

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

**IMPLICAÇÕES DA UTILIZAÇÃO DE PARÂMETROS HUMANOS NA
DETECÇÃO DO GENE *mecA* EM *Staphylococcus* spp. ISOLADOS DE
MASTITE BOVINA E SEUS IMPACTOS NA PREDIÇÃO DA RESISTÊNCIA
AOS BETA-LACTÂMICOS EM AMBIENTES DE PRODUÇÃO LEITEIRA**

DAYANNE ARAÚJO DE MELO

2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

DISSERTAÇÃO

DAYANNE ARAÚJO DE MELO

*Sob a orientação da Professora
Miliane Moreira Soares de Souza
e Co-orientação da Professora
Irene da Silva Coelho*

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção
do grau de **Mestre em**
Ciências, no Curso de Pós-
Graduação em Ciências
Veterinárias, Área de
Concentração em Sanidade
Animal

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2013

636.2

M528i

T

Melo, Dayanne Araújo de, 1987-
Implicações da utilização de parâmetros humanos na detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina e seus impactos na predição da resistência aos beta-lactâmicos em ambientes de produção leiteira / Dayanne Araújo de Melo - 2013.

63 f. : il.

Orientador: Miliane Moreira Soares de Souza.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 25-33.

1. Bovino - Doenças - Teses. 2. Mastite - Teses. 3. Stafilococos áureos - Teses. 4. Bactérias - Teses. 5. Antibióticos em medicina veterinária - Teses. I. Souza, Miliane Moreira Soares de, 1970-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

Bibliotecário: _____

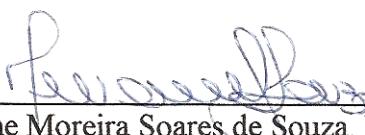
Data: ___/___/___

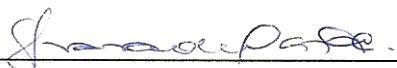
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

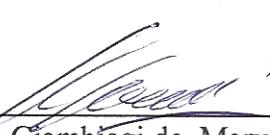
DAYANNE ARAÚJO DE MELO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Sanidade Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/02/2013.


Miliane Moreira Soares de Souza. Ph.D. UFRRJ
(Orientador)


Shana Mattos de Oliveira Coelho. Dsc. UFRRJ


Márcia Giambiagi de Marval. Dsc. UFRJ

*Dedico este trabalho a minha família, que
não mediu esforços e que sempre me
apoiou na realização deste trabalho. E aos
amigos que tornaram essa jornada mais
emocionante!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conduzir os meus caminhos de uma forma muito especial, me guiando, me guardando e colocando na minha vida amigos mais chegados que irmãos! Senhor tenha sempre liberdade para conduzir os meus caminhos, pois a sua vontade é boa, agradável e perfeita! Obrigada Meu Deus!

Aos meus familiares pela confiança torcida e amor incondicional sempre.

Ao meu noivo, Bruno Duarte, por sempre acreditar no meu potencial, mesmo nos momentos em que eu mesma tinha dúvidas.

A professora Miliane Moreira Soares de Souza pela confiança, dedicação e por me ensinar que professor não é aquele que apenas ensina, mas sim aquele que ajuda a formar o caráter das pessoas!

A professora Irene da Silva Coelho por todo carinho e empenho ao longo de todo este processo! Conte sempre comigo!

A professora Shana de Mattos de Oliveira Coelho por todo apoio, torcida e colaboração!

Louvo a Deus pela vida de cada uma de vocês!!!

A amiga Bianca Soares, minha companheira de mestrado, com a qual sempre pude e posso contar. Obrigada pela sua companhia e dedicação nas madrugadas de extração, e por me ajudar na “informática”!!!

A amiga Tatiani Abreu de Alencar pelo carinho, dedicação, conselhos, amizade e por alegrar os meus dias!!!

A amiga Cássia Couto por me ouvir quando eu estava falando sozinha na BIOMOL, pela torcida e apoio!!

E a todos os companheiros do LABAC-VET, pela dedicação, empenho e companheirismo.

Deus abençoe rica e abundantemente cada um de vocês!!!

A minha companheira de todas as horas, minha amiga e irmã Maristela Peckle, que me acompanha desde o princípio da Graduação, um exemplo de dedicação e disciplina. Que Deus continue te iluminando!!!

A todos os veículos automobilísticos que me foram confiados para a realização deste trabalho!!! Nunca dirigi tanto na minha vida!!!

Ao Curso de PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da UFRRJ, e aos funcionários, pelas condições que recebemos para trabalhar e estudar. Em especial ao professor e coordenador José Luis Fernando Luque Alejos sempre disposto a nos ouvir e auxiliar no que precisamos.

Agradeço ao CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO (Cnpq) e a COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR (CAPES) pela bolsa de estudos e patrocínios agraciados

durante este doutorado. E a FUNDAÇÃO CARLOS CHAGAS FILHO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (FAPERJ) pelo apoio em equipamentos utilizados no Laboratório de Biologia Molecular e em projetos que nos foram contemplados.

Enfim, a todos que direta e indiretamente contribuíram para conclusão deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

MELO, DAYANNE ARAÚJO. **Implicações da utilização de parâmetros humanos na detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina e seus impactos na predição da resistência aos beta-lactâmicos em ambientes de produção leiteira.**63 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

Palavras-chave: resistência aos beta-lactâmicos, mastite bovina e *mecA*.

Staphylococcus aureus apresenta um alto nível de resistência antimicrobiana, especialmente aos beta-lactâmicos, o que favorece a sua persistência no rebanho. A detecção do gene *mecA* é considerado uma predição desta resistência. No entanto, evidências nas pesquisas, revelam que a detecção do gene *mecA* não desempenha um papel significativo em relação a isolados de estafilococos de origem bovina. O presente trabalho foi realizado para investigar a presença de um homólogo, *mecA_{LGA251}* e para estudar as regiões conservadas do gene *mecA*, a fim de desenvolver *primers* mais específicos. A amostragem compreende 38 *S. aureus* isolados a partir do leite (bovino), dois *Staphylococcus* coagulase-negativo (ECN) de mãos e narinas de ordenhadores, e também dois isolados de *S. sciuri* e um *S. lentus*, isolados de cavalos. Uma cepa padrão ATCC 43300 isolada de humano foi utilizada como controle. A detecção fenotípica da resistência à meticilina foi realizada através das técnicas de Ágar “screen” com oxacilina e difusão em disco simples com cefoxitina. Foram realizadas PCRs para detecção dos genes *mecA* e *mecA_{LGA251}*. Foi encontrada resistência à oxacilina em 20 isolados de *S. aureus* e em cinco ECN nos ensaios fenotípicos, porém somente nos isolados do ECN, de origem humana e de cavalo, o gene *mecA* foi detectado. Isolados de bovinos *mecA*-negativos também deram negativo para gene *mecA_{LGA251}*. A elaboração de *primers*, baseada em sequências de diferentes regiões conservadas do gene *mecA* foi realizada em duas etapas distintas. Na primeira etapa, os *primers* foram sintetizados com base nas sequências de nucleotídeos do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. (HE681097) de origem humana. Só foi observada a amplificação com estes *primers* em isolados oriundos de ordenhadores e de cavalos, porém nos isolados de origem bovina, foi encontrado resultado positivo apenas para os *primers* *mecAint1*. Com os *primers* definidos na segunda etapa, baseados na seqüência do gene *mecA* de *S. sciuri* (AY820253) de origem bovina, foi possível a amplificação somente nos isolados provenientes de vacas leiteiras. Através da comparação da sequência do gene *mecA*, considerando as diferentes origens, bovina, humana e de cavalos, observou-se diferenças pontuais, porém, significativas nas sequências de nucleotídeos da região de anelamento do *primer* elaborado por Murakami et al. (1991), o que pode levar à falha de detecção do gene *mecA* em isolados de bovinos. Também foi analisada a presença de genes reguladores do sistema *mec*, não sendo possível esta detecção em isolados de origem bovina. Portanto, mais estudos são necessários para entender melhor como esse mecanismo funciona para estes isolados.

ABSTRACT

MELO, Dayanne Araújo. **Implications of the use of human parameters for the *mecA* gene detection to predict beta-lactam resistance in bovine *Staphylococcus* spp. isolated from mastitis** 63 p. Dissertation (Master in Veterinary Science). Veterinary Institute, Departament of Animal Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

Keywords: antimicrobial resistance, bovine mastitis, *mecA* gene.

