

Título em Português:	Caracterização de Staphylococcus aureus resistente à metilicina em Amostras Clínicas de São Luís (MA).
Título em Inglês:	characterization of methicillin-resistant staphylococcus aureus in clinical samples from são luís (ma).
Autor:	Nathalia Colucci Formigoni
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:	USP - Programa Unificado de Bolsas



Caracterização de *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina em Amostras Clínicas de São Luís (MA).

NATHALIA COLUCCI FORMIGONI ¹

MARCELA NUNES ARGENTIN ¹

ILANA L. B. C. CAMARGO ¹

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

¹nathalia.formigoni@usp.br

Objetivos

O objetivo do trabalho é confirmar a presença dos genes responsáveis pela resistência à metilicina em diferentes isolados de *Staphylococcus aureus*, além de determinar seus perfis de sensibilidade a outros antimicrobianos disponíveis.

Objetivos específicos

- Caracterização quanto ao perfil de sensibilidade dos isolados de MRSA relacionados a IRAS e de origem comunitária provenientes de hospitais da região metropolitana de São Luís (MA);
- Confirmação da presença do gene *mecA* ou *mecC* por PCR;
- Determinar a concentração inibitória mínima para os antimicrobianos: vancomicina, tigeciclina, daptomicina e linezolida.

Métodos e Procedimentos

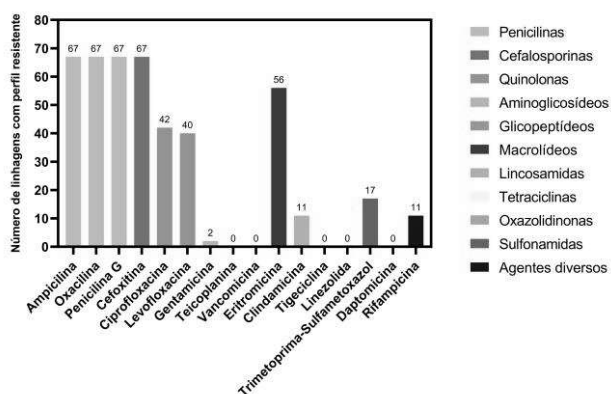
Foram analisados 67 isolados de *S. aureus* resistentes à metilicina (MRSA), provenientes de amostras clínicas hospitalares e comunitárias da região metropolitana de São

Luis (MA). O DNA genômico foi extraído pelo método de lise mecânica, seguido de purificação e quantificação em espectrofotômetro. A detecção dos genes *mecA* e *mecC* foi realizada por PCR, utilizando linhagens de referência como controles positivos *S. aureus* N315 e BAA-2312, respectivamente (KONDO et al., 2014). O perfil de sensibilidade antimicrobiana foi determinado por automação no sistema Phoenix M50 (Becton Dickinson, Sparks, EUA), que realiza testes de microdiluição e identificação bioquímica com o uso do painel PMIC/ID-601 para bactérias Gram-positivas. A concentração inibitória mínima (CIM) para vancomicina, tigeciclina, daptomicina e linezolida foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, conforme diretrizes ISO 20776-1:2019 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2019) e interpretação segundo BrCAST/EUCAST. Além disso, os isolados foram avaliados quanto aos padrões hemolíticos em ágar sangue de carneiro. Ao total, 59 isolados são considerados MDR (Multidrug Resistant).

Resultados

Nos isolados analisados, observou-se elevada frequência de resistência frente aos antibióticos β -lactâmicos, incluindo ampicilina, oxacilina, penicilina G e cefoxitina, confirmando o perfil típico de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA), perfil que também foi confirmado pela presença do gene *mecA* em todos os isolados. Por outro lado, fármacos como vancomicina, teicoplanina, linezolida e tigeciclina apresentaram alta taxa de sensibilidade, destacando-se como alternativas terapêuticas eficazes. O perfil de sensibilidade observado no Phoenix das linhagens deste estudo está apresentado de forma resumida na Figura 1.

Figura 1: Perfil de sensibilidade das linhagens estudadas obtido pelo sistema Phoenix BD. Os antibióticos estão agrupados por classes (representadas por cores distintas na legenda), o número de linhagens resistentes é indicado no topo de cada barra. Não foram observados isolados resistentes para Teicoplanina e Vancomicina (Glicopeptídeos), Tigeciclina (Tetraciclina), Linezolida (Oxazolidinonas) e Daptomicina (lipopeptídeo).



Conclusões

A análise proposta neste trabalho possibilitou reunir informações essenciais sobre o perfil de resistência de linhagens de *S. aureus* isoladas na região metropolitana de São

Luís do Maranhão frente à meticilina e a outros antimicrobianos de relevância clínica. Todos os MRSA apresentaram o gene *mecA*. Análise da sensibilidade mostra que além da resistência aos β -lactâmicos, os isolados apresentaram resistência principalmente à eritromicina e ciprofloxacina, sendo sensíveis a todos os antibióticos de último recurso.

