

# Subtipagem molecular do gene *bla*<sub>OXA-51-like</sub> em amostras clínicas de *Acinetobacter baumannii* isoladas no estado de São Paulo

Carlos Henrique Camargo\*, Marta Regina Saes,  
Eliete Caló Romero, Luis Fernando dos Santos,  
Fábio de Oliveira Antunes, Sônia Regina Santos da Silva,  
Monique Ribeiro Tiba Casas, Doroti de Oliveira Garcia

Núcleo de Doenças Entéricas e  
Infecções por Patógenos Especiais  
Centro de Bacteriologia  
Instituto Adolfo Lutz

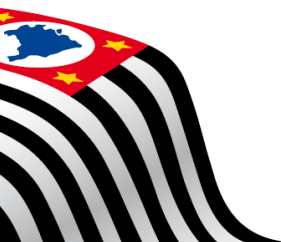
\*chcamargo@ial.sp.gov.br

Novembro/2014



## Missão do Instituto Adolfo Lutz

- Executar atividades laboratoriais especializadas e diferenciadas;
- **realizar pesquisa científica e de inovação tecnológica de interesse em Saúde Pública e promover a divulgação;**
- formar recursos humanos especializados de interesse à Saúde Pública;
- participar das ações de Vigilância Epidemiológica, Sanitária e Ambiental para prevenção, controle e eliminação de riscos, doenças e agravos de interesse em Saúde Pública.



# Introdução

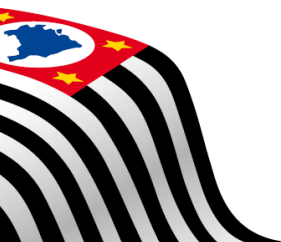
- ❖ *Acinetobacter*
- ❖ Cocobacilo Gram-negativo, não fermentador
- ❖ Patógeno oportunista
- ❖ Altas taxas de morbidade e de mortalidade

TABLE 2. Distribution of pathogens most commonly isolated from monomicrobial nBSIs and associated crude mortality rates for all patients in ICUs and patients in non-ICU wards

Pathogen	% BSI (rank)			Crude mortality (%)		
	Total (n = 2,447)	ICU (n = 1,196)	Non-ICU (n = 1,251)	Total (n = 971)	ICU (n = 656)	Non-ICU (n = 315)
<i>S. aureus</i>	15.4 (1)	12.8 (3) <sup>a</sup>	17.9 (1)	31.0	48.2	24.0
CoNS	13.8 (2)	16.6 (1) <sup>a</sup>	11.2 (3)	32.0	46.5	23.2
<i>Klebsiella</i> spp.	13.2 (3)	11.8 (4) <sup>b</sup>	14.5 (2)	34.7	55.2	24.8
<i>Acinetobacter</i> spp.	12.5 (4)	15.2 (2) <sup>a</sup>	10.0 (4)	52.1	65.5	39.6
<i>P. aeruginosa</i>	8.9 (5)	10.0 (5)	7.9 (5)	48.9	61.5	39.0
<i>Enterobacter</i> spp.	6.1 (6)	5.8 (7)	6.4 (6)	30.2	61.4	17.1
<i>Candida</i> spp.	5.6 (7)	7.4 (6) <sup>a</sup>	3.9 (7)	68.6	85.9	53.4
<i>Enterococcus</i> spp.	4.5 (8)	5.5 (8) <sup>b</sup>	3.6 (9)	49.5	64.2	36.2
<i>Serratia</i> spp.	3.5 (9)	3.2 (9)	3.8 (8)	40.0	60.0	29.1
<i>Proteus</i> spp.	1.6 (10)	1.8 (10)	1.6 (10)	44.7	61.1	30.0

<sup>a</sup>  $P < 0.001$  for patients in ICU vs. patients in non-ICU wards.

<sup>b</sup>  $P < 0.05$  for patients in ICU vs. patients in non-ICU wards.



