

Trabalho



Título em Português:	Resistência e virulência em isolados da comunidade pertencentes ao complexo S. aureus: uma abordagem em Saúde Única
Título em Inglês:	Resistance and virulence in community isolates belonging to the S. aureus complex: a One Health approach
Autor:	Guilherme Henrique Pereira
Instituição:	Universidade de São Paulo
Unidade:	Instituto de Física de São Carlos
Orientador:	Ilana Lopes Baratella da Cunha Camargo
Área de Pesquisa / SubÁrea:	Microbiologia Aplicada
Agência Financiadora:	FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

Resistência e virulência de bactérias do complexo *Staphylococcus aureus* isolados na comunidade: uma abordagem em Saúde Única

PEREIRA, G. H.¹

TORINI, L. R.¹, MANIERI, F. Z.¹, CAMPIONI, F.¹

CAMARGO, I. L. B. C.¹

¹ Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo. Av. João Dagnone, 1100, Santa Angelina, São Carlos, SP, Brasil. CEP: 13563-120

¹ guilhermehp@estudante.ufscar.br

Objetivos

Os cães que vivem dentro de casa contribuem diretamente para a microbiota doméstica, assim como seus donos, ambiente externo e fontes internas como ventilação, materiais de construção e umidade (MÄKI *et al.*, 2021). Este trabalho avaliou a presença de *Staphylococcus aureus* em ambiente doméstico, seu perfil de resistência e fatores de virulência. Assim, nesse contexto de abordagem em Saúde Única (LIMONGI; VILGES, 2025), este trabalho de iniciação científica tem como objetivo verificar a ocorrência de colonização por bactérias do complexo *S. aureus* em humanos saudáveis - nas fezes ou narinas, na presença ou ausência de cães, em cães (com ou sem tratamento recente por antibiótico) e na poeira doméstica. Além disso, serão comparados os perfis de virulência e Resistência aos Antimicrobianos (RAM) em isolados encontrados em cada grupo.

Métodos e Procedimentos

Foram realizadas coletas de fezes, *swab* nasal (humano e canino) e coleta de poeira com coletador eletrostático de poeira (EDC) em residências de voluntários divididas da seguinte forma: residências somente contendo pessoas saudáveis (A, n=20), residências com cães saudáveis (B, n=20) e residências com cães em tratamento com antibiótico (C, n=14). As amostras foram coletadas duas vezes para

ampliar a possibilidade de isolamento das bactérias desejadas, sendo a segunda após 15 dias da primeira coleta. As linhagens de *S. aureus* foram identificadas por coloração de Gram e testes bioquímicos, como catalase, coagulase lenta e fermentação do meio manitol, seguidos de identificação e testes de sensibilidade feitos por automação Phoenix M50 com o painel BD PHOENIX NMIC/ID – 601, seguidos de confirmação por MALDI-TOF. A macrorrestrrição seguida por Eletroforese em Gel de Campo Pulsado (PFGE) foi usada para análise de clonalidade (CHUNG *et al.*, 2000). O perfil hemolítico foi avaliado em ágar sangue de carneiro 5% e o resultado foi comparado a controles de alfa, beta e gama-hemólise. A PCR foi usada para detecção dos seguintes genes de virulência: *seb*, *sed*, *sei*, *sea*, *seo*, *seg*, *seh*, *sem*, *sen*, *eta*, *etb*, *pvl*, *lukDE*, *tsst-1*, *hla*, *hly*, *hlg* e *hld* (JARRAUD, 2002).

Resultados

Estavam colonizados um total de 13 humanos (24,1%) e 4 cães (7,4%), distribuídos como se segue: 1 humano (5%, de origem nasal) do grupo A, 7 humanos (35%, seis de origem nasais e um de origem fecal) e 3 cães (15%, dois de origem nasal e um de origem fecal) do grupo B, e 5 humanos (35,7%, três de origem nasal e um de origem fecal) e 1 cão (7,1%, de origem nasal) do grupo C. Dois indivíduos (um do Grupo A e um do Grupo C) apresentaram colonização pelo mesmo clone nas narinas e

