

MARCELO JENNÉ MIMICA

Caracterização molecular de isolados pediátricos de *Staphylococcus aureus*

**Tese apresentada ao curso de
Pós-Graduação da Faculdade de
Ciências Médicas da Santa Casa
de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Medicina**

SÃO PAULO

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARCELO JENNÉ MIMICA

Caracterização molecular de isolados pediátricos de *Staphylococcus aureus*

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina

Área de concentração: Pediatria

Orientador: Prof. Dr. Eitan N. Berezin

SÃO PAULO

2009

JUSTIFICATIVA

Os *Staphylococcus aureus* pertencem à família *Micrococcaceae*, e são bactérias imóveis, não-esporuladas, anaeróbias facultativas, e tipicamente não-encapsuladas ou com formação limitada de cápsula polissacarídica. Seu tamanho varia de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro. São cocos Gram-positivos catalase-positivos e coagulase-positivos, podendo ocorrer em forma de “cachos de uvas”, pares, tríades, tétrades ou em cadeias curtas (Bannerman, 2003).

Os microorganismos desta espécie são ubíquos, estando amplamente distribuídos no meio ambiente e podendo ser agentes colonizantes ou patogênicos em humanos ou outros animais. Quando são parte da microbiota normal estão presentes principalmente nas cavidades nasais anteriores e ocasionalmente na pele (Sattler, Correa, 2004). Em média 30% da população geral é colonizada e em indivíduos com doenças crônicas esta taxa pode ultrapassar 50% (Kluytmans et al., 1997; Bannerman, 2003; Sattler, Correa, 2004; Kuehnert et al., 2006). Em 6% até 24% dos recém-nascidos com 3 a 4 dias de vida já pode haver colonização (Maranan et al., 1997).

A transmissão da bactéria pode ocorrer por múltiplas vias, incluindo contato com indivíduos infectados, contato com indivíduos colonizados, propagação pelo ar, ou ainda contato com fômites contaminados (Sattler, Correa, 2004).

Fatores relacionados à própria bactéria e também ao hospedeiro irão determinar se o *S. aureus* será apenas um agente colonizante ou causará infecção (Bannerman, 2003).

1. Infecções causadas pelo *S. aureus* em pediatria

O *S. aureus* pode causar várias infecções localizadas ou invasivas em pacientes pediátricos, além de síndromes mediadas por toxinas estafilocócicas (Sattler, Correa, 2004; Trabulsi et al., 2004; American Academy of Pediatrics, 2003). Entre as infecções localizadas estão: hordéolo, furúnculo, celulite, parotidite, linfadenite e infecções de feridas (cirúrgicas ou traumáticas). O *S. aureus* está também relacionado com infecções de corpos estranhos e dispositivos, como cateteres vasculares, cateteres de derivação ventricular, marcapassos, cateteres peritonais, próteses ortopédicas, que podem complicar com bacteriemia. A bacteriemia, por sua vez, pode ser complicada por sepse, endocardite, pericardite, pneumonia, empiema pleural, abscessos viscerais ou musculares, artrite, osteomielite, tromboflebite, meningite, ou outros focos de infecção (Sattler, Correa, 2004; Trabulsi et al., 2004; American Academy of Pediatrics, 2003).

As infecções por *S. aureus* tendem a ocorrer de forma metastática, com coleções supurativas nos locais supra-citados servindo como potenciais focos para infecções recorrentes (Lowy, 1998).

São três as síndromes mediadas por toxinas: síndrome do choque tóxico estafilocócica, síndrome da pele escaldada e intoxicação alimentar (American Academy of Pediatrics, 2003; Lowy, 1998).

2. Evolução da resistência do *S. aureus* aos antimicrobianos

Antes da introdução dos antimicrobianos na prática clínica, a letalidade da bacteriemia por *S. aureus* ultrapassava 80 %, e mais de 70 % dos pacientes desenvolviam infecções metastáticas (Lowy, 2003). No início da década de 40, com a

introdução da penicilina, o prognóstico destes pacientes melhorou bastante (Maranan et al., 1997; Lowy, 2003). No entanto, já em 1942 foram relatadas cepas de *S. aureus* resistentes à penicilina (Maranan et al., 1997). A resistência à penicilina foi reconhecida e cresceu antes em cepas hospitalares e depois na comunidade, sendo que no final dos anos 60 as taxas de resistência tanto hospitalares como comunitárias chegavam a 90 e 70 % respectivamente em alguns lugares da Europa (Jessen et al., 1969). Atualmente, a imensa maioria dos *S. aureus* que causam infecção ou simplesmente colonizam adultos saudáveis são resistentes à penicilina (Oliveira et al., 2002).

Este padrão de evolução da resistência, primeiro nos hospitais e depois na comunidade é hoje um padrão conhecido que recorre a cada introdução e uso de um antimicrobiano na prática clínica. E a evolução da resistência à oxacilina guarda grande similaridade com este padrão (Chambers, 2001) (TABELA 1).

TABELA 1. Tempo necessário para taxas de resistência do *Staphylococcus aureus* à Penicilina, Vancomicina e Meticilina atingirem 25% nos hospitais e na comunidade.

	Ano de introdução na prática clínica	Anos até primeiro relato de resistência	Anos até taxa de 25% de resistência em hospitais	Anos até taxa de 25% de resistência na comunidade
Antimicrobiano				
Penicilina	1941	1-2	6	15-20
Vancomicina	1956	40	?	?
Meticilina	1961	<1	25-30	40-50

(projeção)

Adaptado de Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*?