# Introdução

- ❖ Complexo *Acinetobacter calcoaceticus*-*A. baumannii*
- ❖ *A. calcoaceticus*
- ❖ ***Acinetobacter baumannii***
- ❖ *A. pittii* (espécie genômica 3)
- ❖ *A. nosocomialis* (espécie genômica 13TU)

## ***Acinetobacter baumannii***

- ❖ Apresenta intrinsecamente o gene *bla*OXA-51-like
- ❖ Resistência aos carbapenêmicos se *ISAb* *upstream*



Tien et al 2012. AAC 56(12):6267-6271

Nemec et al 2011. Res Microbiol 162:393-404

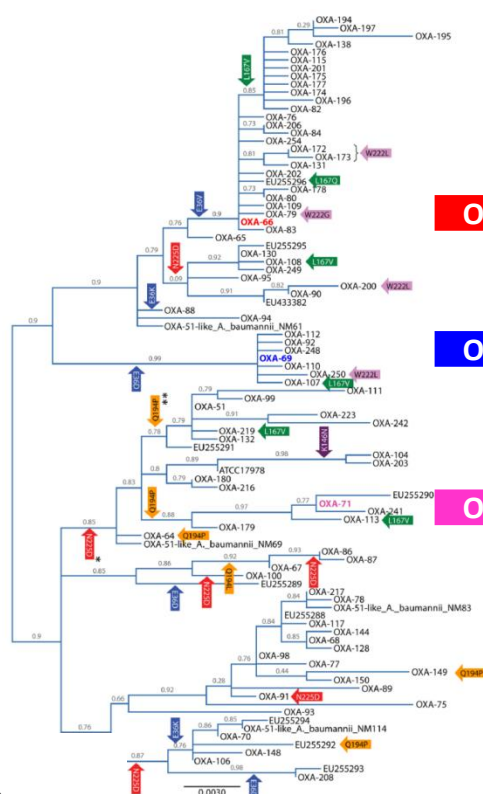
Turton et al 2006. JCM 44(8):2974-2976

Hu et al 2007. AAC 51(11):3844-3852



# Introdução

- ❖ Subtipagem do gene *bla*OXA-51: ferramenta promissora com finalidade epidemiológica
- ❖ Relação com CC, clones circulantes; fácil e econômico



**OXA-66**

CC2

Clone Europeu II

Clone Internacional II

**OXA-69**

CC1

Clone Europeu I

Clone Internacional I

**OXA-71**

CC3

Clone Europeu III

Clone Internacional III

Evans & Amyes 2014. CMR 27(2):241-263

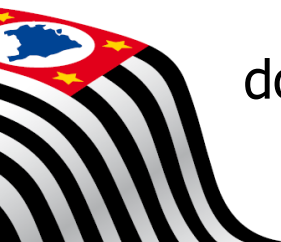
Pournaras et al 2014. JCM 52(5):1653-1657

Diancourt et al 2010. PLOS One 5(4):e10034

- ❖ Considerando a relativa facilidade de execução e análise da subtipagem do gene *bla*OXA-51-like como ferramenta para estudos epidemiológicos

## OBJETIVO

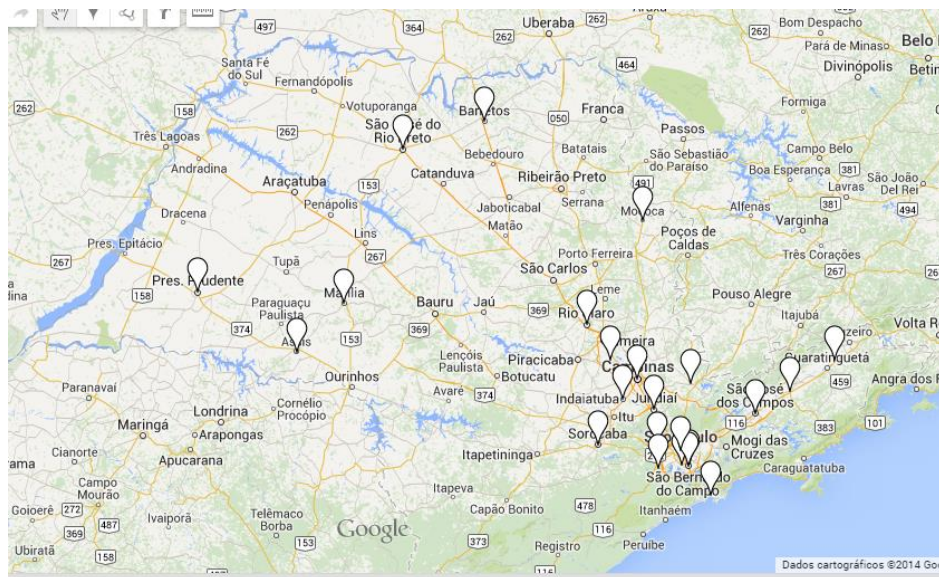
- ❖ Avaliar a prevalência dos subtipos do gene *bla*OXA-51-like em isolados clínicos de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos provenientes de diferentes instituições de saúde do estado de São Paulo.