Staphylococcus aureus high antimicrobial resistance level, especially to beta-lactams, favors its persistence in herd environment. The detection of the *mecA* gene is considered a prediction of this resistance. Otherwise, research evidence does not support that *mecA* gene plays such a significant role concerning to bovine staphylococci isolates. The present work was carried out to investigate the presence of a homologue, *mecA_{LGA251}* and to study the conserved regions in *mecA* gene in order to develop a more specific primer. Sampling comprises 38 *S. aureus* from milk (bovine), two Coagulase-Negative Staphylococcus (CNS) from milker's hands and noses, and also two *S. sciuri* and one *S. lentus* from horses. A human standard strain (ATCC43300) was used as control. Phenotypic methicillin-resistance detection was carried out through oxacillin agar-screening and cefoxitin disk-diffusion tests. PCR were carried out to detect *mecA* and *mecA_{LGA251}*. Although, twenty isolates of *S. aureus* and five CNS were found oxacillin-resistant at the phenotypical assays, only the CNS isolates, from human and horse origin, tested positive for *mecA* gene. Bovine *mecA*-negative isolates also tested negative for *mecA_{LGA251}* gene. A two-step procedure for primers design took in account sequences of distinct conserved regions in the *mecA* gene. In the first step, the newly synthesized primers were based on the nucleotide sequences of a human *Staphylococcus* spp. *mecA* gene (HE681097). Those primers were successful in amplifying *mecA* gene segment of human and horse *Staphylococcus* but mostly failed in bovine strains that tested positive only for the first internal segment set primers (*mecAint1*). Otherwise, the second-step set primers based on sequence of bovine *S. sciuri* *mecA* gene (AY820253) only yielded *mecA* gene segments for bovine strains. Comparison of the assembled contigs of *mecA* gene, from bovine, human and horse origins, displayed punctual but as far as we can see, significant differences in the nucleotide sequences, emphasizing the primer annealing site established by Murakami et al. (1991), what can lead to the *mecA* gene detection impairment in bovine isolates. It was also analyzed the occurrence of the regulatory genes of *mec* system, not detected in bovine isolates. Therefore, further studies are necessary to better understand how this mechanism works in these isolates.

LISTA DE ABREVIAÇÕES

AMH=Ágar Muller Hinton
BHI = Infuso Cérebro Coração
CA-MRSA- *Staphylococcus aureus* meticilina resistente associado a comunidade
CCS = Contagem de Células Somáticas
ccr: “*Cassete Chromossome Recombinases*”
CLSI: “*Clinical and Laboratory Standards Institute*”
CMT = “*California Mastitis Test*”
DNA = ácido desoxirribonucléico
dNTP= Desorribonucleotídeo trifosfatado
ECN: Estafilococos Coagulase Negativos
ECP: Estafilococos Coagulase Positivos
HÁ-MRSA- *Staphylococcus aureus* meticilina resistente associado a hospitais
h = horas
H₂O = Água
IS431: ilha de patogenicidade 431
LA-MRSA- *Staphylococcus aureus* meticilina resistente “livestock associated”
mg= Miligrama
min.= Minuto
mL = Mililitros
mM = Milimolar
mm = milímetros
MRSA = “*Methicillin resistant Staphylococcus aureus*” - *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina
MVF: Agar Manitol Vermelho de Fenol
NaCl = Cloreto de sódio
ng= Nanogramas
nm=nanômetro
pb = pares de base
PBP = “*Penicillin Binding Protein*” - Proteína Ligadora de Penicilina
PCR = “*Polymerase Chain Reaction*” - reação em cadeia de polimerase
PFGE = Eletroforese em Gel de Campo Pulsado
pH = potencial hidrogeniônico
rpm = rotação por minuto
SCCmec: cassete cromossômico de *mec* estafilocócico
seg.= Segundo
U = unidades
V= Voltagem
µg = Micrograma
µL= Microlitro
°C = Graus Celsius

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema ilustrando a sobreposição dos <i>primers</i> elaborados baseados em sequências do gene <i>mecA</i> de <i>Staphylococcus</i> spp., depositadas no banco de dados do NCBI.	13
Figura 2. Esquema ilustrando a sobreposição dos <i>primers</i> elaborados baseados na sequência do gene <i>mecA</i> de <i>Staphylococcus sciuri</i> , depositada no banco de dados do NCBI.	14
Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 1,5 % dos produtos de amplificação do gene <i>mecA</i> (533 pb).	16
Figura 4. Eletroforese em gel de agarose 1,5 % dos produtos da amplificação do gene <i>mecA</i> utilizando os pares de <i>primers</i> (mecAantes/641 pb; mecAnt1/689 pb, mecAint2/669 pb e mecApos/631 pb).	17
Figura 5. Eletroforese em gel de agarose de 1,5% dos produtos da amplificação do gene <i>mecA</i> considerando os diferentes pares de <i>primers</i> (mecSciuriAntes/500 pb, mecSciuriInt/809 pb e mecSciuriPos/417 pb).	18
Figura 6. Dendograma baseado na sequência do gene <i>mecA</i> de <i>Staphylococcus</i> spp. provenientes de diferentes espécies hospedeiras.	21

ÍNDICE DE QUADROS

	Pág
Quadro 1. <i>Primers</i> e ciclos empregados para identificação de espécies de <i>Staphylococcus</i> spp.	11
Quadro 2. <i>Primers</i> e ciclos empregados para a amplificação dos genes de resistência	12
Quadro 3. <i>Primers</i> elaborados e ciclos empregados para a amplificação do gene <i>mecA</i>	13
Quadro 4. Sequência de <i>primers</i> descritos na literatura para a detecção do gene <i>mecA</i>	22

ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Perfil dos testes fenotípicos de resistência aos beta-lactâmicos e detecção do gene de <i>mecA</i> .	15
Tabela 2. Amplificação do gene <i>mecA</i> utilizando <i>primers</i> elaborados com base na sequência do gene <i>mecA</i> de <i>Staphylococcus</i> spp. disponíveis no banco de dados do NCBI.	17
Tabela 3. Sequências de <i>mecA</i> de maior identidade obtidas através do algoritmo Blastn do segmento de <i>mecA</i> de isolados de <i>Staphylococcus</i> oriundos do leite.	18
Tabela 4. Amplificação do gene <i>mecA</i> utilizando <i>primers</i> elaborados com base na sequência do gene <i>mecA</i> de <i>Staphylococcus sciuri</i> de origem bovina.	19
Tabela 5. Perfil de resistência fenogenotípica de isolados de <i>Staphylococcus sciuri</i> oriundos de equinos.	20
Tabela 6. Sequências do gene <i>mecA</i> de <i>Staphylococcus</i> spp. provenientes de diferentes hospedeiros selecionados do NCBI.	21
Tabela 7. Amplificação dos genes do sistema regulatório <i>mec</i>	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	Aspectos da Pecuária Leiteira	2
2.2	Importância do <i>Staphylococcus</i> spp. na Etiopatogenia da mastite	3
2.3	Resistência aos beta-lactâmicos	4
2.4	MRSA (<i>Staphylococcus aureus</i> meticilinina resistente): um breve histórico	6
2.5	Questões pertinentes	8
3	OBJETIVOS	9
4	MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1	AMOSTRAGEM	10
4.2	Caracterização Fenotípica das espécies de <i>Staphylocococcus</i> spp.	10
4.3	Caracterização Genotípica das espécies de <i>Staphylocococcus</i> spp.	10
4.3.1.	Extração do DNA total bacteriano	10
4.3.2.	Amplificação dos genes através da técnica de PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	11
4.4	Detecção fenotípica da resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos	11
4.5	Detecção de genes de resistência à oxacilina de <i>Staphylococcus</i> spp.	12
4.6	Elaboração de novos <i>primers</i> para a amplificação do gene <i>mecA</i>	12
4.7	Elaboração dos perfis genéticos	14
4.8	Sequenciamento e análise das sequências do gene <i>mecA</i>	14
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
6	CONCLUSÃO	24
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
8	ANEXOS	34

1. INTRODUÇÃO

A importância da atividade leiteira para o País é incontestável, tanto para a economia como na geração de empregos de acordo com o IBGE/Censo Agropecuário (2006). Apesar da importância desta atividade no cenário nacional, é perceptível que a maioria dos estabelecimentos rurais produz pouco leite, e um percentual menor é o responsável pela maior parte da produção nacional.

Dentre os fatores que influenciam diretamente na composição e consequentemente na qualidade do leite, podemos destacar a inflamação da glândula mamária, mastite, cuja etiologia pode ser multifatorial (FONSECA & SANTOS, 2000). Sendo a mais comum a infeciosa ou bacteriana.

Como principais prejuízos associados às mastites, a queda da produção é o principal prejuízo imediato, podendo acarretar a perda de tecido mamário (fibrose) e até a morte da vaca acometida (PHILPOT & NICKERSON, 1991).

O grupo bacteriano de maior importância envolvido na etiopatogenia da mastite é o gênero *Staphylococcus*, que apresenta uma relação de comensalismo com o hospedeiro, estando presente na pele e algumas mucosas de forma equilibrada, sem causar danos. No entanto adquirem potencial patogênico se tiverem acesso aos tecidos pelo rompimento da barreira cutânea, através de microfissuras no teto da vaca, causadas por processos traumáticos, sendo microrganismos essencialmente oportunistas (CUNHA et al., 2002).

