) with Chi-Square Test. The most prevalent SCCmec types amplified were types II, III, and V in *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* and *S. hominis*. SCCmec types IVb and IVc found in isolates from 2010-2011 were absent in the 2002-2004 period. The presence of SCCmec type I had a significant increase since 2002 until 2011 ( $p < 0.05$ ). We also found significant association between presence of a single SCCmec and MDR in *S. epidermidis* and *S. haemolyticus* ( $p = 0.004$ ), but not for co-existed SCCmec in *S. epidermidis* ( $p = 0.506$ ). These results confirm the high genetic diversity among CoNS species and the importance of constant monitoring of these mobile genetic elements in these microorganisms.

113th General Meeting, American Society for Microbiology, Denver, Colorado  
18 - 21 de maio de 2013

## ■ 13A

### FIRST REPORT OF DAPTOMYCIN-NONSUSCEPTIBLE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* ISOLATED IN BRAZIL

R. Soares, B. Batista, A. Fedi, K. Reiter, J. Caierão, P. A. d'Azevedo;  
UFCSPA, Porto Alegre, BRAZIL.

Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREfm) is a pathogen frequently associated to a multiresistant phenotype, leading to challenges considering therapeutical choices. The lipopeptide antibiotic daptomycin became an alternative therapy for VRE infections, however, cases of daptomycin-nonsusceptible enterococci had been reported, and little is known about the mechanisms of resistance of this microorganism to this antimicrobial. The objective of this work was to determine the susceptibility profile of VREfm to antimicrobial agents and the genetic relationship among them. From September 2012 to August 2013, consecutive Enterococci recovered from infections or surveillance sites were obtained from patients attended at general Hospital in Porto Alegre, Brazil, as part of an epidemiological surveillance study. The species identification and the presence of vanA gene were determined by PCR. For antibiotic susceptibility testing it was used the disk diffusion method and Minimum Inhibitory Concentration. Pulsed-field gel

spp. However, there are no studies related to the molecular detection of integrons among *Shigella* isolates in Costa Rica. **Results:** Thirty *Shigella* isolates (*S. sonnei* 17% and *S. flexneri* 83%) were obtained from stools of individuals with diarrhea. 97% (29/30) were resistant to at least one antibiotic. Most of them were resistant to amoxicillin (83%) and ampicillin (73%), followed by tetracycline (70%), cotrimoxazole (40%), chloramphenicol (40%) and gentamicin (7%). Class 1 integrase (*intI1*) was detected in 100% and class 2 integrase in 90% of isolates, the *bla*OXA genetic cassette in 87% and *bla*TEM in one isolate (7%). **Conclusion:** We are reporting for the first time the presence of class 1 and class 2 integrons and beta-lactamase genetic cassettes, *bla*OXA and *bla*TEM, among multidrug resistance *Shigella* isolates in Costa Rica. The importance of integrons in the acquisition of resistance genes, and therefore emergence of multidrug resistance strains, is a global problem that requires urgent actions.

4th Conference on Enterococci, American Society for Microbiology,  
Cartagena, Colômbia  
5 - 7 de março de 2014

# 40<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Análises Clínicas


16 a 19 de junho de 2013 | Costão do Santinho - Florianópolis - SC

## ÁREA RESERVADA À REDAÇÃO DO TEMA LIVRE

Deteção da resistência induzível à clindamicina em isolados catarinenses de  
*Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA)  
SILVEIRA, A.C.O.; BATISTA, B.G.; OLIVEIRA, C.F.; CAIERÃO, J.; FAZEVEDO, P.A.

**Introdução:** A clindamicina é um dos antimicrobianos mais utilizados no combate às infecções causadas por *Staphylococcus aureus*. Apresenta como mecanismo de ação a inibição da síntese proteica. Os principais mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias podem ser a alteração de seu sítio ribossômico pela metilação (gene *ermA*), bomba de efluxo (genes *msrA* e *meI*) e inativação enzimática (gene *hlu*). Tal fenótipo é descrito como MLSB, pelas características de resistência cruzadas aos macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas B, podendo ser constitutivo ou induzível. Do ponto de vista laboratorial, a resistência induzível pode ser detectada através de um teste de disco aproximação, chamado D teste. Se ocorrer um achatamento do halo da clindamicina quando posicionado a 20 mm do disco de eritromicina detectamos um teste positivo e o micro-organismo deve ser reportado como resistente à clindamicina. O estudo objetiva estimar a prevalência da resistência induzível à clindamicina em *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), através do método do D teste e PCR. **Materiais e métodos:** Foram utilizados 122 MRSA isolados de hospitais em Blumenau e Florianópolis, Santa Catarina. Os testes de susceptibilidade foram realizados de acordo com as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Para confirmação genotípica da resistência foi realizado PCR multiplex para os genes *ermA* e *ermC*. **Resultados:** Dos 122 isolados, 23 (18,9%) apresentaram D teste positivo, todos confirmados pelos testes moleculares, sendo que 20 apresentaram gene *ermA* e 3 gene *ermC*. Dos 12 (9,8%) isolados com resistência à eritromicina e susceptibilidade à clindamicina com D teste negativo nenhum teve reação de PCR positiva. Os 56 (45,9%) isolados com resistência à ambos os antimicrobianos, cujo D teste não é aplicável, foram considerados com mecanismo de resistência constitutivo e não foram testados pelo PCR. Apenas 31 (25,4%) apresentaram sensibilidade a ambos os antibióticos. **Conclusão:** Os isolados catarinenses demonstraram maior prevalência do gene *ermA* do que o gene *ermC*. O D teste mostrou-se um teste capaz de detectar todos os isolados com resistência induzível à clindamicina, demonstrando ser um teste de fácil execução, baixo custo e com uma relevância clínica fundamental, pois deninui os riscos de antibioticoterapia inapropriada.