# Material e Métodos

- ❖ Amostras
  - ❖ 67 cepas de 60 instituições de 23 municípios
  - ❖ Isoladas entre 2009 e 2013
  - ❖ Sangue, catéter, LCR, urina, líq perit, LBA, secr traqueal
  - ❖ Resistência aos carbapenêmicos (DD)





# Material e Métodos

- ❖ Identificação
  - ❖ Fenotípica (Complexo ACB)
- ❖ Genotípica
  - ❖ Gene *bla*OXA-51-like
- ❖ Subtipagem por sequenciamento
  - ❖ BioNumerics v. 7.1 (contig, análise, BLAST, dendrograma)

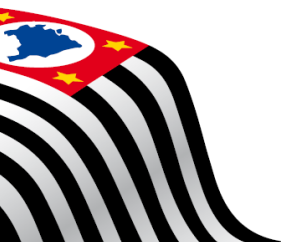
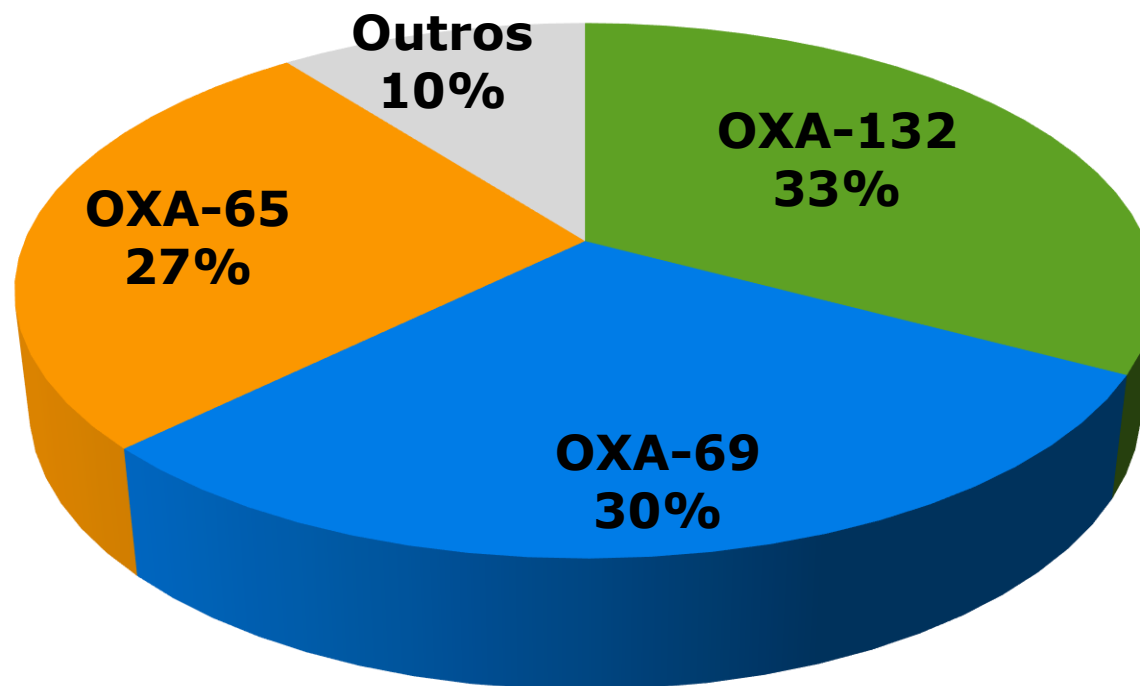