Emerg Infect Dis 2001.

Em 1959 o isolamento do ácido 6-amino-penicilânico tornou possível a produção de penicilinas semi-sintéticas. Modificações na cadeia deste precursor da penicilina resultaram em proteção do anel beta-lactâmico contra a ação hidrolítica das betalactamases. Os primeiros destes agentes antimicrobianos disponíveis para uso clínico foram a oxacilina e a meticilina, que solucionaram temporariamente o problema causado pela resistência do *S. aureus* à penicilina (Maranan et al., 1997). Porém, o uso destes agentes foi rapidamente seguido pelo surgimento de cepas resistentes já em 1961 (Maranan et al., 1997). Desde então as taxas de resistência do *S. aureus* à oxacilina aumentaram vertiginosamente (Maranan et al., 1997; Belkum, Verbrugh, 2001; Chambers, 2001; Lowy, 2003). No início os MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) estavam restritos a centros médicos de referência e hospitais terciários, mas logo se alastraram para serviços e centros de saúde menores. Estudos de vigilância recentes feitos em várias partes do mundo mostram prevalência variável de MRSA, dependendo do país, e principalmente do hospital ou setor do hospital estudados. Em alguns locais, taxas acima de 80% já foram relatadas (Oliveira et al., 2002; Farr, 2004). No entanto, o MRSA não pode mais ser considerado um patógeno relacionado exclusivamente à infecções relacionadas aos serviços de saúde. A partir dos anos 90 começaram os relatos de infecções por MRSA associado à comunidade (CA-MRSA: community-associated methicillin- resistant *Staphylococcus aureus*) em pacientes sem fatores de risco identificáveis para aquisição de MRSA, ou seja, não tinham contato frequente, direto ou indireto com serviço de saúde que pudesse explicar a infecção por MRSA associado aos cuidados em saúde (HCA-MRSA: health-care associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) (Chambers, 2001; Herold et al., 1998; CDC, 1999; Gorak et al., 1999). Os CA-MRSA já foram descritos em várias regiões do globo, entre elas o Brasil (Ribeiro et al., 2005).

Para os HCA-MRSA, a opção têm sido, nas últimas décadas, os glicopeptídeos, principalmente a vancomicina. Mas, em 1996 foi identificado no Japão o primeiro isolado de *S. aureus* com susceptibilidade reduzida à vancomicina (VISA: vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*) (Hiramatsu et al., 1997). Desde então diversos relatos de isolados de VISA ocorreram no mundo, inclusive no Brasil (Marlowe et al., 2001; Oliveira et al, 2001). Em junho de 2002 o primeiro *S. aureus* com resistência plena à vancomicina (VRSA: vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*) foi identificado em Michigan-EUA (Chang et al., 2003). Apenas dois meses depois um segundo VRSA foi isolado na Pennsylvania-EUA (CDC, 2002) e uma terceira cepa de VRSA foi descrita em Nova Iorque-EUA depois de mais um ano e meio (CDC, 2004). O quarto, quinto e sexto isolados de VRSA foram também isolados em Michigan, o último em janeiro de 2006 (Somsel, 2006).

3. Resistência do *S. aureus* à oxacilina: Mecanismos e determinantes genéticos

A resistência à oxacilina no *S. aureus* requer a presença de um gene localizado no cromossomo, o gene *mecA* (Lowy, 2003). Este gene é responsável pela síntese das PBP2a (*penicillin-binding protein 2a*, também chamada PBP2'), que substitui as outras PBPs na membrana, e que têm baixa afinidade não só pela oxacilina como também pelos outros antimicrobianos beta-lactâmicos (Schito, 2006). O *mecA* faz parte de uma ilha genômica de resistência chamada SCCmec (staphylococcal cassette chromosome *mec*). Estas ilhas podem conter também outros genes de resistência a antimicrobianos (Lowy, 2003).

A resistência fenotípica á oxacilina é extremamente variável, e depende da expressão do gene *mecA*. Este variabilidade é reconhecida como heterorresistência fenotípica, e consiste em que, de toda população bacteriana heterogeneamente resistente todas as células carregam o gene *mecA*, marcador genotípico da resistência, porém nem todas expressam fenotipicamente a resistência da mesma forma (Maranan et al., 1997). Cada cepa de MRSA tem um perfil característico da proporção de células que crescem na presença de concentrações específica de oxacilina e de diferentes condições ambientais (Maranan et al., 1997; Lowy, 2003).

Outros mecanismos (mais raros) de resistência à oxacilina que podem ocorrer incluem a hiper-produção de beta-lactamases e a produção de PBPs habituais (que não a PBP2a), porém com graus variados de afinidade pelos beta-lactâmicos (Tomasz et al., 1989; McDougal et al., 1986; Hackbarth et al., 1995) . Estes isolados que hiper-producem beta-lactamases ou com PBPs modificadas em geral apresentam resistência fenotípica limítrofe ou de baixo grau (Maranan et al., 1997).

