

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Caracterização molecular de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos

Nome do Aluno

Dissertação/Tese para obtenção do Título de Mestre/DOCTOR

Orientador: Prof. Dr

São Paulo

2015

Capa Dura Vinho para FCF

Capra Dura Azul para PRONUT

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Caracterização molecular de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos

Nome do Aluno

Versão corrigida da Dissertação/Tese conforme resolução CoPGr 6018.
O original encontra-se disponível no Serviço de Pós Graduação da FCF/USP.

Dissertação/Tese para obtenção do Título de Mestre/DOCTOR

Orientador: Prof. Dr

São Paulo

2015

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S123c Sacramento, Andrey Guimarães
Caracterização molecular de *Enterococcus* spp. resistentes à
vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos
/ Andrey Guimarães Sacramento. -- São Paulo, 2015.
112p.

Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas
e Toxicológicas.

Orientador: Mamizuka, Elsa Masae

1. Análise clínica : Medicina 2. *Enterococcus* 3. Resistência
microbiana às drogas I. T. II. Mamizuka, Elsa Masae, orientador.

616.0756-9 CDD

Nome do Aluno

Caracterização molecular de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos

Comissão Julgadora
da
Dissertação/Tese para obtenção do Título de Mestre/DOCTOR

Prof. Dr.
orientador/presidente

1o. examinador

2o. examinador

3o. examinador

4o. examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2015.

RESUMO

SACRAMENTO, A. G. **Caracterização molecular de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos.** 2015. 112f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Enterococos são ubíquos no ambiente e fazem parte da microbiota do trato gastrointestinal de humanos e animais. A importância dessas bactérias tem sido associada com infecções hospitalares e resistência a múltiplas drogas, principalmente à vancomicina. O objetivo deste estudo foi caracterizar molecularmente cepas de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE) isoladas a partir de amostras coletadas de pacientes hospitalizados, água superficial de rios urbanos e carne de frango comercializada no Brasil. A presença do gene *vanA* foi confirmada em 20 cepas multirresistentes isoladas durante 1997-2011. Dentre os isolados VRE, 12 cepas foram identificadas como *E. faecium* e oito como *E. faecalis*. Cepas de *E. faecium* isoladas das amostras clínicas e das águas superficiais dos rios urbanos apresentaram perfil de virulência (*acm*⁺, *esp*⁺), sendo clonalmente relacionadas pelo PFGE. Adicionalmente, enquanto cepas de *E. faecium* isoladas dos rios pertenceram aos STs 203, ST412 e ST478 (previamente caracterizados como endêmicos em hospitais brasileiros), novos STs foram identificados entre as cepas de *E. faecalis* (ST614, ST615 e ST616) e *E. faecium* (ST953 e ST954) isoladas de alimentos. Finalmente, o contexto genético do *cluster vanA*, em cepas representativas de *E. faecium* isoladas de humanos e ambientes aquático, revelou deleções, pontos de mutação e as *IS1251* e *IS1216E* dentro do transposon *Tn1546*, o qual foi indistinguível independente da sua origem. Especificamente, a presença da *IS1216E* (previamente associada a genes que conferem resistência a cobre e aminoglicosídeos em *E. faecium*, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus sciuri*), sugere uma propensão do *E. faecium* para incorporar elementos que podem contribuir para a rápida aquisição de resistência a compostos antimicrobianos, que poderão ser disseminados para outros linhagens e/ou gêneros, constituindo-se em importante marcador epidemiológico de cepas VRE endêmicas no Brasil.

Palavras-chaves: *Enterococcus*, multidroga resistente, MLST, *vanA*, *IS1216E*.

ABSTRACT

SACRAMENTO, A. G. **Molecular characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. in clinical samples, aquatic environments and foods** 2015. 112f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Enterococci are ubiquitous in the environment and in the intestinal tract of humans and animals. The importance of these bacteria has been associated with nosocomial infection and multiple resistance to antimicrobial agents, mainly vancomycin. The objective of the study was to perform molecular characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. strains (VRE) isolated from hospitalized patients, surface water of urban rivers and retail chicken meat in Brazil. The presence of the *vanA* gene was confirmed in 20 multidrug resistant strains isolated in 1997-2011. Among these isolates, (n = 12) were identified as *E. faecium* and (n = 8) as *E. faecalis*. Strains of *E. faecium* isolated from clinical samples and surface water of urban rivers showed virulence profile (acm⁺, esp⁺) and clonally related by PFGE. Additionally, while *E. faecium* strains isolated from rivers belonging to STs 203, ST412 and ST478 (previously characterized as endemic in Brazilian hospitals), new STs were identified among strains of *E. faecalis* (ST614, ST615 and ST616) and *E. faecium* (ST953 and ST954) isolated from food. Finally, the genetic background of the *vanA* gene cluster in strains representative of *E. faecium* isolated from humans and aquatic environments associated deletions, mutation points and IS1251 and IS1216E in transposon Tn1546, which was indistinguishable independent of their origin. The presence of insertion element as IS1216E (previously associated with genes that confer resistance to aminoglycosides and to copper in *E. faecium*, *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus sciuri*), suggests a propensity of *E. faecium* to incorporate elements that may contribute to the rapid acquisition of resistance to antimicrobial compounds, which may be disseminated to other species and/or genus, becoming an important epidemiological marker of endemic VRE strains in Brazil.

Keywords: *Enterococcus*, multidrug resistant, MLST, *vanA*, IS1216E