no trato intestinal simultaneamente. Um indivíduo do Grupo C estava colonizado nas narinas e no trato intestinal pelo mesmo clone em coletas diferentes, o que por sua vez demonstra que *S. aureus* foi capaz de persistir colonizando o mesmo indivíduo após 15 dias. Foi possível notar uma colonização a longo prazo em outros quatro indivíduos que apresentaram o mesmo clone nas narinas nos dois momentos de coleta, sendo eles 2 do grupo B e 2 do Grupo C. O padrão de bandas do PFGE dos isolados BCS031-4 (cão) e BHS032-4 (tutor) indica que são bactérias do mesmo clone, sugerindo possível transmissão entre o tutor e seu cão. Ao todo, 34 isolados obtidos por meio das coletas foram confirmados com *S. aureus* e, destes, identificaram-se 13 isolados considerados clones por PFGE e apenas 1 de cada clone foi mantido nas análises posteriores, totalizando 21 isolados. Desses, nove foram obtidos na primeira coleta e 12 na segunda coleta. Somente um isolado foi encontrado no grupo A (4,8%), 14 foram obtidos do grupo B (66,6%) e seis no grupo C (28,6%). Entre eles, observou-se resistência à clindamicina em 10 isolados (47,6%), à eritromicina em 11 isolados (52,4%) e à benzilpenicilina em 18 isolados (85,7%). Alfa-, beta- e gama-hemólise foram detectadas em 23,8%, 52,4% e 23,8% das 21 linhagens deste estudo, respectivamente. Curiosamente, dois isolados (5,9%) foram manitol negativos, indicando uma possível circulação de fenótipos atípicos para *S. aureus* na comunidade. Os genes *hla*, *hlg*, *hld*, *seb*, *seb* e *sed* foram encontrados em todos os isolados (100%), 16 isolados (76,2%) apresentaram os genes *hly* e *sei*, nove isolados apresentaram os genes *sea* e *seo* (42,8%), quatro apresentaram o gene *seg* (19,0%), sete apresentaram o gene *seh* (33,3%), seis apresentaram o gene *sem* (28,5%), 10 apresentaram o gene *sen* (47,6%) e nenhum isolado apresentou os genes *eta*, *etb* e *pvl*. Dezesete testaram positivo para o gene *lukDE* (80,9%) e 14 testaram positivo para o gene *tsst-1* (66,6%).

Conclusões

O fato de haver *S. aureus* na poeira em dias diferentes no ambiente doméstico indica que há

uma fonte de contaminação na residência. Os isolados de *S. aureus* da comunidade apresentaram resistência a diferentes classes de antibióticos amplamente utilizados, como a clindamicina, eritromicina e benzilpenicilina, o que configura um cenário preocupante quanto à circulação de fenótipos de resistência na comunidade. Além disso, a presença de fatores de virulência como enterotoxinas estafilocócicas, leucocidinas e toxinas da síndrome do choque tóxico permite concluir que os isolados da comunidade são altamente capazes de promover infecções e causar danos teciduais. Por fim, os padrões hemolíticos, aliados aos resultados das PCRs para os genes *hla*, *hly*, *hlg* e *hld*, evidenciaram a patogenicidade de *S. aureus* na comunidade. Houve apenas uma evidência de transmissão humano-cão de um clone de *S. aureus*.

Referências

- CHUNG, M. et al. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis: comparison of results obtained in a multilaboratory effort using identical protocols and MRSA strains. *Microbial Drug Resistance*, v. 6, n. 3, p. 189–198, 1 jan. 2000.
- JARRAUD, S. et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infection and Immunity*, v. 70, n. 2, p. 631–641, 1 fev. 2002.
- LIMONGI, J. E.; VILGES, S. COVID-19 e a abordagem One Health (Saúde Única): uma revisão sistemática. *Vigilância Sanitária em Debate*, v. 8, n. 3, p. 139–149, 2025.
- MÄKI, J. M. et al. Associations between dog keeping and indoor dust microbiota. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, 5 mar. 2021.

Resistance and virulence of *Staphylococcus aureus* complex bacteria isolated in the community: a One Health approach

PEREIRA, G. H.¹

TORINI, L. R.¹, MANIERI, F. Z.¹, CAMPIONI, F.¹

CAMARGO, I. L. B. C.¹

¹ ¹ Institute of Physics of São Carlos, University of São Paulo. Av. João Dagnone, 1100, Santa Angelina, São Carlos, SP, Brazil. ZIP: 13563-120

¹ guilhermehp@estudante.ufscar.br

Objectives

Dogs living indoors directly contribute to the household microbiota, along with their owners, the external environment, and internal sources such as ventilation, building materials, and humidity (MÄKI et al., 2021). This study evaluated the presence of *Staphylococcus aureus* in the domestic environment, its resistance profile, and virulence factors. Within this One Health approach context (LIMONGI; VILGES, 2025), this undergraduate research project aims to verify the occurrence of colonization by *S. aureus* complex bacteria in healthy humans—either in feces or nostrils—in the presence or absence of dogs, in dogs (with or without recent antibiotic treatment), and in household dust. In addition, virulence and Antimicrobial Resistance (AMR) profiles will be compared among isolates found in each group.