4. Epidemiologia molecular

O advento de diversas técnicas moleculares nos últimos anos permitiu obter informações importantes sobre o processo evolutivo que levou à emergência de alguns poucos clones pandêmicos de MRSA. Uma estratégia eficiente para esta caracterização é o uso de uma ou mais de algumas técnicas com diferentes características discriminativas: 1)padrão de macrorestrição do DNA cromossômico após digestão por enzima de restrição e separação dos fragmentos por eletroforese de campos alternados (PFGE). 2)Detecção de polimorfismos no gene *mecA* com sonda específica para o gene após digestão por enzima de restrição. 3)Detecção dos padrões de inserção do

transponson Tn554 (Oliveira et al., 2002). Além disso, duas recentes técnicas baseadas em sequenciamento, MLST (*multilocus-sequencing typing*) e tipagem do *spaA*, mostram-se bastante promissoras (Shopsin et al., 1999; Enright et al., 2000).

No entanto, o método que ainda serve como padrão para a avaliação da similaridade genética entre cepas de *S. aureus* continua sendo o PFGE. O estudo, sobretudo através de PFGE, de isolados coletados em estudos de vigilância, investigações de surtos e coleções armazenadas provenientes principalmente da América Latina, Europa e Estados Unidos, definiu cinco principais clones disseminados nestas áreas. Estes respondem por 68% de todos os isolados, o que demonstra que são eficientes em causar infecção, persistir, e se alastrar de um sítio geográfico a outro. As denominações destes cinco clones de MRSA (Ibélico, Brasileiro, Húngaro, Nova Iorque/Japão e Pediátrico) refletem a área geográfica em que foram originalmente identificados e/ou indicam alguma propriedade epidemiológica peculiar (Oliveira et al., 2002). O clone Brasileiro, por exemplo, foi descrito no Brasil em 1992 e depois em Portugal, Argentina, Uruguai, Chile e República Checa. Em estudo envolvendo isolados de 11 hospitais brasileiros de 1992 a 1998, 89% dos isolados pertenciam ao clone Brasileiro, sendo que os 11% restantes não eram pertencentes a nenhum outro dos cinco clones pandêmicos (Oliveira et al., 2001).

A tipagem do SCC*mec* também tem sido uma técnica molecular utilizada de forma crescente para caracterização e entendimento da epidemiologia molecular dos MRSA. Várias técnicas de tipagem já foram descritas, incluindo algumas através de PCR multiplex, que permitem a tipagem do SCC*mec* em uma só reação de PCR (Oliveira et al. 2002; Zhang et al., 2005).

5. CA-MRSA vs. HCA-MRSA

Existem algumas diferenças genéticas, clínicas e epidemiológicas entre os CA-MRSA e os *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina associados aos cuidados em saúde (HCA-MRSA). Enquanto os HCA-MRSA carregam *SCCmec* dos tipos I a III, os CA-MRSA estão mais associados aos tipos IV, V e VI (Ito et al., 2004; Coombs et al., 2006). Os tipos IV, V e VI são elementos genéticos menores e mais móveis que os outros. Estes tipos carregam menos genes determinantes de resistência que os do tipo I, II e III. Assim os CA-MRSA characteristicamente mostram resistência apenas aos betalactâmicos e a poucas outras classes de antimicrobianos, enquanto os HCA-MRSA tendem a ser multirresistentes (Naimi et al., 2003; Fridkin et al., 2005).

Além disso, existe um fator de virulência que tem sido identificado em grande parte dos CA-MRSA, que é a leucocidina de Panton-Valentine (PVL). A presença dos genes determinantes da produção desta leucocidina no *Staphylococcus aureus* está relacionada à infecções muito graves e com alta letalidade, incluindo pneumonia necrotizante e, principalmente, infecções de pele e partes moles (Lina et al., 1999; Gillet et al., 2002; Vandenesch et al., 2003; Chambers, 2005). Atualmente existe discussão na literatura sobre se a PVL é realmente um fator de virulência importante nas infecções estafilocócicas ou apenas um marcador da presença de outros fatores de virulência (Labandeira-Rey et al. 2007; Bubeck Wardenburg et al. 2008).

É importante lembrar que recentemente tem se relatado os típicos clones associados à comunidade (*SCCmec* tipo IV) como causa de infecções associadas aos cuidados em saúde (Trindade et al., 2005; Gonzalez et al., 2006).

**Healthcare Associated PVL negative Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*
with SCCmec type IV**

Marcelo J. Mimica, M.D.¹, Eitan N. Berezin, M.D.¹, Rozane B. Carvalho, Ph.D²

1. Department of Pediatrics, Section of Pediatric Infectious Diseases, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, Brazil
2. Department of Pathology, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, Brazil

Corresponding author: Marcelo J. Mimica

Phone: 55-11-63938496

E-mail address: mjmimica@hotmail.com

Address: Rua Cesário Motta Júnior, 112, Departamento de Pediatria, quinto andar, Vila Buarque, São Paulo, Brazil

MJM received financial support from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Artigo aceito no formato “Carta ao editor”

Pediatric Infectious Diseases Journal

Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) infections are on the rise in many regions of the world. In Brazil, CA-MRSA is still uncommon and MRSA are mostly associated with hospital acquired infections¹. We have observed a shift in the antimicrobial susceptibility patterns of MRSA isolates at our hospital from conventional multi-resistance to resistance primarily against erythromycin.

The aim of our study was to characterize recent MRSA isolates from pediatric patients at our institution for the staphylococcal cassette chromosome (SCC) *mec* types and the presence of the PVL genes, and to evaluate the genetic relatedness of isolates by PFGE. We hypothesized that the hospital acquired isolates would have SCC*mec* and PFGE types usually associated with community acquired isolates, thus indicating an influx of CA isolates into our hospital.