Pournaras et al 2014. JCM 52(5):1653-1657

Diancourt et al 2010. PLOS One 5(4):e10034

# Resultados

## Distribuição dos subtipos de OXA-51-like





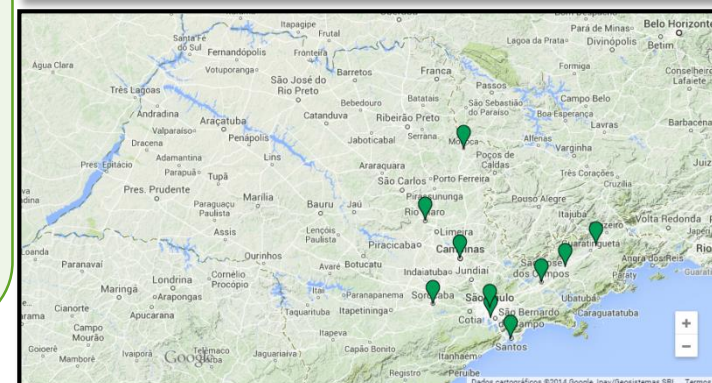
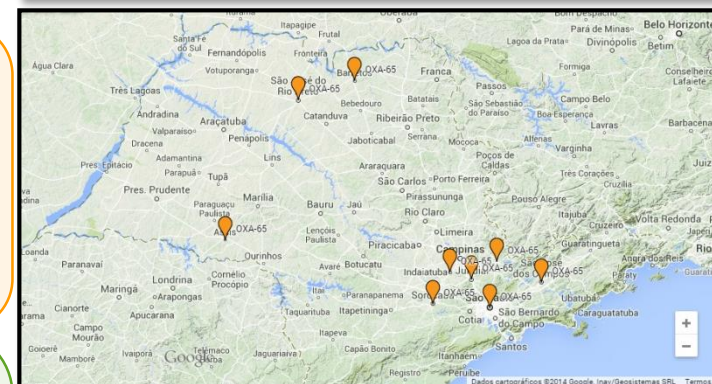
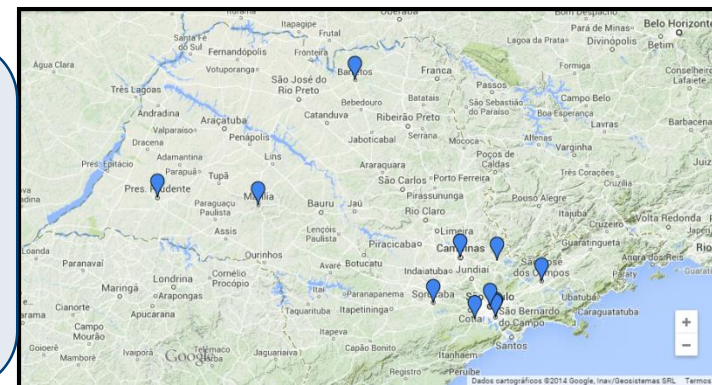
# Resultados