A avaliação da resistência estafilocócica aos beta-lactâmicos é avaliada por um marcador de resistência cruzada com todos os antimicrobianos desta classe, a oxacilina, e tal resistência está associada à alteração do sítio de ação do antibiótico pela produção de uma proteína ligante de penicilina adicional (PBP2a ou PBP2') de baixa afinidade, codificada pelo gene *mecA*. A expressão fenotípica dessa resistência é usualmente heterogênea (JAPONI et al., 2003), sendo a detecção do gene *mecA* o padrão ouro para confirmação de isolados resistentes.

Este gene está localizado em um elemento genético móvel, denominado “cassete cromossômico estafilocócico de *mec*” (*SCCmec*), que é composto por diversos elementos genéticos essenciais: o complexo *mec*, composto pela ilha de patogenicidade *IS431*, os genes *mecA* e seus reguladores *mecI* e *mecRI*, e o complexo *ccr* (*Cassete Chromossome Recombinases*), caracterizado pela presença de genes que codificam recombinases (ROSATO et al., 2003; PETINAKI et al., 2001).

Nos últimos anos, a literatura tem reportado que não tem sido encontrado um alto nível de correlação entre a detecção genotípica e o fenótipo de resistência. Esta divergência pode estar relacionada a possíveis homologias, como *mecA_{LGA251}* (CUNY et al., 2011), descrito em casos de mastite bovina e mais recentemente em seres humanos ambos no Reino Unido (SHORE et al., 2011; GARCIA et al., 2011), aliado a utilização de *primers* baseados em sequências humanas para a detecção do gene *mecA* em isolados de origem animal.

O presente estudo considera que a multiplicidade de fatores associados à resistência aos β-lactâmicos, em especial à oxacilina e à cefoxitina, requer uma investigação minuciosa que inclua a detecção de diferentes marcadores genéticos de resistência para interpretar de forma correta o fenótipo de heteroresistência expresso por determinados isolados de *Staphylococcus* spp.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos da Pecuária Leiteira Nacional

A importância da atividade leiteira para o País é incontestável, tanto para a economia como na geração de empregos. O setor primário envolve cerca de cinco milhões de pessoas, considerando, em média, três pessoas trabalhando na produção leiteira e os produtores, que segundo o IBGE/Censo Agropecuário (2006) somam 1,35 milhões. O valor bruto da produção de leite, em 2010, atingiu aproximadamente R\$ 23 milhões, ajudando a movimentar a economia de pequenas e médias cidades (EMBRAPA-Gado de Leite 2012).

Avaliando a renda líquida dos estabelecimentos rurais, as cadeias produtivas e as classes sociais, o leite é o único produto cuja renda líquida está dividida igualmente nas diferentes classes, logo qualquer tipo de incentivo feito para a produção do mesmo, irá atingir desde o pequeno ao grande produtor, conforme citado por LOPES 2011.

De acordo com o Censo Agropecuário do IBGE, no Brasil existem aproximadamente 5,2 milhões de estabelecimentos rurais e em 25% deles ocorre a produção de leite. O maior percentual de propriedades produtoras de leite em relação ao número total de estabelecimentos rurais ocorre nas Regiões Sul (41%), Centro-Oeste (39%) e Sudeste (33%). Nas regiões Norte (18%) e Nordeste (16%), esta correlação é bastante inferior. Devido a significativa produção do Estado de Minas Gerais, maior produtor do país, a região Sudeste destaca-se como a maior produtora, com 10,9 bilhões de litros em 2011 (EMBRAPA-Gado de Leite 2012).

Apesar da importância desta atividade no cenário nacional, é perceptível que a maioria dos estabelecimentos rurais produz pouco leite, e um percentual menor é o responsável pela maior parte da produção nacional. Os estabelecimentos com produção diária inferior a 50 litros representam 79,7% do total e a participação em relação à quantidade produzida é de 25,9% do volume brasileiro. A maior parcela do leite brasileiro provém de sistemas com produção entre 50 e 200 litros por dia e as propriedades com volumes maiores, acima de 200 litros/dia, representam 3,2% do total de produtores de leite do País e 35% do volume nacional (EMBRAPA-Gado de Leite 2012).

No País, verifica-se a existência de um grande número de estabelecimentos que desenvolvem a atividade leiteira em condições ainda precárias. Os pequenos produtores praticam um tipo de exploração aquém da expectativa de um sistema de produção eficiente e sustentável, gerando uma significativa restrição do setor, com reflexos na indústria de lácteos, dependente de matéria-prima de qualidade, para sua modernização e competitividade diante das exigências do mercado global (EMBRAPA-Gado de Leite 2012).

Para se obter uma matéria prima de qualidade, diferentes aspectos devem ser considerados, como idade, raça, estágio de lactação, genética, procedimento de amostragem do leite, doenças e nutrição, fatores que influenciam diretamente na composição do leite (EMBRAPA-Gado de Leite 2012).

Entre os fatores sanitários, destaca-se a inflamação da glândula mamária, mastite, cuja etiologia pode ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica e mais frequentemente, infecciosa, causadora dos maiores prejuízos econômicos e produtivos aos rebanhos leiteiros em todo o mundo (FONSECA & SANTOS, 2000).

A mastite bacteriana pode ser de duas origens:

- Ambiental, a infecção ocorre no período entre ordenhas. Os principais agentes envolvidos são patógenos ambientais oportunistas que estão presentes no habitat normal dos animais, em locais que apresentam esterco, urina, barro e camas orgânicas, com destaque para a espécie *Escherichia coli* (BEAUDEAU et al., 2002).

- Contagiosa, a infecção ocorre durante a ordenha (SVILAND & WAAGE, 2002; SOMMERHÄUSER et al., 2003), sendo causada por patógenos cujo habitat preferencial é o interior da glândula mamária e a superfície da pele dos tetos. Os agentes mais envolvidos são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. (BRITO & RITO, 2000).

E apresenta duas formas:

- Clínica, onde se observa a presença de sinais evidentes de inflamação como edema, rubor, aumento de temperatura, endurecimento, dor e pus, além de alteração das características do leite como a presença de grumos (BRADLEY et al., 2002).

- Subclínica, na qual não ocorrem mudanças visíveis no aspecto do leite ou do úbere (PERSSON & WALLER et al., 2003). Caracterizando-se por alterações na composição do leite, tais como aumento na contagem de células somáticas (CCS), dos teores de cloro e sódio, e dos teores de proteínas séricas; além da diminuição nos teores de caseína, lactose, gordura e cálcio do leite (GIANOLA et al., 2004); fazendo com que haja menor rendimento na produção de seus derivados, além de diminuir o tempo de prateleira do produto (BRADLEY et al., 2002). Estudos revelaram que a redução na produção do leite é decorrente as alterações nas células epiteliais secretoras e na permeabilidade do alvéolo secretor durante a infecção (FONSECA & SANTOS, 2000; COSTA et al., 2000).

Como principais prejuízos associados às mastites, a queda da produção é o principal prejuízo imediato, podendo acarretar a perda de tecido mamário (fibrose) e até a morte da vaca acometida. As principais perdas decorrentes das mastites (entre 70 e 80% das perdas totais) são causadas pelas mastites subclínicas, que embora não tenham sintomas visíveis (inflamação) diminuem a produção do leite. Já os casos clínicos provocam os restantes 20 a 30% das perdas (PHILPOT & NICKERSON, 1991).

2.2. Importância do *Staphylococcus* spp. na Etiopatogenia da Mastite

O gênero *Staphylococcus* está dividido em dois grupos com base na produção da enzima coagulase:

- *Staphylococcus* coagulase-positivos (ECPs), representados por *S. aureus*, *S. delphini*, *S. intermedius*, *S. schleiferi coagulans* e algumas cepas de *S. hyicus*, sendo *S. aureus* a espécie mais patogênica do gênero e associada a um amplo espectro de doenças, desde lesões cutâneas superficiais até severas infecções sistêmicas, no homem e em animais (SAKAI et al., 2004). *Staphylococcus aureus*, o principal patógeno deste grupo, possui a capacidade de desenvolver resistência a diferentes antibióticos utilizados na rotina clínica (PANTOSTI et al., 2007), o que torna suas infecções mais difíceis de controlar e de considerável gravidade, podendo levar ao óbito.

- *Staphylococcus* coagulase-negativos (ECNs) podem ser divididos em dois grupos dependendo da sensibilidade a novobiocina. Os *Staphylococcus* sensíveis a novobiocina incluem os *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. lugdunensis* e os resistentes a novobiocina são as espécies *S. saprophyticus* e *S. xylosus* (HEILMANN & PETERS, 2000; vonEIFF et al., 2004).

Durante muitos anos apenas os ECPs eram implicados como patogênicos, enquanto os ECNs eram ditos saprófitas e raramente patogênicos. Nos últimos anos, a importância dos estafilococos coagulase-negativos implicados na mastite bovina tem

aumentado, devido ao fato de comporem a microbiota saprófita da pele e da mucosa destes animais, ordenhadores, além de estarem presentes no ambiente no qual o animal está inserido (SOARES et al., 2008).