Methicillin-resistant *S. aureus* isolates were identified and collected between May 2004 and June 2007. Antimicrobial susceptibility tests were performed by disk-diffusion, according to Clinical and Laboratory Standards

Institute (CLSI) recommendations². Isolates were classified as CA or HCA based on published criteria³. This study was approved by the Ethics Committee at Santa Casa de São Paulo. The isolates were tested for the presence of the PVL genes (*lukF-PV* and *lukS-PV*), *SCCmec* was typed by PCR and PFGE was performed, as previously described⁴.

Twenty nine non-consecutive pediatric isolates of methicillin-resistant *S. aureus* from 29 hospitalized patients were studied. Infections included bloodstream (BSI) (6), septic arthritis (2), pneumonia (4), and abscesses (2). Eight isolates were obtained from catheter tips of patients with signs and symptoms consistent with BSI, however peripheral blood cultures were not available for analysis. Seven isolates were from surveillance cultures.

One of the 29 isolates had *SCCmec* type I, three type II, 13 type III, 11 type IV and one was non-typeable. No single source was associated with a particular *SCCmec* type or PFGE pattern. *SCCmec* type IV MRSA isolates were found among both clinical and surveillance cultures. PFGE comparisons grouped 8 of the 11 *SCCmec* type IV isolates in one cluster of related banding patterns. Nine of 13 *SCCmec* III isolates were related. All other *SCCmec* I-IV isolates had unrelated banding patterns (Figure).

Only 2 of 29 isolates were considered CA. One of these isolates, containing *SCCmec* type IV, was from a previously healthy 26 day old that presented with septic arthritis of the right wrist on admission and the infection was ruled CA. The second CA isolate, with non-typeable *SCCmec*, was obtained from a previously healthy 10 year old girl without HCA risk factors who was

diagnosed with multifocal septic arthritis. In addition, this was the only isolate that carried the PVL genes. All the other 28 isolates were PVL-negative.

The non-typeable *SCCmec* and the *SCCmec* type IV isolates were resistant only to penicillin, oxacillin and erythromycin. They were all D-test negative. All other MRSA isolates were multi-resistant to penicillin, oxacillin, erythromycin chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamycin, trimethoprim-sulfamethoxazole, clindamycin and variably resistant to tetracycline. All isolates were susceptible to vancomycin.

Little is known about the overall burden and the molecular characteristics of CA-MRSA in South America. In Brazil, community acquired MRSA infection rates remain low although CA-MRSA was reported first in 2005¹.

By PFGE, the *SCCmec* III cluster in our study showed relatedness to the ST239 clone, previously identified as nosocomial pathogen in our area⁵. The *SCCmec* IV cluster had PFGE patterns similar, but not identical to, nosocomial bloodstream isolates reported previously in São Paulo⁶. These strains have no resemblance to widespread CA clones such as OSPC or USA300 and contrary to these clones, our *SCCmec* type IV strains were all negative for the PVL genes.

It is intriguing that this strain cluster established itself in the hospital without being associated with wide-spread community-acquired disease as has been observed for *SCCmec* type IV strains elsewhere. A better understanding of the clinical implications, pathogenic and transmission potential of this novel *SCCmec* type IV clone requires evaluation in a larger, prospective study. Comparisons of the Brazilian *SCCmec* type IV isolates to successful

community-acquired *SCCmec* type IV clones may reveal factors that are important for *S. aureus* isolates to successfully be established in the community.