### Realização e Promoção

 SBAC - Sociedade Brasileira de Análises Clínicas  
Rua Ypiranga, 44 - Florianópolis | Tel: (51) 2187-0000  
sac@sbac.org.br | www.sbac.org.br

### Organização e Comercialização de Estandes

 K Eventos  
Tel: (51) 3295-2818  
www.k@k.com.br

### Patrocinadores Master

 Roche  sysmex

### Apoio

 Câmara  
Federal de  
Florianópolis

### Montagem da Exposição

 Associação  
de Montagem  
de Exposições

### Agência de Turismo Oficial

 Felliniturismo  
EVENTOS

40<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, Sociedade Brasileira de  
Análises Clínicas, Costão do Santinho, Florianópolis, Brasil  
16 - 19 de junho de 2013

**Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* with hetero-resistance to vancomycin (hVISA) in southern Brazil**

SILVEIRA, A.C.O.<sup>1,2</sup>; CUNHA, G.R.<sup>1</sup>; BATISTA, B.G.<sup>1</sup>; CAIERÃO, J.<sup>1</sup>; d'AZEVEDO, P.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Cocos Gram Positivos, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – RS

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas, Fundação Universidade Regional de Blumenau – SC

**Objectives:** To determine the epidemiological and molecular characteristics of twelve *Staphylococcus aureus* isolates presenting hetero-resistance to vancomycin (hVISA) in laboratories of two cities of Santa Catarina, southern Brazil. **Methods:** Epidemiological data including the city of isolation, health institution, and date of isolation were considered, as well as the associated clinical specimen. For molecular characterization, we analyzed the types of staphylococcal cassette chromosome (SCC*mec*), the presence of the *erm* gene (in cases of inducible clindamycin resistance profiles) and the genomic diversity of isolates, using pulsed field gel electrophoresis (PFGE). All isolates were characterized as methicillin-resistant (MRSA) through the use of cefoxitin disk, according to the recommendations of CLSI. The twelve isolates of *S. aureus* were previously confirmed as presenting hVISA using the technique of population analysis profile (PAP), and were collected between November 2009 and November 2012. The criteria used to consider an isolate as community was the isolation of the bacteria in the first 48 hours of hospitalization. For determination of SCC*mec*, multiplex PCR was performed, identifying sub-types I to V. The search for *erm* gene was made by simplex PCR. **Results:** Among the isolates, nine were recovered in Florianópolis and three in Blumenau; eleven were associated to the hospital environment and one was isolated in community (Florianópolis). The anatomical sites of isolation included tracheal aspirate (n=5), osteomyelitis (n=4), surgical wound (n=1), skin lesion (n=1), and blood (n=1). Two isolates presented type I SCC*mec*, seven had type II, and two were positive for type III. It should be noted that one isolate presented two type of SCC*mec* (I and II) and two isolates were not typeable. The isolate from the community had type II SCC*mec*. Only three isolates showed inducible clindamycin resistance, all carrying gene *ermA*. Considering genetic variability, three clones were detected: the main one (clone A) composed of four isolates and two other clones (B and C) with two isolates each. In clone A, two isolates presented identical band patterns and they were related to the same hospital, with an interval of fifty-seven days between the isolation of both. The other

isolates of this clone showed no epidemiological link between them, since they were isolated in different hospitals and had no temporal relationship. The other two clones showed no detectable epidemiological relationship. **Conclusion:** Contrary to expectations (type IV *SCCmec*), the community-associated *S. aureus* showed type II *SCCmec*. hVISA recovered in Santa Catarina State, from 2009 to 2012 had, in general, heterogeneous genomic patterns by PFGE results, which is in accordance to the fact that these isolates had little or no epidemiological relationship among them. Fitness required to maintain hVISA phenotype may explain the absence of clonal spread.

Financial support: CNPq, CAPES, FAPERGS

24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases,  
European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease, Barcelona, Spain

10 - 13 de maio de 2014