O gênero *Staphylococcus* apresenta uma relação de comensalismo com o hospedeiro, estando presente na pele e algumas mucosas de forma equilibrada, sem causar danos. No entanto adquirem potencial patogênico se tiverem acesso aos tecidos pelo rompimento da barreira cutânea, através de microfissuras no teto da vaca, causadas por processos traumáticos, sendo microrganismos essencialmente oportunistas, uma vez que prevalecem de inúmeras situações orgânicas para produzir graves infecções (CUNHA et al., 2002).

Os ECPs, após a entrada na glândula mamária, podem levar a formação de microabcessos, que ao romper-se num momento de maior fragilidade do sistema imunológico do animal, liberam o microrganismo no interior da glândula mamária, caracterizando as infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas e com baixas taxas de cura que são próprias destes agentes (SABOUR et al., 2004). *Staphylococcus* spp. apresentam elevado risco potencial de bactеремia em animais imunocomprometidos (HUDOME & FISHER, 2001; CUNHA et al., 2002).

BURTON & ERSKINE (2003) avaliaram diversos trabalhos sobre mecanismos de controle das mastites e concluíram que as células de defesa (neutrófilos) e os anticorpos são as principais barreiras de defesa do úbere contra infecções bacterianas. Esta resposta varia em intensidade dentre as vacas, havendo aquelas que reagem à infecção, podendo se curar, enquanto outras não têm, ou possuem uma resposta débil, apresentando casos prolongados, recidivas e casos mais graves. Quando estes sistemas falham ou são insuficientes surgem as mastites clínicas.

Durante a última década, vários estudos moleculares têm descrito a estrutura e a diversidade da população de *S. aureus* causadores de mastite bovina (HASMAN et al., 2010; IKAWATY et al. 2009; SMYTH et al., 2009; JØRGENSEN et al., 2005; KAPUR et al., 1995).

OLSON e colaboradores (2007), revelaram através do sequenciamento e análise do genoma de *S.aureus* de bovinos, associados a mastite, e de humanos, que clones bovinos divergiram de um ancestral comum parecido com o *S. aureus* de humanos, e que estes, através da aquisição e/ou deleção de genes entre os *S.aureus* destas diferentes origens, otimizaram a patogênese da mastite no gado.

Em estudo semelhante realizado por SAKWINSKA e colaboradores (2011), de *S. aureus* oriundos de mastite bovina na França e Suíça, foi detectada a presença de quatro grandes grupos de *S. aureus*. A predominância das linhagens C97 e C151 era esperada, uma vez que estes grupos são adaptados a bovinos. Por outro lado, a presença de C20 e C8 não era esperada, este fato requer estudos adicionais sobre os seus mecanismos de adaptação para estes animais, bem como sua transmissão.

2.3. Resistência aos beta-lactâmicos

O uso de antibióticos em fazendas leiteiras, bem como em outros sistemas de produção de alimentos de origem animal é uma preocupação importante no surgimento de bactérias resistentes (PIDDOCK et al., 1996). Estes são amplamente utilizados na indústria leiteira para tratar infecções altamente prevalentes, como a mastite subclínica, e como medida preventiva durante a terapia da vaca seca. Logo, o monitoramento do surgimento de patógenos resistentes em reservatórios animais é essencial para um maior controle, principalmente para bactérias que apresentam potencial zoonótico.

A avaliação da resistência estafilocócica à oxacilina representa um marcador de resistência cruzada com todos os antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos, uma vez que tal resistência está associada à alteração do sítio de ação do antibiótico pela produção de uma proteína ligante de penicilina adicional (PBP2a ou PBP2') de baixa afinidade, codificada pelo gene *mecA*, que está ausente em isolados de *Staphylococcus* spp. sensíveis à oxacilina (PETINAKI et al., 2001). No entanto, a expressão fenotípica dessa resistência é usualmente heterogênea (JAPONI et al., 2003), sendo a detecção do gene *mecA* considerada pelo Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2008, CLSI, 2012), como método padrão ouro para confirmação de isolados oxacilina resistentes.

O gene *mecA* está localizado em um elemento genético móvel, denominado “cassete cromossômico estafilocócico de *mec*” (*SCCmec*), que pode ser transferido via plasmídeo, transposons ou elementos genéticos móveis, e se integrar a ilhas de patogenicidade no genoma bacteriano (KATAYAMA et al., 2000). A literatura atual relata a prevalência de diferentes tipos de *SCCmec* em isolados estafilocócicos de origem humana (ITO et al., 2001), mas a prevalência deste sistema cromossômico em isolados provenientes de animais tem sido relatada em trabalhos recentes (JANSEN et al., 2009).

O *SCCmec* é composto por diversos elementos genéticos essenciais: o complexo *mec*, composto pela ilha de patogenicidade *IS431*, os genes *mecA* e seus reguladores *mecI* e *mecRI*, e o complexo *ccr* (*Cassete Chromosome Recombinases*), caracterizado pela presença de genes que codificam recombinases. Esses complexos genéticos possuem terminais invertidos que podem ser reconhecidos pelas recombinases tanto do complexo *ccr* quanto pelo gene *mec*. Atualmente existem 11 tipos de elementos *SCCmec*, originados da recombinação de oito diferentes complexo de genes *ccr* e 5 diferentes genes do complexo *mec* (International Working Group on the *Staphylococcal Cassette Chromosome elements*, 2012).

Nos últimos anos, não tem sido reportado um alto nível de correlação entre a detecção genotípica e o fenótipo de resistência a oxacilina em isolados de origem animal (MENDONÇA 2012; PEREIRA 2010; SOARES 2010; COELHO 2008). Entre os fatores que podem explicar a percebida ausência de correlação entre a observada resistência fenotípica a oxacilina, e consequentemente, aos beta-lactâmicos, e a não detecção do gene *mecA* estão uma possível instabilidade genética de espécies estafilocócicas *mecA* positivas que poderiam perder o gene resultando em subpopulações sensíveis ao antibiótico (SAKOULAS et al., 2001). A literatura aponta ainda para o fato de que podem ocorrer mudanças nos genes do sistema regulatório *mec* desencadeadas por mutações, fagos, plasmídeos e transposons gerando perfis genéticos diferenciados. Esta diversidade de classes do complexo *mec* pode explicar, em parte, a diversidade de perfis encontrados, e aponta para a necessidade de sequenciamento genético dos isolados de *Staphylococcus* spp *mecA* positivos, para se traçar uma correlação efetiva entre o genótipo e o fenótipo de resistência à oxacilina (PEREIRA, 2010; SOARES, 2010; COELHO, 2008).

Atualmente, tem sido investigado um homólogo do gene *mecA*, denominado *mecA_{LGA251}* (CUNY et al., 2011), descrito em casos de mastite bovina e mais recentemente em seres humanos ambos no Reino Unido (SHORE et al., 2011; GARCIA et al., 2011). Isolados oriundos de seres humanos com fenótipo de MRSA, negativos para *mecA* e positivos para *mecA_{LGA251}* foram encontrados na Inglaterra e na Dinamarca. Este homólogo do gene *mecA* não é detectado por PCR com primers descritos na literatura (MURAKAMI et al., 1991) para detecção de *mecA* (CUNY et al., 2011).

Em recente estudo desenvolvido por MENDONÇA et al. (2012) não foi possível a detecção do gene *mecA* em 250 isolados de *Staphylococcus* spp. estudados. No entanto, foram detectados quatro tipos de SCC*mec*, levando ao questionamento do pressuposto estabelecido de que todo MRSA deveria apresentar o gene *mecA* em seu cassete (ITO et al., 2004). Tais considerações apontam a complexidade de eventos compreendidos entre a detecção gênica e a expressão fenotípica. Dessa forma, isolados resistentes à oxacilina e cefoxitina que se apresentem negativos para *mecA*, devem ser submetidos ao PCR para *mecA_{LGA251}* (CUNY et al., 2011).

Esta divergência entre a análise fenotípica e genotípica pode estar relacionada ao fato de que os *primers* utilizados para a detecção do gene *mecA* foram elaborados com base em sequências de *Staphylococcus* spp. isolados a partir de espécimes humanos, o que tem dificultado a identificação deste gene em cepas obtidas em amostras clínicas de animais. Logo para uma maior correlação fenogenotípica da resistência a oxacilina em ciências veterinárias se faz necessária a utilização de *primers* construídos a partir de sequências do gene *mecA* obtidos a partir de estafilococos isolados de origem animal.

2.4. MRSA (*Staphylococcus aureus* meticilinina resistente): um breve histórico

A resistência a meticilina que indica uma resistência a todos os agentes betalactâmicos, foi primeiramente descrita em 1961, entre isolados de *Staphylococcus aureus* de infecções nosocomiais (JEVONS et al., 1961). O primeiro MRSA isolado de animais surgiu em 1972, detectado em leite mastítico de vacas (DEVRIESE et al., 1975). Desde então, diferentes espécies de animais domésticos têm sido implicadas como potenciais reservatórios de bactérias pertencentes a este gênero (BAPTISTE et al., 2005; VENGUST et al., 2006).