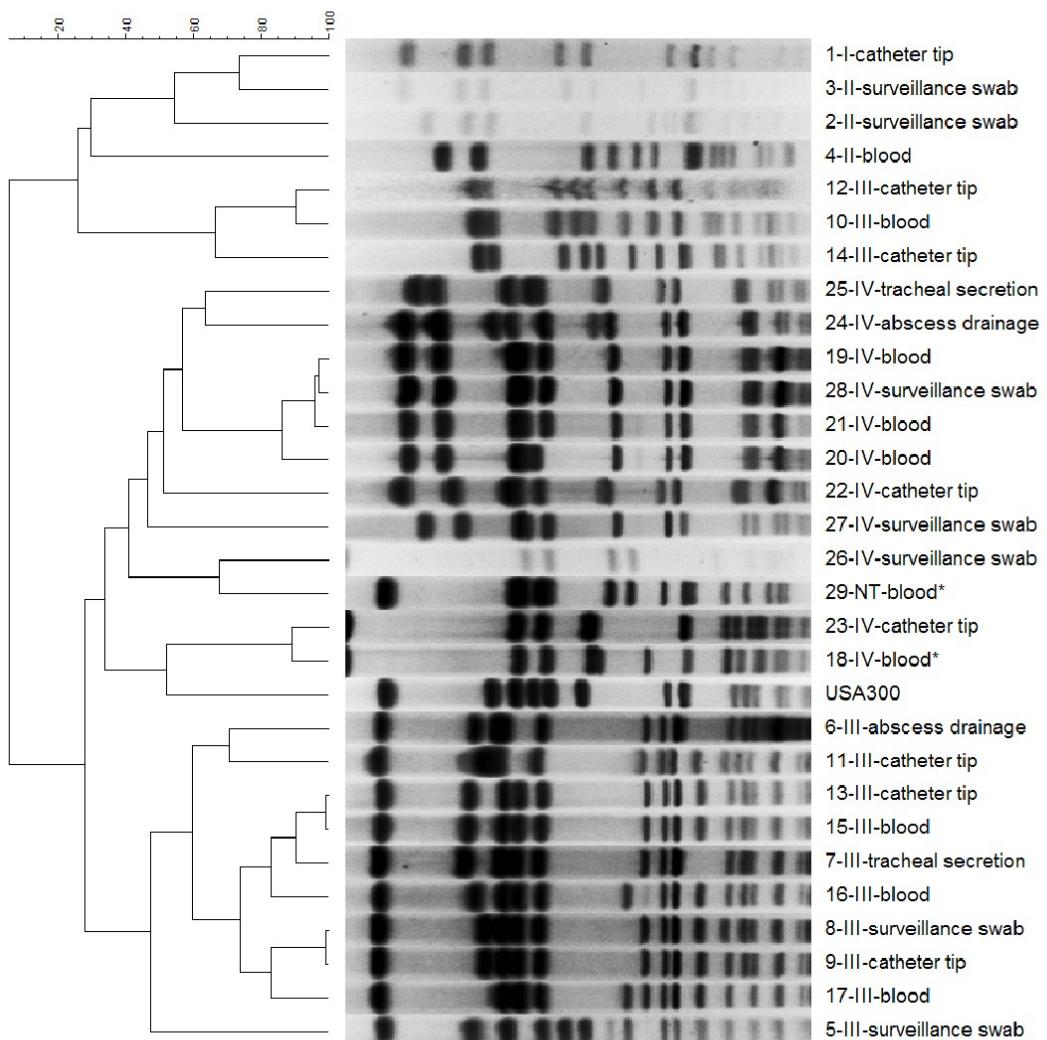
REFERENCES

1. Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. *J.Clin.Microbiol.* 2005;43(4):1985-1988.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 19th informational supplement M100-S19. 2009:Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
3. Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, et al. Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*. 2003;290(22):2976-2984.
4. Hulten KG, Kaplan SL, Gonzalez BE, et al. Three-year surveillance of community onset health care-associated *Staphylococcus aureus* infections in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2006;25(4):349-353.
5. Vivoni AM, Diep BA, de Gouveia Magalhaes AC, et al. Clonal composition of *Staphylococcus aureus* isolates at a Brazilian university hospital: identification of international circulating lineages. *J Clin Microbiol.* 2006;44(5):1686-1691.
6. Trindade PA, Pacheco RL, Costa SF, et al. Prevalence of SCCmec type IV in nosocomial bloodstream isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J.Clin.Microbiol.* 2005;43(7):3435-3437.

ACKNOWLEDGMENTS

The molecular strain typing was performed by MJM during a visiting observership at the Baylor College of Medicine, 2007. The authors wish to thank Kristina G. Hulten, Ph.D., Sheldon L. Kaplan, M.D. and Edward O. Mason, Jr., Ph.D. MJM received financial support from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

FIGURE. PFGE of the 29 isolates.



Legend to Figure

Strains are described by patient number (Arabic number), *SCCmec* type (Roman number), source of isolation. *Community acquired MRSA, NT non-typeable.

SCCmec I-III isolates were multi resistant to penicillin, oxacillin, erythromycin chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, trimetoprim-sulfa, clindamycin and variably resistant to tetracycline. *SCCmec* IV isolates were resistant to penicillin, oxacillin and erythromycin.

SCCmec Type IV, PVL-Negative, Methicillin-Resistant

***Staphylococcus aureus* in Cystic Fibrosis Patients**

Marcelo J. Mimica, M.D.¹, Eitan N. Berezin, M.D.¹, Neiva Damasceno, M.D.², Rozane B. Carvalho, Ph.D³

1. Department of Pediatrics, Section of Pediatric Infectious Diseases, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, Brazil
2. Department of Pediatrics, Section of Pediatric Pulmonology, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, Brazil
3. Department of Pathology, Santa Casa de São Paulo, São Paulo, Brazil

Corresponding author: Marcelo J. Mimica

Phone: 55-11-8175-2258

E-mail address: mjmimica@hotmail.com

Address: Rua Cesário Motta Júnior, 112, Departamento de Pediatria, quinto andar, Vila Buarque, São Paulo, Brazil

Artigo submetido ao Journal of Infection and Chemotherapy

ABSTRACT

Twenty seven *S. aureus* isolates were obtained from cystic fibrosis patients at a tertiary care hospital in Brazil. Nineteen (70.4%) were MSSA and eight (29.6%) MRSA. Of the MRSA isolates, four had *SCCmec* type III and four had *SCCmec* type IV. PVL genes were not detected in any of the MSSA or MRSA isolates. New studies are necessary to evaluate the exact impact of these different MRSA clones in cystic fibrosis patients.

Key words: MRSA; cystic fibrosis; *SCCmec* type IV

INTRODUCTION

Staphylococcus aureus is one of the pathogens associated with chronic lung infection in cystic fibrosis (CF) patients. Since the first case of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) was reported in 1961, there has been a consistent increase in the prevalence of these resistant bacteria both in CF and non-CF patients¹.

Nowadays, in the era of community-acquired MRSA, the CF patients have one more possibility of colonization and infection to be added to the traditional health care-associated MRSA². These community-associated strains usually carry a staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) type IV and also the Panton-Valentine leukocidin codifying genes. The production of this leukocidin by MRSA in cystic fibrosis patients has been associated with invasive lung infections, including lung abscess³.

The aims of our study were to determine the SCC*mec* types colonizing cystic fibrosis patients, to detect the presence of the PVL genes in such isolates, and to evaluate the molecular relatedness of them.