OXA-S1-SUBTYPE	Key	CITY	YEAR
OXA-64	014	SÃO PAULO	2010
OXA-64	039	SÃO BERNARDO DO CAMPO	2012
OXA-64	070	SÃO PAULO	2013
OXA-S1-LIKE	015	AMERICANA	2011
OXA-S1-LIKE	017	BARUERI	2011
OXA-S1-LIKE	058	SOROCABA	2012
OXA-69	010	PRESIDENTE PRUDENTE	2010
OXA-69	022	ITAPECERICA DA SERRA	2011
OXA-69	024	MARILIA	2011
OXA-69	027	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-69	034	SÃO PAULO	2011
OXA-69	051	SÃO PAULO	2012
OXA-69	056	SÃO PAULO	2012
OXA-69	066	SÃO BERNARDO DO CAMPO	2013
OXA-69	045	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-69	072	SÃO PAULO	2013
OXA-69	062	BRAGANÇA PAULISTA	2013
OXA-69	069	SÃO PAULO	2013
OXA-69	016	BARRETOS	2011
OXA-69	025	SANTO ANDRÉ	2011
OXA-69	044	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-69	038	CAMPINAS	2012
OXA-69	030	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-69	006	SOROCABA	2009
OXA-69	005	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2009
OXA-69	008	BRAGANÇA PAULISTA	2010
OXA-S1-LIKE	018	BRAGANÇA PAULISTA	2011
OXA-65	047	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-65	049	SÃO PAULO	2012
OXA-65	073	SOROCABA	2013
OXA-65	003	BARRETOS	2009
OXA-65	002	ASSIS	2009
OXA-65	007	ASSIS	2010
OXA-65	009	INDAIATUBA	2010
OXA-65	012	SÃO PAULO	2010
OXA-65	026	SÃO JOSE DO RIO PRETO	2011
OXA-65	036	SÃO PAULO	2011
OXA-65	046	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-65	048	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-65	055	SÃO PAULO	2012
OXA-65	059	SOROCABA	2012
OXA-65	061	BRAGANÇA PAULISTA	2013
OXA-65	063	JUNDIAÍ	2013
OXA-65	068	SÃO PAULO	2013
OXA-65	054	SÃO PAULO	2012
OXA-132	004	SANTOS	2009
OXA-132	011	SANTOS	2010
OXA-132	013	SÃO PAULO	2010
OXA-132	019	CAMPINAS	2011
OXA-132	020	CAMPINAS	2011
OXA-132	021	DIADÉMA	2011
OXA-132	023	LORENA	2011
OXA-132	028	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-132	029	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-132	031	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-132	032	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-132	035	SÃO PAULO	2011
OXA-132	037	SÃO PAULO	2011
OXA-132	043	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-132	052	SÃO PAULO	2012
OXA-132	053	SÃO PAULO	2012
OXA-132	057	SOROCABA	2012
OXA-132	060	TAUBATÉ	2012
OXA-132	064	MOCOCA	2013
OXA-132	065	RIO CLARO	2013
OXA-132	067	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2013
OXA-132	071	SÃO PAULO	2013