Esta resistência surgiu pela aquisição do gene *mecA* em *S. aureus* meticilina sensível (ENRIGH et al., 2002). Para explorar a possível origem e/ou reservatórios do gene *mecA* encontrado em *S. aureus*, mais de 200 isolados de 13 espécies diferentes do gênero *Staphylococcus* foram examinados e foi encontrado, em *S. sciuri* isolados de roedores e outros mamíferos, um homólogo do gene *mecA* que apresentava 80 % de identidade com o gene de *S. aureus* (COUTO et al., 1996). Outro homólogo *mecA* com 91% de identidade ao gene *mecA* de *S. aureus* foi encontrado em ECNs isolados de equinos (SCHNELLMANN et al., 2006).

Cepas de MRSA são tipificadas pela técnica de campo pulsado em gel de eletroforese (PFGE), considerada padrão ouro. Esta técnica possui maior poder discriminatório, e está baseada na purificação e clivagem do DNA cromossomal pela enzima de restrição *SmaI*, seguida de eletroforese em gel de agarose. Através dos resultados desta técnica é possível conhecer a distribuição das cepas de MRSA e elaborar estratégias destinadas ao controle da propagação destas (DEURENBERG et al., 2006).

O surgimento de cepas MRSA em diferentes ambientes acarretou o estabelecimento de nomenclaturas específicas. Cepas MRSA associadas a unidades de saúde são denominadas HA-MRSA, cujas infecções se tornaram frequentes a partir da década de 70, se tornado endêmicas em diversos países (DIECKEMA et al., 2002).

No final da década de 90, uma nova geração de MRSA, causador de infecções sanguíneas, surgiu repentinamente na comunidade, sendo denominada MRSA adquirida na comunidade (CA-MRSA). Estas cepas são capazes de causar infecções em jovens e indivíduos saudáveis, demonstrando uma diferenciada virulência e capacidade de propagação (DELEO et al., 2006). A presença da toxina Panton-Valentine (PVL) e

SCCmec dos tipos IV e V, tem sido associado a este tipo de MRSA (NAIMI et al., 2003; KLUYTMANS et al., 2006).

Atualmente, surgiu um MRSA colonizador frequente de populações animais, possivelmente favorecido pela ampla utilização de antibióticos, sendo denominado “livestock-associated MRSA” (LA-MRSA). Este tipo de MRSA surgiu primeiramente em porcos (KHANNA et al., 2008), mas também têm sido descrito em outros animais como: cães, cavalos, aves, gado, inclusive humanos (CUNY et al., 2008; HASMAN et al., 2010; HUBER et al., 2010; LOEFFLER & LLOYD, 2010).

LA-MRSA são resistentes a clivagem por *SmaI*, a enzima de restrição mais frequentemente utilizada para tipagem de *S. aureus* por PFGE (CHUNG et al., 2000), pela presença de uma metilação nos sítios de atuação da enzima de restrição (BENS et al., 2006). Este tipo de MRSA, no entanto, é tipificado por *spa*, baseado na sequência da região polimórfica X do gene da proteína A (*spa* A) de *S. aureus*. (VANDERHAEGHEN et al., 2010).

Dentre os tipos de LA-MRSA, o clone ST398, historicamente bastante raro em humanos, não deriva das linhagens mais comuns de MRSA e carreia *SCCmec* do tipo IV ou V, sendo este o mais frequente (MONECKE et al., 2011). Tal fato sugere a transferência de elementos genéticos entre CA-MRSA e LA-MRSA. Diferentemente do CA-MRSA, LA-MRSA ST398 geralmente não possuem os genes codificadores da toxina PVL. Exceções envolvem estirpes de infecções em seres humanos, que possivelmente adquiriram este gene de outro MRSA humano.

O LA-MRSA isolados de diferentes origens, geralmente são resistente aos marcadores, oxacilina e cefoxitina e demais beta-lactâmicos (HURBER et al., 2010). A literatura reporta também resistência a tetraciclinas, o que pode estar relacionado ao uso indiscriminado desta classe de antimicrobianos na indústria suína favorecendo sua emergência (MOODLEY et al., 2011).

Esta diversidade de cepas pode ser resultante da adaptação dos *S. aureus* a diferentes hospedeiros animais por mecanismos genéticos que permanecem desconhecidos (PANTOSTI et al., 2012).

A transferência de cepas de MRSA pode ocorrer entre animais e humanos bidirecionalmente (LEONARD et al., 2008). Estudos filogenéticos recentes revelaram que algumas linhagens de *S. aureus* isoladas de animais derivam de linhagens humanas e que nesta mudança de hospedeiros, estes microrganismos sofreram adaptações genéticas, perdendo fatores de virulência desnecessários no novo hospedeiro além de adquirirem características necessárias a colonização desse novo ambiente (PANTOSTI et al., 2012).

SUNG e colaboradores (2008) realizando estudos de *microarray* revelaram diferenças na frequência de genes específicos carreados por *S. aureus* de origem animal e de humana. Nos isolados animais, foi detectada uma baixa prevalência de genes que codificavam proteínas importantes no processo de evasão da resposta imune, especificamente humana (VAN WAMEL et al., 2006).

Neste contexto, além das cepas MRSA, mais virulentas e que representam maior ameaça, outras espécies de *Staphylococcus* meticilina-resistentes têm causado preocupação clínica significativa em todo o mundo, devido as poucas opções terapêuticas disponíveis. Estafilococos coagulase negativos resistente à meticilina (ECN-MR) têm surgido como os principais patógenos de bactérias nosocomiais associado a sepse e outras infecções (FALCONE et al., 2007; LYTTIKAINEN et al.; 2001; KREDIET et al.; 2001)

2.5. Questões pertinentes

Mediante ao exposto devemos considerar:

- A diversidade do gene *mecA* no gênero *Staphylococcus* considerando possíveis variações em sua composição nucleotídica nas diferentes espécies hospedeiras;
 - A detecção do gene *mecA* como padrão ouro para confirmação de isolados oxacilina resistentes;
 - A origem das sequências nucleotídias baseadas para síntese de *primers* para detecção de *mecA* e a sua real aplicação para detecção deste gene em isolados provenientes de diferentes hospedeiros;
 - A pesquisa de genes homólogos ao *mecA*;
- Sendo assim, o presente estudo considera que a multiplicidade de fatores associados à resistência aos β-lactâmicos, em especial a oxacilina e a cefoxitina, requer uma investigação minuciosa que inclua a detecção de diferentes marcadores genéticos de resistência para interpretar de forma correta o fenótipo de variabilidade da expressão fenotípica da resistência expresso nos testes fenotípicos por determinados isolados de *Staphylococcus* spp.

3. OBJETIVOS

- Avaliar a sensibilidade ao marcador de resistência, oxacilina em *Staphylococcus* spp. isolados a partir de mastite bovina para aprofundar a compreensão do real valor de sua detecção;
 - Detectar os genes do sistema regulatório *mec*;
 - Buscar correlação entre as análises genotípicas e fenotípicas de resistência antimicrobiana;
 - Detectar genes homólogos ao *mecA*;
 - Elaborar *primers* para a amplificação do gene *mecA* baseados em sequências deste gene depositadas no banco de dados NCBI;
 - Sequenciar representantes de cada perfil obtido a partir da detecção gênica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Amostragem

Para avaliar a resistência aos beta-lactâmicos e detecção do gene *mecA* foram utilizados 38 *Staphylococcus aureus* oriundos do leite e 2 isolados de ECN, oriundos da mão e material nasal de ordenhadores. Estas amostras foram originadas de propriedades localizadas na região Sul Fluminense do estado do Rio de Janeiro e foram coletadas por meio de ordenha manual e individual, observadas as normas de assepsia e antisepsia. Com o intuito de comparar as sequências gênicas, foram avaliados 3 isolados de ECN oriundos de amostras de equino, sendo 2 deles *S. sciuri*, e o outro *S. lentus*. As amostras de equino foram coletadas no Instituto de Biologia do Exército no Rio de Janeiro. As amostras foram colocadas em caixas isotérmicas com gelo, e encaminhadas e processadas no Laboratório de Bacteriologia Veterinária, do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. A cepa padrão de origem humana (ATCC 43300) foi utilizada como controle positivo nas análises fenotípicas e genotípicas.

4.2. Caracterização fenotípica das espécies de *Staphylococcus* spp.

Os *Staphylococcus* spp. foram previamente isolados e identificados fenotipicamente por MENDONÇA (2012) e COUTO (2013 *in press*), através da metodologia descrita por KONEMAN (2008), e estocados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) acrescido de 45 % de glicerol.

4.3. Caracterização genotípica das espécies de *Staphylococcus* spp.

Os isolados estudados foram reativados em Ágar sangue e posteriormente repicados em ágar Manitol Vermelho de Fenol, e submetidos a extração de DNA para análises genotípicas.