MATERIALS AND METHODS

Our pediatric department has 90 beds and is part of a tertiary university hospital that is a reference service in São Paulo, Brazil. Our hospital has a Cystic Fibrosis Clinic where 110 patients are followed.

During the period from May 2004 to June 2007, respiratory samples were obtained from the patients monthly and cultured in the microbiology laboratory. Antimicrobial susceptibility tests were performed by disk-diffusion, according to CLSI recommendations⁴. Susceptibility to oxacillin was confirmed using oxacillin screening agar plates, with 6 µg of oxacillin and 4% NaCl. We included in the study only one isolate for patient (the first isolate during the study period).

The isolates were tested by PCR for the presence of *lukF-PV* and *lukS-PV*. The SCCmec typing was performed in the MRSA isolates with a Multiplex PCR described by Oliveira et al⁶. The DNA restriction patterns after digestion were visualized by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), performed as previously described⁷ and compared using the GelComparII software (Applied Maths, Kortrijk, Belgium), based on published criteria⁸.

Medical charts were reviewed for any hospitalization during the year previous to *S. aureus* isolation.

RESULTS

During the study period, *S. aureus* was isolated from 27 patients.

From the 27 isolates from these patients, 19 (70.4%) were methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) and eight (29.6%) MRSA. Of the MRSA isolates, four had *SCCmec* type III and four had *SCCmec* type IV. Eight of the 19 patients (42.1%) with MSSA had had at least one hospitalization during the previous year. Of the eight MRSA patients, four (50%), three with *SCCmec* type III and one with type IV, had been hospitalized during the previous year. Three patients with MSSA and three patients with MRSA (two type III and one type IV) had their specimens obtained when they were hospitalized, due to pulmonary exacerbation.

Fifteen of the 19 MSSA (78.9%) patients were chronically colonized with MSSA. The remaining four were intermittently colonized. Regarding the MRSA, six patients (75%) were chronically colonized, including all four patients with *SCCmec* type III. Of the four patients with *SCCmec* type IV, two were chronically colonized, one was colonized intermittently, and one was not previously colonized with *S. aureus*. Although we performed molecular testing only in one isolate per patient, all the patients persistently colonized with MRSA had the other isolates with the same susceptibility pattern of the isolate included in the study.

SCCmec type IV isolates were all resistant only to penicillin, oxacillin and erythromycin, and susceptible to the other antimicrobials tested, including chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamycin, tetracycline, trimetoprim-sulfa, and

clindamycin (the D-test was negative in all *SCCmec* type IV isolates). All the MRSA isolates with *SCCmec* III were multiresistant.

When compared by PFGE (Figure), all four *SCCmec* type IV isolates could be grouped in one cluster of possibly related strains. None of the four type IV isolates was related to some of the circulating *SCCmec* type IV clones, including USA100, USA200, USA300, USA400, USA500, USA700 and USA800. Three of the four *SCCmec* type III isolates were possibly related. The other type III isolate had a unique banding pattern. The MSSA isolates could be grouped in two clusters with related banding patterns, cluster A (n=9) and cluster B (n=3). Five isolates had unique banding patterns and two were non-typeable by PFGE

The PVL genes were not detected in any of the MSSA or MRSA isolates, including those with *SCCmec* type IV. None of the hospitalized patients or patients with a history of hospitalization had an invasive lung infection. All the hospitalizations were due to pulmonary exacerbations.

DISCUSSION

We found that 29.6% of the isolates were MRSA, including four with type III *SCCmec* and four with type IV *SCCmec*. Other authors^{2,3} have also reported *SCCmec* type IV MRSA as a common isolate in cystic fibrosis patients, mirroring what has been happening in both the community and the hospital.

Although there were no significant differences between patients colonized with MRSA and MSSA regarding hospitalizations during the previous year, only one of the four patients with *SCCmec* type IV MRSA had this risk factor, compared with three of the four patients with *SCCmec* type III. This could represent a possible acquisition of the *SCCmec* type IV strains in the community.

There is discussion in the literature about the actual significance of PVL^{9,10}. The presence of PVL genes in MRSA isolated from cystic fibrosis patients has been associated with invasive lung infections³. Interestingly, none of our isolates were PVL-positive. Is it a characteristic of our circulating clones that is not related to severity of pulmonary disease, or that is exactly why none of our patients had invasive pulmonary infection? This will need further evaluation in larger and longer studies in our setting.

In addition, future studies should evaluate with more details the dynamics of the acquisition and transmission of *S. aureus* clones in these patients, and to determine the relationship between these clones and the ones occurring in non-cystic fibrosis patients in the hospital and the community.