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

COMITÊ BRASILEIRO DE TESTES DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS – BrCASTEUCAST. *Tabela de pontos de corte clínicos, valores de CIM e diâmetros de halo*. Versão válida a partir de 01/02/2025. Disponível em: <brcast.org.br>

ISO. *Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices – Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases*. ISO 20776-1:2019. 2. ed. Geneva: International Organization for Standardization, 2019.

KONDO, Y. *et al.* Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions. In: ITO, T. (ed.). *Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCCmec) Analysis of MRSA*. New York: Humana Press, 2014. (Methods in Molecular Biology, v. 1085), p. 131–148. <https://doi.org/10.1128/AAC.00165-06>

Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Clinical Samples from São Luís (MA).

NATHALIA COLUCCI FORMIGONI ¹

MARCELA NUNES ARGENTIN ¹

ILANA L.B.C. CAMARGO ¹

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

¹nathalia.formigoni@usp.br

Objectives

The objective of this study is to confirm the presence of genes responsible for methicillin resistance in different *Staphylococcus aureus* isolates, as well as to determine their susceptibility profiles to other available antimicrobials.

Specific Objectives

- Characterize the antimicrobial susceptibility profiles of MRSA isolates related to healthcare-associated infections (HAIs) and community-acquired infections from hospitals in the metropolitan region of São Luís (MA);
- Confirm the presence of the *mecA* or *mecC* genes by PCR;
- Determine the minimum inhibitory concentration (MIC) for the antimicrobials: vancomycin, tigecycline, daptomycin, and linezolid.

Materials and Methods

A total of 67 methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) isolates, obtained from hospital and community clinical samples from the

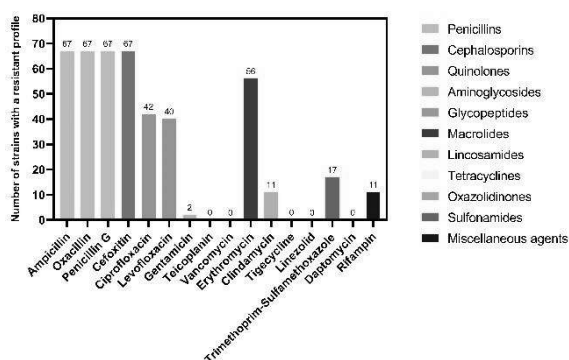
metropolitan region of São Luís (MA), were analyzed. Genomic DNA was extracted using a mechanical lysis method, followed by purification and quantification via spectrophotometry. Detection of the *mecA* and *mecC* genes was performed by PCR, using reference strains as positive controls: *S. aureus* N315 and BAA-2312, respectively (KONDO et al., 2014). Antimicrobial susceptibility profiles were determined using the automated Phoenix M50 system (Becton Dickinson, Sparks, USA), which performs microdilution tests and biochemical identification using the PMIC/ID-601 panel for Gram-positive bacteria. The MIC for vancomycin, tigecycline, daptomycin, and linezolid was determined by broth microdilution, according to ISO 20776-1:2019 guidelines (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2019) and interpreted following BrCAST/EUCAST criteria. Additionally, the isolates were evaluated for hemolytic patterns on sheep blood agar. In total, 59 isolates are considered MDR (Multidrug Resistant).

Results

The analyzed isolates showed a high frequency of resistance to β -lactam antibiotics,

including ampicillin, oxacillin, penicillin G, and cefoxitin, confirming the typical profile of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), a profile that was also confirmed by the presence of the *mecA* gene in all isolates. On the other hand, drugs such as vancomycin, teicoplanin, linezolid, and tigecycline exhibited high susceptibility rates, highlighting them as effective therapeutic alternatives. The susceptibility profile observed by the Phoenix system for the isolates in this study is summarized in Figure 1.

Figure 1: Susceptibility profile of the studied isolates obtained using the Phoenix BD system. Antibiotics are grouped by classes (represented by different colors in the legend), and the number of resistant isolates is indicated at the top of each bar. No resistant isolates were observed for teicoplanin and vancomycin (glycopeptides), tigecycline (tetracyclines), linezolid (oxazolidinones), and daptomycin (miscellaneous agents).



Conclusions

The analysis proposed in this study made it possible to gather essential information on the resistance profile of *S. aureus* strains isolated from the metropolitan region of São Luís, Maranhão, against methicillin and other clinically relevant antimicrobials. All MRSA strains harbored the *mecA* gene. Susceptibility analysis showed that, in addition to beta-lactam resistance, most of the isolates were primarily

resistant to erythromycin and ciprofloxacin, and were sensitive to all last-resort antibiotics.

The authors declare no conflict of interest.

References

COMITÉ BRASILEIRO DE TESTES DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS – BrCASTEUCAST. *Clinical breakpoints, MIC values, and zone diameters. Version valid from 01/02/2025. Available at: <brcast.org.br>*

ISO. *Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices – Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases*. ISO 20776-1:2019. 2. ed. Geneva: International Organization for Standardization, 2019.

KONDO, Y. *et al.* Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions. In: ITO, T. (ed.). *Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) Analysis of MRSA*. New York: Humana Press, 2014. (Methods in Molecular Biology, v. 1085), p. 131–148. <https://doi.org/10.1128/AAC.00165-06>