Methods and Procedures

Fecal, nasal swab (human and canine), and dust samples were collected using an electrostatic dust collector (EDC) from the homes of volunteers divided as follows: residences containing only healthy individuals (A, n=20), residences with healthy dogs (B, n=20), and residences with dogs under antibiotic treatment (C, n=14). Samples were collected twice to increase the likelihood of isolating the desired bacteria, with the second

collection occurring 15 days after the first. *S. aureus* strains were identified by Gram staining and biochemical tests, such as catalase, slow coagulase, and mannitol fermentation, followed by identification and susceptibility testing using the Phoenix M50 automation system with the BD PHOENIX NMIC/ID – 601 panel, and confirmed by MALDI-TOF. Macrorestriction followed by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) was used for clonality analysis (CHUNG et al., 2000). Hemolytic profiles were evaluated on 5% sheep blood agar and compared with alpha-, beta-, and gamma-hemolysis controls. PCR was used to detect the following virulence genes: *seb*, *sed*, *sei*, *sea*, *seo*, *seg*, *seh*, *sem*, *sen*, *eta*, *etb*, *pvl*, *lukDE*, *tsst-1*, *hla*, *hly*, *hlg*, and *hld* (JARRAUD, 2002)..

Results

A total of 13 humans (24.1%) and 4 dogs (7.4%) were colonized, distributed as follows: 1 human (5%, nasal origin) from group A; 7 humans (35%, six nasal and one fecal origin) and 3 dogs (15%, two nasal and one fecal origin) from group B; and 5 humans (35.7%, three nasal and one fecal origin) and 1 dog (7.1%, nasal origin) from group C. Two individuals (one from Group A and one from Group C) showed colonization by the same clone simultaneously in both nostrils and the

intestinal tract. One individual from Group C was colonized in both nostrils and intestinal tract by the same clone in different collections, demonstrating that *S. aureus* was able to persist colonizing the same individual after 15 days. Long-term colonization was also observed in four other individuals who showed the same clone in nasal samples in both collections—two from Group B and two from Group C. The PFGE band pattern of isolates BCS031-4 (dog) and BHS032-4 (owner) indicated that they belonged to the same clone, suggesting possible transmission between owner and dog. In total, 34 isolates obtained from the collections were confirmed as *S. aureus*, and among these, 13 were identified as clones by PFGE; only one representative of each clone was kept for subsequent analyses, totaling 21 isolates. Of these, nine were obtained in the first collection and twelve in the second. Only one isolate was found in Group A (4.8%), fourteen in Group B (66.6%), and six in Group C (28.6%). Among them, resistance to clindamycin was observed in 10 isolates (47.6%), erythromycin in 11 isolates (52.4%), and benzylpenicillin in 18 isolates (85.7%). Alpha-, beta-, and gamma-hemolysis were detected in 23.8%, 52.4%, and 23.8% of the 21 strains, respectively. Interestingly, two isolates (5.9%) were mannitol-negative, indicating a possible circulation of atypical *S. aureus* phenotypes in the community. The *hla*, *hlg*, *hld*, *seb*, and *sed* genes were found in all isolates (100%); sixteen isolates (76.2%) carried the *hlb* and *sei* genes; nine isolates carried the *sea* and *seo* genes (42.8%); four carried *seg* (19.0%); seven carried *seh* (33.3%); six carried *sem* (28.5%); ten carried *sen* (47.6%); and none carried *eta*, *etb*, or *pvl*. Seventeen isolates tested positive for *lukDE* (80.9%) and fourteen for *tsst-1* (66.6%).

Conclusions

The presence of *S. aureus* in household dust on different days indicates a source of contamination within the residence. Community *S. aureus* isolates showed resistance to several widely used antibiotic classes, such as clindamycin, erythromycin, and benzylpenicillin, representing a concerning scenario regarding

the circulation of resistant phenotypes in the community. Moreover, the presence of virulence factors such as staphylococcal enterotoxins, leukocidins, and toxic shock syndrome toxins indicates that these community isolates are highly capable of causing infections and tissue damage. Finally, hemolytic patterns combined with PCR results for *hla*, *hlg*, *hld*, and *hld* genes highlighted the pathogenic potential of *S. aureus* in the community. Only one case of human-to-dog transmission of a *S. aureus* clone was observed.

Reference

- CHUNG, M. *et al.* Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis: comparison of results obtained in a multilaboratory effort using identical protocols and MRSA strains. *Microbial Drug Resistance*, v. 6, n. 3, p. 189–198, Jan. 1, 2000.
- JARRAUD, S. *et al.* Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. *Infection and Immunity*, v. 70, n. 2, p. 631–641, Feb. 1, 2002.
- LIMONGI, J. E.; VILGES, S. COVID-19 and the One Health approach: a systematic review. *Vigilância Sanitária em Debate*, v. 8, n. 3, p. 139–149, 2025.
- MÄKI, J. M. *et al.* Associations between dog keeping and indoor dust microbiota. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, Mar. 5, 2021.