REFERENCES

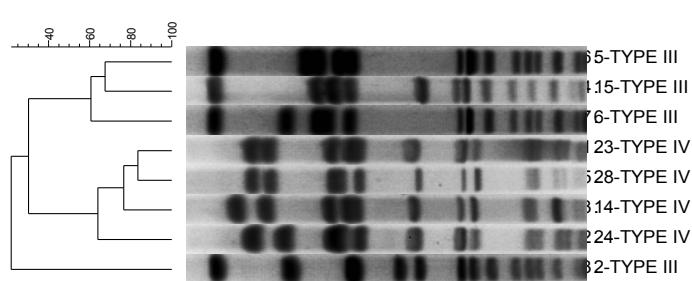
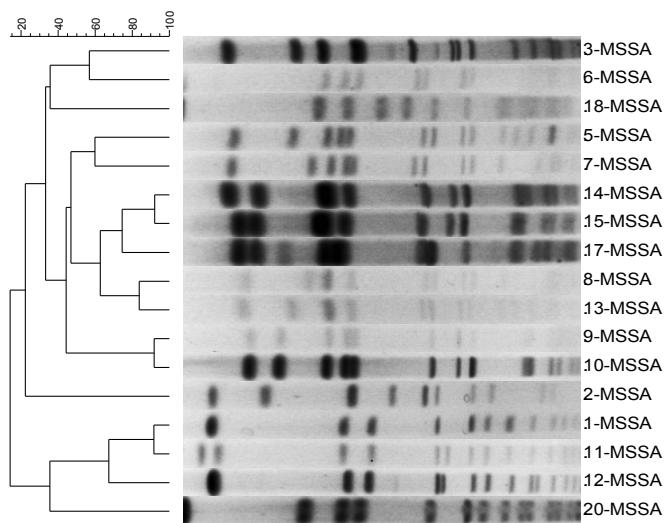
1. Miali LS, McGinley NT, Brownlee KG, Conway SP. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2001;84:160-2.
2. Glikman D, Siegel JD, David MZ, Okoro NM, Boyle-Vavra S, Dowell ML, et al. Complex molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children with cystic fibrosis in the era of epidemic community-associated methicillin-resistant *S aureus*. *Chest* 2008;133:1381-7.
3. Elizur A, Orscheln RC, Ferkol TW, Atkinson JJ, Dunne WM, Buller RS, et al. Panton-Valentine Leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lung infection in patients with cystic fibrosis. *Chest* 2007;131:1718-25.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing, 17th informational supplement. Wayne, PA; CLSI, 2007.
5. Mishaan AM, Mason EO Jr, Martinez-Aguilar G, Hammerman W, Propst JJ, Lupski JR, et al. Emergence of a predominant clone of community-acquired *Staphylococcus aureus* among children in Houston, Texas. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24:201-6.
6. Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2155-61.

7. Hulten KG, Kaplan SL, Gonzalez BE, Hammerman WA, Lamberth LB, Versalovic J, et al. Three-year surveillance of community onset health care-associated *Staphylococcus aureus* infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25:349-53.
8. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2233-9.
9. [Labandeira-Rey M](#), [Couzon F](#), [Boisset S](#), [Brown EL](#), [Bes M](#), [Benito Y](#), et al. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. [Science](#) 2007;315:1130-3.
10. [Bubeck Wardenburg J](#), [Palazzolo-Ballance AM](#), [Otto M](#), [Schneewind O](#), [DeLeo FR](#). Panton-Valentine leukocidin is not a virulence determinant in murine models of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease. [J Infect Dis](#) 2008;198:1166-70.

ACKNOWLEDGMENTS

The molecular strain typing was performed by MJM during a visiting observership at the Baylor College of Medicine, 2007. The authors wish to thank Kristina G. Hulten, Ph.D., Sheldon L. Kaplan, M.D. and Edward O. Mason, Jr., Ph.D. MJM received financial support from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

FIGURE. PFGE of the MSSA and MRSA isolates.



Legend to Figure

Strains are described by patient number (Arabic number) and *SCCmec* type (Roman number), if MRSA.

CONCLUSÕES FINAIS

-Os *Staphylococcus aureus* com SCCmec tipo IV em nosso meio causam colonização e infecção relacionadas sobretudo aos cuidados de saúde, mas também à comunidade.

-Os isolados de *S. aureus* com SCCmec tipo IV por nós identificados diferem dos comumente relatados em outros países quando comparados por PFGE.

-Outra peculiaridade dos nossos isolados com SCCmec tipo IV é a ausência dos genes que codificam a leucocidina de Panton-Valentine.

-São necessários novos estudos, maiores e prospectivos, com o objetivo de estabelecer a real importância clínico-epidemiológica destas diferenças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Academy of Pediatrics. Staphylococcal infections. In: Pickering LK. Red book: 2003 Report of the Committee on Infectious Diseases. 26^a ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2003. p. 561-73.

Bannerman TL. *Staphylococcus, Micrococcus* and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Yolken RH. Manual of clinical microbiology. 8^a ed. Washington (DC): ASM Press; 2003. p. 384-404.

Belkum A, Verbrugh H. 40 years of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. MRSA is here to stay-but it can be controlled [editorial]. Br Med J 2001;323:644-5.

[Bubeck Wardenburg J](#), [Palazzolo-Ballance AM](#), [Otto M](#), [Schneewind O](#), [DeLeo FR](#). Panton-Valentine leukocidin is not a virulence determinant in murine models of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease. [J Infect Dis](#) 2008;198:1166-70.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Four pediatric deaths from community- acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*- Minnesota and North Dakota, 1997-1999. Morb Mortal Wkly Rep 1999;48:707-10.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*-Pennsylvania, 2002. Morb Mortal Wkly Rep 2002;51:902.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*-New York, 2004. Morb Mortal Wkly Rep 2004;53:322-3.

Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerg Infect Dis 2001;7:178-82.

Chambers HF. Community-associated MRSA-resistance and virulence converge. N Engl J Med 2005;352:1485-7.

Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. N Engl J Med 2003;348:1342-7.

Coombs GW, Pearson JC, O'Brien FG, Murray, RJ, Grubb WB, Christiansen KJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones, Western Australia. Emerg Infect Dis 2006;12:241-7.

Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2000;38:1008-15.