**OXA-69**  
20 amostras  
11 municípios

**OXA-65**  
18 amostras  
9 municípios

**OXA-132**  
22 amostras  
10 municípios



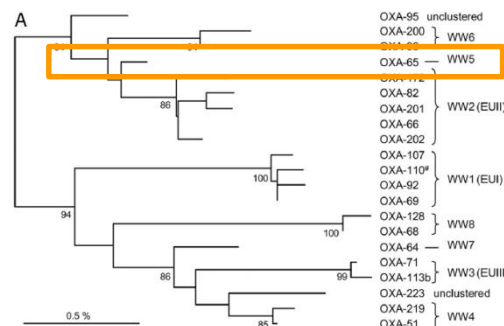


# Resultados e Discussão

## OXA-69 → Clone Europeu I

Index strain <sup>b</sup>	Country	<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> allele (no. of isolates)	Pasteur's MLST								ST (no. of isolates)	3-LST group
			CC	<i>cpn60</i>	<i>fusA</i>	<i>gltA</i>	<i>pyrG</i>	<i>recA</i>	<i>rpiB</i>	<i>rpoB</i>		
AB3990	Italy	<i>bla</i> <sub>OXA-66</sub> (278)	CC2	2	2	2	2	2	2	2	ST2 (265)	1
AB3	Greece			2	2	6	2	2	2	2	ST45 (13)	
AB700	Italy	<i>bla</i> <sub>OXA-69</sub> (155)	CC1	1	1	1	1	5	1	1	ST1 (124)	2
AB2979	Italy			3	1	1	1	5	1	1	ST20 (31)	
AB3237	Lebanon	<i>bla</i> <sub>OXA-71</sub> (4)	CC3	3	3	2	2	3	1	3	ST3 (4)	3
AB3890	Greece	<i>bla</i> <sub>OXA-64</sub> (65)	CC25	3	3	2	4	7	2	4	ST25 (65)	4
AB3909	Italy	<i>bla</i> <sub>OXA-90</sub> (62)	Singleton	25	3	6	2	28	1	29	ST78 (62)	6
AB6	Greece	<i>bla</i> <sub>OXA-94</sub> (3)	CC6	5	2	4	1	3	3	4	ST85 (3)	NA
AB17	Greece	<i>bla</i> <sub>OXA-365</sub> <sup>c</sup> (3)	CC54	12	3	18	2	17	4	5	ST54 (3)	NA
AB3868	Turkey	<i>bla</i> <sub>OXA-51</sub> (9)	CC15	6	6	8	2	3	5	4	ST15 (6)	5
AB3871	Turkey			6	6	8	2	3	5	30	ST84 (3)	
AB2977	Italy	<i>bla</i> <sub>OXA-128</sub> (4)	CC10	28	3	2	1	4	4	4	ST82 (4)	NA
AB3866	Turkey	<i>bla</i> <sub>OXA-86</sub> (2)	CC83	26	4	2	2	9	1	4	ST83 (2)	NA
OIFC032	Germany	<i>bla</i> <sub>OXA-100</sub> <sup>d</sup>	CC32	1	1	2	2	3	4	4	ST32	NA
AB_TG27343	USA	<i>bla</i> <sub>OXA-65</sub> <sup>e</sup>	CC79	26	2	2	2	29	4	5	ST79	NA

Pournaras et al 2014. JCM 52(5):1653-1657



## OXA-65 → Linhagem WW5

Zander et al 2012. JCM 50(6):1900-1904

Sequence-based typing method (n=4)<sup>c</sup>

Years	No. of hospitals <sup>a</sup>	MLST-IP <sup>b</sup>			<i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> gene
		allelic profile (ST)	CC		
2006-07	7	26-2-2-2-29-4-5 (79)	singleton		<i>bla</i> <sub>OXA-66</sub>
2006-07	5	6-6-8-2-3-5-4 (15)	ST15		<i>bla</i> <sub>OXA-132</sub>
2007	2	3-2-2-2-4-8 (new 1)	singleton		<i>bla</i> <sub>OXA-95</sub>
2007	1	3-1-6-2-4-1-5 (new 2)	singleton		<i>bla</i> <sub>OXA-69</sub>