4.3.1. Extração do DNA total bacteriano

Para extração do DNA total, cada isolado foi cultivado em 5ml de Caldo BHI a temperatura ambiente por 12-16 horas a 150 rpm. Em seguida 1,5ml da cultura foi transferido para microtubos de 1,5 ml e centrifugado por 5 minutos a 1239g e o sobrenadante foi descartado, esta etapa repetiu-se três vezes. As células foram ressuspendidas em 600 µL de solução de extração (TrisHCl 200 mM pH 8,0; EDTA 25 mM pH 8,0; SDS 1%, NaCl 25 mM) e agitadas em Vortex, sendo incubadas a 65°C por 30 min. Após o tempo estipulado, os tubos foram resfriados a temperatura ambiente e foi adicionado 600 µL de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico [1-1(24:1)], seguido de uma homogeneização por 2 min e centrifugação a 14549g por 10 min. A fase superior foi transferida para um novo microtubo (aproximadamente 400 µL) e adicionado 2 volumes de etanol 100 % gelado, seguido de incubação a 20 °C por 2 ou 12 h para a precipitação do DNA. Posteriormente, os microtubos foram centrifugados a 14549g por 30 min, o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi lavado com etanol 70 %(aproximadamente 500 µL). Depois de seco a temperatura ambiente em uma capela de exaustão, os sedimentos foram ressuspensos em 30 µL de água ultrapura e armazenados a -20 °C.

Para quantificação do DNA total extraído, as amostras são aplicadas com 1 µL de SYBR Green (INVITROGEN) diluído no gel de agarose 0,8 % e submetidas à eletroforese. Após a corrida, o gel foi visualizado sob transiluminador ultra-violeta e documentado pela câmera fotográfica (SONY – Modelo DSC-HX1). A estimativa da concentração de DNA foi feita por comparação com o padrão de intensidade de banda do marcador Lambda (λ) (Promega®), nas concentrações de 25 e 50 ng e a qualidade determinada pela ausência de rastro ao longo do gel.

4.3.2. Amplificação dos genes através da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

As concentrações utilizadas em todas as reações de PCR foram Tampão 1X (10 mM Tris-HCl; 50 mM KCl, e 0,1% Triton X-100, 2,0 mM de MgCl₂; pH 9,0), 0,3 µM de cada primer, 0,2 mM de dNTP (FERMENTAS), 1 U de Dream Taq™ Green DNA Polimerase (FERMENTAS) e água mili-Q para completar um volume total de reação de 20 µL,) e cerca de 20 ng de DNA total.

Os fragmentos foram avaliados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, contendo corante SYBR Green (INVITROGEN) diluído, possibilitando a visualização dos amplicons no transiluminador ultra-violeta e documentação pela câmera fotográfica (SONY – Modelo DSC-HX1), utilizando marcador de peso molecular de 100 pb (FERMENTAS).

A caracterização genotípica foi realizada pela amplificação utilizando *primers* específicos para o gênero *Staphylococcus* (ZHANG et al., 2004), *Staphylococcus* coagulase positivos (KARAHAN & CETINKAYA, 2006), *S. aureus* (STRAUB et al., 1999), *S. sciuri* (YASUDA et al., 2002), *S. lentus* (YASUDA et al., 2002) (Quadro 1).

Quadro 1. *Primers* empregados para identificação de espécies de *Staphylococcus* spp.

Gene/Tamanho do fragmento	Espécie	Sequência dos primers (5'-3')	Ciclo*
16S rRNA (756pb)	<i>Staphylococcus</i> spp.	AAC TCT GTT ATT AGG GAA GAA CA CCA CCT TCC TCC GGT TTG TCA CC	1
Coa (Variável)	<i>Staphylococcus</i> coagulase positivos	ACG GAG TTA CAA AGG ACG AC AGC TCA GCC TTA ACG AGT AC	2
23S rDNA (930pb)	<i>S. aureus</i>	ATA GAG ATG CTG GTA CAG G GCT TCC GAT TGT TCG ATG C	3
nuc (279 pb)	<i>S. aureus</i>	GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC	4
16S rRNA (872 pb)	<i>S. sciuri</i>	GAA CCG CAT GGT TCA ATA G GAC TCT ATC TCT AGA GCG G	5
16S rRNA (872 pb)	<i>S. lentus</i>	GAA CCG CAT GGT TCA ATG T AAC TCT ATC TCT AGA GCG A	6

* 1. (94 °C 40 s, 64° C 1 min., 72 °C 1 min 12 s) x 30; 2. 94 °C 4 min (94 °C 1 min, 60 °C 1 min., 72 °C 1 min) x 30 e 72 °C 5 min; 3. 95°C 5 min (94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 1 min) x 30 e 72 °C 10 min; 4. 94 °C 5 min (94 °C 45 seg, 68 °C 45 seg, 72 °C 90 seg) x 30 e 72 °C 10 min 5. (94 °C 1 min, 55 °C 1 min., 72 °C 2 min) x 25 e 72 °C 5 min; 6.(94 °C 1 min, 55 °C 1 min., 72 °C 2 min) x 25 e 72 °C 5 min.

4.4. Detecção fenotípica da resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos

Os testes de detecção fenotípica da resistência foram executados conforme os padrões estabelecidos pelo Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2008; CLSI, 2012) e Center for Disease Control (2010) utilizando inóculo contendo 1,5 x 10⁶

células/mL ajustados segundo a escala 0,5 de McFarland. Foram selecionadas as técnicas de ágar “screen” com oxacilina e difusão em disco simples com cefoxitina.

Para a realização do ágar “screen”, os isolados de *Staphylococcus* spp. foram semeados na superfície do meio de cultura acrescido a uma concentração final de 6 µg/mL de oxacilina e após 24 horas de incubação a 37 °C, qualquer colônia crescida foi considerada resistente (CLSI, 2008).

O teste de difusão em disco foi realizado através da distribuição da suspensão bacteriana (0,1 mL) por toda a superfície das placas de ágar Mueller Hinton (Merck), onde foi depositado o disco de cefoxitina (30 µg). Após incubação por 18 horas a 35 °C, os diâmetros formados ao redor do depósito do fármaco, foram observados e medidos, em milímetros (CLSI, 2008).

4.5. Detecção de genes de resistência à oxacilina de *Staphylococcus* spp.

Foi realizada a técnica de PCR para amplificação dos genes: *mecA* (MURAKAMI et al.1991), *mecI* (LENCASTRE et al., 2002), *mecRI* (ROSATO et al., 2003) e *mecA_{LGA251}* (CUNY et al., 2011) (Quadro2).

Quadro 2. *Primers* empregados para a amplificação dos genes de resistência

Gene/Tamanho do fragmento	Primers	Ciclo*
<i>mecA</i> (533 pb)	AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C	1
<i>mecI</i> (209 pb)	ATC AAG ACT TGC ATT CAG GC GCG GTT TCA ATT CAC TTG TC	2
<i>mecRI</i> (234 pb)	CCA AAC CCG ACA ACT AC CGT GTC AGA TAC ATT TCG	3
<i>mecA_{LGA251}</i> (304 pb)	GCT CCT AAT GCT AAT GCA TAG CAA TAA TGA CTA CC	4

*1. (94 °C 1 min, 55 °C 1 min., 72 °C 1 min) x 30 e 72 °C 10min; 2. 94 °C 4 min (94 °C 30 seg, 53 °C for 30 seg, 72 °C for 1 min) x 30 e 72 °C 4 min. 3. 95 °C 2 min. (95 °C 1 min, 53 °C 1 min., 72 °C 1 min) x 30 e 72 °C 7 min.; 4. 95 °C 2 min. (94 °C 30 seg, 50 °C 30 seg, 72 °C 30 seg) x 30 e 72 °C 4 min.

4.6. Elaboração de novos *primers* para a amplificação do gene *mecA*

Foram elaborados *primers* com base nas sequências do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. disponíveis no banco de dados do NCBI (Genbank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (HE681097.1, FR753166.1 e AB425824.1) (Quadro 3, Figura 1), e de *Staphylococcus sciuri* (AY820253.1) (Quadro 3, Figura 2), através da utilização do Programa Primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu/>). Os *primers* foram elaborados de forma que as sequências nucleotídicas geradas por cada par de *primer* fossem sobrepostas, permitindo a detecção de todo o gene.

Quadro 3. *Primers* elaborados para a amplificação do gene *mecA*

Denominação do primer/	Primers	Tamanho do fragmento	Ciclo*
mecAposF mecAposR	GCA CTC GAA TTA GGC AGT AAG AA AGC AAC CAT CGT TAC GGA TT	631pb	1
mecAint1F mecAint1R	GGC TAT CGT GTC ACA ATC GTT TCA CCT TGT CCG TAA CCT GA	689pb	1
mecAint2F mecAint2R	TCC AGG AAT GCA GAA AGA CC TCA CCT GTT TGA GGG TGG A	669pb	1
mecAantesF mecAantesR	CAT ATC GTG AGC AAT GAA CTG A GGC CAA TTC CAC ATT GTT TC	641pb	1
mecSsciuriAntesF mecSsciuriAntesR	AGC CAT CGT GGT TGT AAT CAT CAA TGC CAA CTT CAT GTG CT	500pb	2
mecSsciuriIntF mecSsciuriIntR	CAG GCA TGC AGA AAA ATC AA TTG AGT CGA ACC AGG TGA TG	809pb	2
mecSsciuriPosF mecSsciuriPosR	AGG TTA TGG ACA AGG CGA AA AAA TCG TCA TAC ACT TTT CCA GA	417pb	2

*1. 95 °C 5 min (94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 1 min) x 30 e 72 °C 10 min; 2. 95 °C 5 min (94 °C 1 min, 50 °C 1 min, 72 °C 1 min) x 30 e 72 °C 10 min.