Farr BM. Prevention and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Curr Op Infect Dis 2004;17:317-22.

Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, Sanza LT, Como-Sabetti K, Jernigan JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in three communities. N Engl J Med 2005;352:1436-44.

Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet 2002;359:753-9.

Gonzalez BE, Rueda AM, Shelburne SA 3rd, Musher DM, Hamill RJ, Hulten KG. Community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as the cause of healthcare-associated infection. Infect Control Hosp Epidemiol 2006;27:1051-6.

Gorak EJ, Yamada SM, Brown JD. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized adults and children without known risk factors. Clin Infect Dis 1999;29:797-800.

Hackbarth CJ, Kocagoz T, Kocagoz S, Chambers HF. Point mutation in *Staphylococcus aureus* PBP2 gene affect penicillin-binding kinetics and are associated with resistance. Antimicrob Agents Chemother, v. 39, p. 103-6, 1995.

Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Gaskin RE, Boyle-Vavra S, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. JAMA 1998;279:593-8.

Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother 1997;40:135-6.

Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:2637-51.

Jessen O, Rosendal K, Bulow P, Faber V, Eriksen KR. Changing staphylococci and staphylococcal infections: A ten-year study of bacteria and cases of bacteremia. N Engl J Med 1969;281:627-35.

Kluytmans J, Van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev 1997;10:505-20.

Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister SK, Fosheim G, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. J Infect Dis 2006;193:172-9.

[Labandeira-Rey M, Couzon F, Boisset S, Brown EL, Bes M, Benito Y](#), et al. Staphylococcus aureus Panton-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. Science 2007;315:1130-3.

Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gaudchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 1999;29:1128-32.

Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med 1998;339:520-32.

Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest 2003;111:1265-73.

Maranan MC, Moreira B, Boyle-Vavra S, Daum RS. Antimicrobial resistance in Staphylococci: Epidemiology, molecular mechanisms and clinical relevance. Infect Dis Clin N Am 1997;11(4):813-49.

Marlowe EM, Cohen MD, Hindler JF, Ward KW, Bruckner DA. Practical strategies for detecting and confirming vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*: a tertiary-care hospital laboratory's experience. J Clin Microbiol 2001;39:2637-9.

McDougal LK, Thornsberry C. The role of betalactamase in staphylococcal resistance to penicillinase resistant penicillins and cephalosporins. J Clin Microbiol, v. 23, p. 832-9, 1986.

Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, et al. Comparison of community and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. JAMA 2003;290:2976-84.

Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. The evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: identification of two ancestral genetic backgrounds and the associated *mec* elements. Microb Drug Resist 2001;7:349-61.

Oliveira GA, Dell'Aquila AM, Masiero RL, Levy CE, Gomes MS, Cui L, et al. Isolation in Brazil of nosocomial *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. Infect Control Hosp Epidemiol 2001;22:443-8.

Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*. Lancet Infect Dis 2002;2:180-9.

Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:2155-61.

Oliveira DC, Milheirço C, de Lencastre H. Redefining a Structural Variant of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*, SCCmec Type VI. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:3457-59.

Ribeiro A, Dias C, Silva-Carvalho MC, Berquó L, Ferreira FA, Santos RNS, et al. First report of infection with community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in South America. J Clin Microbiol 2005;43:1985-8.

Sattler CA, Correa, AG. Coagulase-positive staphylococcal infections (*Staphylococcus aureus*). In: Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL. Textbook of pediatric infectious diseases. 5^a ed. Philadelphia: Saunders; 2004. p. 1099-129.

Schito GC. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect 2006;12(Supl. 1):3-8.

Shopsin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. J Clin Microbiol 1999; 37:3556-63.

Somsel P. The bugs fight back: VRSA, CA-MRSA and QRNG. LabLink - Michigan Department of Community Health – Bureau of Laboratories. Disponível em: http://www.michigan.gov/documents/Vol11no1_150647_7.pdf (2006).

Tomasz A, Drugeon HB, de Lencastre HM, Jubes D, McDougall L, Bille J. New mechanism for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: clinical isolates that lack the PBP2 α gene and contain normal penicillin binding proteins with modified penicillin-binding capacity. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 33, p. 1869-74, 1989.

Trabulsi LR, Teixeira LM, Bueris V. *Staphylococcus aureus*. In: Trabulsi LR, Alterthum, F. *Microbiologia*. 4^a ed. São Paulo: Atheneu; 2004. p. 175-82.

Trindade PA, Pacheco RL, Costa SF, Rossi F, Barone AA, Mamizuka EM, et al. Prevalence of SCCmec type IV in nosocomial bloodstream isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005;43:3435-37.

Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis* 2003;9:978-84.

Zhang K, McClure J, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome *mec* types I to V in methicillin-resistant *S. aureus*. *J Clin Microbiol* 2005; 43:5026-33.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)

[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)

[Baixar livros de Literatura Infantil](#)

[Baixar livros de Matemática](#)

[Baixar livros de Medicina](#)

[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)

[Baixar livros de Meio Ambiente](#)

[Baixar livros de Meteorologia](#)

[Baixar Monografias e TCC](#)

[Baixar livros Multidisciplinar](#)

[Baixar livros de Música](#)

[Baixar livros de Psicologia](#)

[Baixar livros de Química](#)

[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)

[Baixar livros de Serviço Social](#)

[Baixar livros de Sociologia](#)

[Baixar livros de Teologia](#)

[Baixar livros de Trabalho](#)

[Baixar livros de Turismo](#)