Grosso et al 2011. JAC (66)62-65



ST-SUBTYPE	Key	CITY	YEAR
OXA-64	014	SÃO PAULO	2010
OXA-64	039	SÃO BERNARDO DO CAMPO	2012
OXA-64	070	SÃO PAULO	2013
OXA-S1-LIKE	015	AMERICANA	2011
OXA-S1-LIKE	017	BARLIERI	2011
OXA-S1-LIKE	058	SOROCABA	2012
OXA-69	010	PRESIDENTE PRUDENTE	2010
OXA-69	022	ITAPECERICA DA SERRA	2011
OXA-69	024	MARILIA	2011
OXA-69	027	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-69	034	SÃO PAULO	2011
OXA-69	051	SÃO PAULO	2012
OXA-69	056	SÃO PAULO	2012
OXA-69	066	SÃO BERNARDO DO CAMPO	2013
OXA-69	045	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-69	072	SÃO PAULO	2013
OXA-69	082	BRAGANÇA PAULISTA	2013
OXA-69	089	SÃO PAULO	2013
OXA-69	016	BARRETOS	2011
OXA-69	025	SANTO ANDRÉ	2011
OXA-69	044	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-69	038	CAMPINAS	2012
OXA-69	030	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-69	006	SOROCABA	2009
OXA-69	005	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2009
OXA-69	008	BRAGANÇA PAULISTA	2010
OXA-S1-LIKE	018	BRAGANÇA PAULISTA	2011
OXA-65	047	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-65	049	SÃO PAULO	2012
OXA-65	073	SOROCABA	2013
OXA-65	003	BARRETOS	2009
OXA-65	002	ASSIS	2009
OXA-65	007	ASSIS	2010
OXA-65	009	INDAIATUBA	2010
OXA-65	012	SÃO PAULO	2010
OXA-65	026	SÃO JOSE DO RIO PRETO	2011
OXA-65	036	SÃO PAULO	2011
OXA-65	046	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-65	048	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-65	055	SÃO PAULO	2012
OXA-65	059	SOROCABA	2012
OXA-65	061	BRAGANÇA PAULISTA	2013
OXA-65	063	JUNDIAÍ	2013
OXA-65	068	SÃO PAULO	2013
OXA-65	054	SÃO PAULO	2012
OXA-132	004	SANTOS	2009
OXA-132	011	SANTOS	2010
OXA-132	013	SÃO PAULO	2010
OXA-132	019	CAMPINAS	2011
OXA-132	020	CAMPINAS	2011
OXA-132	021	DIADEMA	2011
OXA-132	023	LORENA	2011
OXA-132	028	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-132	029	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-132	031	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-132	032	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2011
OXA-132	035	SÃO PAULO	2011
OXA-132	037	SÃO PAULO	2011
OXA-132	043	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2012
OXA-132	052	SÃO PAULO	2012
OXA-132	053	SÃO PAULO	2012
OXA-132	057	SOROCABA	2012
OXA-132	060	TAUBATÉ	2012
OXA-132	064	MOÇOCA	2013
OXA-132	065	RIO CLARO	2013
OXA-132	067	SÃO JOSE DOS CAMPOS	2013
OXA-132	071	SÃO PAULO	2013

## OXA-69

## OXA-65

## OXA-132

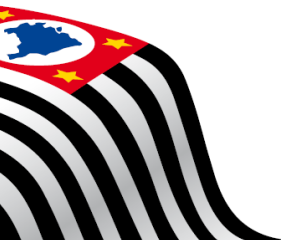
## Outros resultados complementares

- ❖ Outros genes de oxacilinases:
  - ❖ OXA-51: 67/67 = 100%
  - ❖ OXA-23: 63/67: 94%
  - ❖ OXA-24: 2/67: 2,9%
  - ❖ OXA-58: 0
  - ❖ OXA-143: 1/67: 1,5%
  
- ❖ Presença de *ISAba1* upstream – **RESULTADOS PRELIMINARES**
  - ❖ Negativo para OXA-51 (18 CEPAS AVALIADAS)
  - ❖ **Positivo para OXA-23 (52/65; 80%)**
  - ❖ Negativo para OXA-24 (2 CEPAS)
  - ❖ Negativo para OXA-143 (1 CEPA)



## CONCLUSÕES

- ❖ Um número limitado de subtipos do gene *bla*OXA-51-like indica baixa diversidade e sugere uma disseminação de cepas em diferentes instituições
- ❖ No estado de São Paulo há circulação de cepas OXA-69 (Clone Internacional I) mas não de OXA-66 (Clone Internacional II). Implicações das cepas com OXA-132 (CC15) (identificadas também no RJ) ainda desconhecidas
- ❖ Subtipagem OXA-51 permite identificar de maneira mais prática as cepas circulantes e fornecer subsídios para medidas de controle da disseminação de *A. baumannii*



# AGRADECIMENTOS



Auxílio Regular 2013/12055-4

Bolsa de IC 2014/11380-1

Editais Universal 455977/2014-3



Dra. Ana Cristina Gales, Dr. Rodrigo Cayô da Silva, Dandara Cassu Corsi

Laboratório LEMC/Alerta (UNIFESP)



Comissão Organizadora





# Obrigado!

[chcamargo@ial.sp.gov.br](mailto:chcamargo@ial.sp.gov.br)