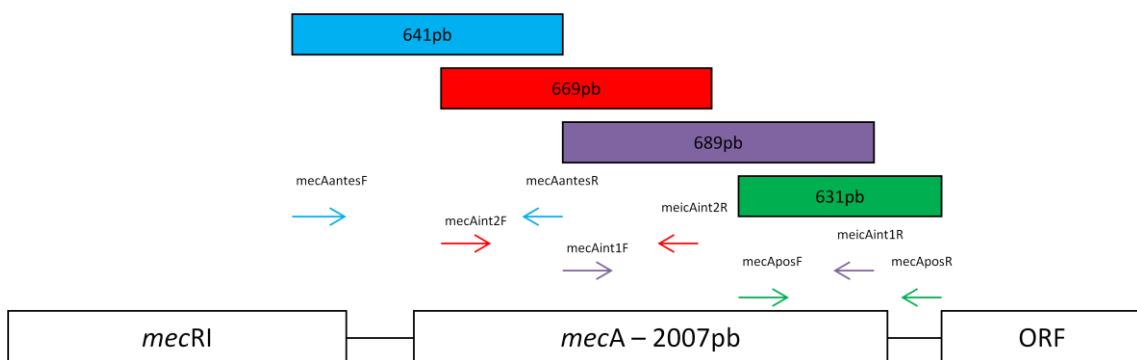


Figura 1. Esquema ilustrando a sobreposição dos *primers* elaborados baseados em sequências do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. (HE681097.1, FR753166.1 e AB425824.1).

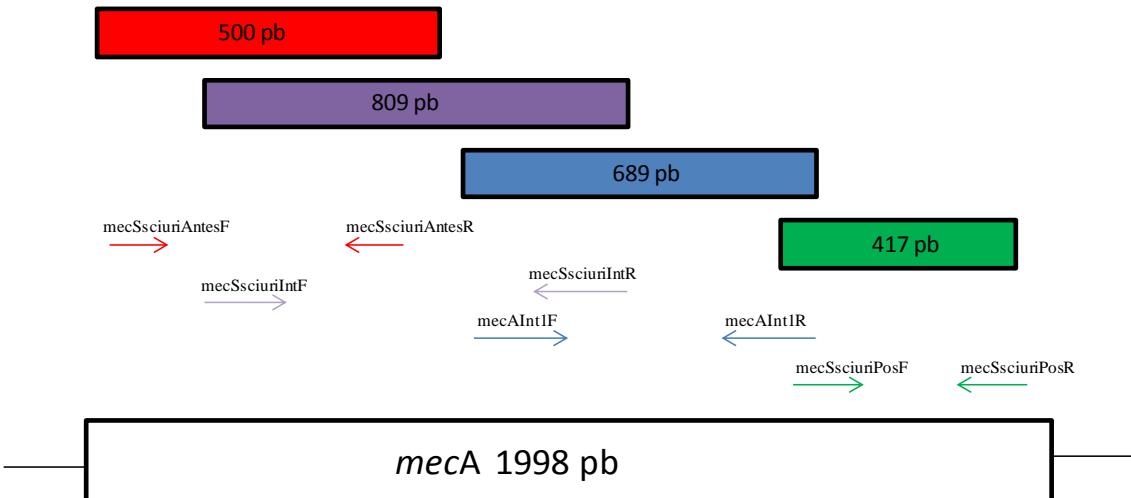


Figura 2. Esquema ilustrando a sobreposição dos *primers* elaborados baseados na sequência do gene *mecA* de *Staphylococcus sciuri*. (AY820253.1).

4.7. Elaboração dos perfis genéticos

Foi construída uma tabela de perfis correlacionando os resultados fenotípicos e genotípicos da detecção dos mecanismos de resistência a oxacilina estudados.

4.8. Sequenciamento e análise das sequências do gene *mecA*

Os produtos de PCR foram purificados utilizando a Exo-Sap (USB Corporation, Cleveland, Ohio), conforme recomendação do fabricante. Ambas as fitas foram seqüenciadas pela empresa Helixxa, Campinas para confirmação das seqüências e assegurar fidelidade.

As seqüências foram editadas utilizando o programa Bioedit (HALL et al., 1999) e foram comparadas com outras seqüências depositadas neste banco de dados do NCBI (GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) utilizando o algoritmo BLASTn (ALTSCHUL et al., 1997).

Estas foram importadas para o programa Mega versão 4.0 (KUMAR et al., 2004), e alinhadas utilizando o programa Clustal W (HIGGINS et al., 1994). Os múltiplos alinhamentos resultantes foram otimizados manualmente.

Com base nas seqüências editadas oriundas da amplificação de cada par de *primer* foi possível a montagem dos respectivos *contigs* do gene *mecA*, utilizando-se o programa Mobyle@Pasteur (NÉRON et al.; 2009).

Os *contigs* foram alinhados e comparados entre si. Baseados nos *contigs* e em outras seqüências disponíveis no banco de dados do NCBI foi montado um dendograma para a análise dos grupamentos formados.

O dendograma foi montado utilizando o método algorítmico neighbor joining (NJ), utilizando o modelo de distância p no programa MEGA versão 4.0. A robustez de cada ramo foi determinada usando o teste não paramétrico de bootstrap (FELSENSTEIN, 1985) com 1000 repetições.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 38 isolados de *S. aureus* do leite bovino e os dois isolados de ECN oriundos de amostras das mãos e de material nasal de ordenhadores foram submetidos a técnica de ágar “screen”(AS) com oxacilina e ao teste de difusão em disco simples com cefoxitina (DDS) como preconizado no CLSI (2012), e em seguida submetidos a PCR para a detecção do gene de resistência *mecA* utilizando *primers* descritos por MURAKAMI et al. (1991) (Figura 3), como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Perfil dos testes fenotípicos de resistência aos beta-lactâmicos e detecção do gene de *mecA* (MURAKAMI et al.; 1991)

Perfil/ n° de isolados	A.S (OXA)	DDS(CFO)	PCR gene <i>mecA</i>
1(7)	R	R	-
2(2)	R	S	-
3(11)	S	R	-
4(18)	S	S	-
5 (1 ECN)	R	R	+
6 (1 ECN)	S	R	+

R - resistente; S - sensível; A.S(OXA)- Ágar “screen” com Oxacilina e DDS(CFO) - difusão em disco simples com cefoxitina.

Foi observada 55% (23/41) de resistência fenotípica considerando resistência a pelo menos uma das técnicas realizadas (Tabela 1), porém o gene *mecA* foi detectado somente nos isolados de ECN oriundos de amostras de mãos e material nasal de ordenhadores (Figura 3). Com base nos resultados encontrados verificou-se ausência de correlação entre os resultados fenotípicos com a detecção do gene *mecA*.

Em estudos anteriores desenvolvidos pelo Grupo de Pesquisa em Bacteriologia Veterinária da UFRRJ foram obtidos resultados semelhantes através da análise de isolados obtidos de processos infecciosos em animais domésticos, onde também não foi encontrado um alto nível de correlação entre a detecção fenotípica e genotípica da resistência (MENDONÇA 2012; PEREIRA 2010; SOARES 2010).

Uma das possíveis razões que tem sido sugerida para explicar essa discrepância está na presença de um homólogo do gene *mecA*, o gene *mecA_{LGA251}* em isolados de *Staphylococcus* spp. oriundos de animais acometidos com mastite bovina descrita CUNY e colaboradores (2011) e, mais recentemente em seres humanos (SHORE et al., 2011; GARCIA et al., 2011), ambos no Reino Unido.

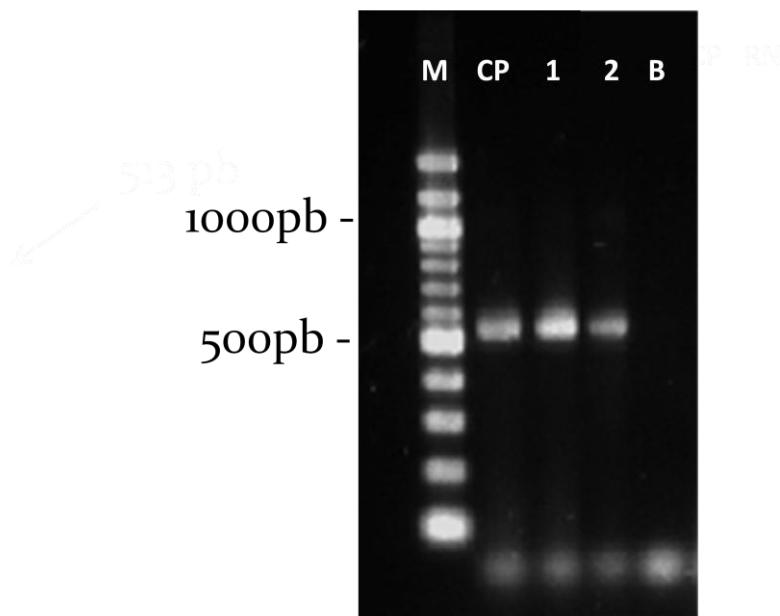


Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 1,5 % dos produtos de amplificação do gene *mecA* (533 pb). M: marcador de tamanho molecular (100 bp); CP: controle positivo. 1 e 2 ECNs (origem humana) e B: Branco.

Em isolados de *Staphylococcus* spp. em que este homólogo do gene *mecA* foi detectado não foram utilizados os *primers* descritos na literatura para detecção de *mecA* (CUNY et al., 2011). Desse modo, os isolados *mecA*-negativos utilizados neste estudo foram submetidos a um novo PCR, com *primers* específicos para amplificação de *mecA_{LGA251}* visando uma possível detecção desse homólogo (CUNY et al., 2011).

Em todos os isolados de *Staphylococcus aureus* testados, não foi observada a amplificação do gene *mecA_{LGA251}*. Resultado semelhante foi obtido por VANDERHAEGHEN e colaboradores (2012), ao analisar isolados de ECN-meticilina resistentes oriundos de diferentes populações bovinas.

Mediante a baixa detecção genotípica e elevadas taxas de resistência fenotípica que foi observada nos isolados de *Staphylococcus* de origem animal, somado ao fato de apenas isolados oriundos de ordenhadores amplificarem o gene *mecA* utilizando o *primer* descrito na literatura (MURAKAMI et al., 1991), e a impossibilidade de detecção do homólogo *mecA_{LGA251}*, alguns aspectos do estudo foram reconsiderados.

Considerando a hipótese de que a não amplificação do gene *mecA* nos isolados oriundos do leite com os *primers* elaborados por MURAKAMI e colaboradores (1991) pode ter ocorrido pela presença de mutações pontuais na região de anelamento dos *primers* em isolados de *Staphylococcus* de origem bovina, foram elaborados novos pares de *primers*, *mecAantes*, *mecAint1*, *mecAint2* e *mecApos*, baseados em sequências do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. disponíveis no banco de dados do NCBI (Quadro 1, Figura 1), que gerariam fragmentos que se sobreponham, visando a cobertura total do gene *mecA*. Dessa forma, seria possível a comparação da sequência completa do gene *mecA* dos isolados oriundos de diferentes hospedeiros e desta forma a detecção de diferenças nas sequências que poderiam justificar a falha da detecção do gene *mecA* em amostras de origem animal quando o *primer* descrito por MURAKAMI e colaboradores (1991) foi utilizado.

Todos os isolados *mecA*-negativos e os ECNs *mecA*-positivos (Tabela 1) foram submetidos a uma PCR com os novos *primers* elaborados. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Amplificação do gene *mecA* utilizando *primers* elaborados com base na sequência do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. disponíveis no banco de dados do NCBI

Origem	Isolados	<i>mecA</i>				
		(Murakami et al., 1991)	mecA antes	mecA int2	mecA int1	mecA pos
Leite (Bovino)	<i>S. aureus</i> (1)	-	-	-	+	-
Leite (Bovino)	<i>S. aureus</i> (2)	-	-	-	+	-
Leite (Bovino)	<i>S. aureus</i> (3)	-	-	-	+	-
Mãos (Humana)	ECN (1)	+	+	+	+	+
Material Nasal (Humana)	ECN (2)	+	+	+	+	+
Cepa Padrão (Humana)	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+

Dentre os 38 isolados de *S. aureus* obtidos do leite, apenas em três foi possível amplificar uma sequência gênica a partir de somente um dos pares de *primers* elaborados (mecAint1). Já os dois ECNs foram amplificados com todos os *primers*, assim como a cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (isolada de humanos, com resistência fenogenotípica a oxacilina) que foi utilizada como controle positivo destas reações. Os resultados positivos estão disponíveis na Figura 4. Estes produtos positivos foram sequenciados, e as sequências foram alinhadas e comparadas.

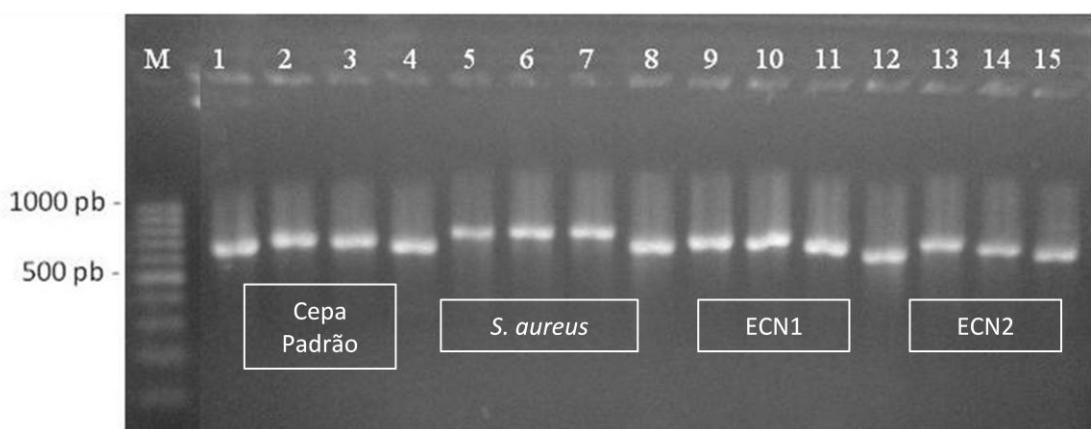


Figura 4. Eletroforese em gel de agarose 1,5 % dos produtos da amplificação do gene *mecA* utilizando os pares de *primers* (mecAantes/641 pb; mecAnt1/689 pb, mecAint2/669 pb e mecApos/631 pb). M: marcador de tamanho molecular (100 bp); 1 a 4: Cepa Padrão (mecAantes, mecAint1, mecAint2 e mecApos); 5 a 7: *S. aureus* (mecAint1); 8 a 11: ECN1(mecAantes, mecAint1, mecAint2 e mecApos) e 12 a 15: ECN2 (mecAantes, mecAint1, mecAint2 e mecApos).

Na comparação das sequências originadas utilizando os pares de *primers* mecAint1, foi possível a observação de diferenças pontuais ao longo deste segmento do gene *mecA*, entre os ECNs de origem humana e os *S. aureus* de origem animal. Neste alinhamento foram incluídas as sequências do gene *mecA* utilizada para a elaboração dos *primers* (HE681097.1) e do fragmento gerado pela amplificação da cepa padrão de *S. aureus* (ATCC43300), ambas de origem humana (Anexo I).

Ressaltamos também diferenças na composição de nucleotídeos na região de anelamento do *primer* F elaborado por MURAKAMI e colaboradores (1991) para detecção do gene *mecA*, o que pode explicar a não detecção do gene *mecA* nos isolados *S. aureus* isolados do leite, quando este par de *primer* foi utilizado (Anexo I).

Uma vez observada a diferença da composição de nucleotídeos do segmento de *mecA* dos isolados de *Staphylococcus* spp. oriundos do leite e de humanos, as sequências oriundas de isolados do leite foram comparadas com outras sequências disponíveis no banco de dados do NCBI utilizando o algoritmo Blastn, resultando em apenas 13 sequências de gene *mecA*, sendo selecionadas as três com maior identidade (Tabela 3).

Tabela 3. Sequências de *mecA* de maior identidade obtidas através do algoritmo Blastn do segmento de *mecA* de isolados de *Staphylococcus* oriundos do leite

Espécies	Acesso NCBI	Máxima identidade	E-value
<i>Staphylococcus sciuri</i>	AY820253. 1	100%	0.0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	AB547235. 1	96%	0.0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	JX094435. 1	96%	0.0

Todas as sequências de *mecA* geradas pelo algoritmo Blastn foram de *S. sciuri*, e o de maior identidade provém de cepas de *S. sciuri* oriundas de vacas leiteiras. Baseada nesta sequência, AY820253.1, foram elaborados novos pares de *primers*, (mecSsciuriAntes, mecSsciuriInt, mecSsciuriPos) (Quadro 1; Figura 2), que geram fragmentos que se sobrepõem afim de cobrir todo o gene *mecA*.

Os isolados do leite positivos somente para o par de *primer* *mecAint1* foram submetidos a PCR com novos *primers* (Figura 5). Os resultados estão dispostos na Tabela 4.

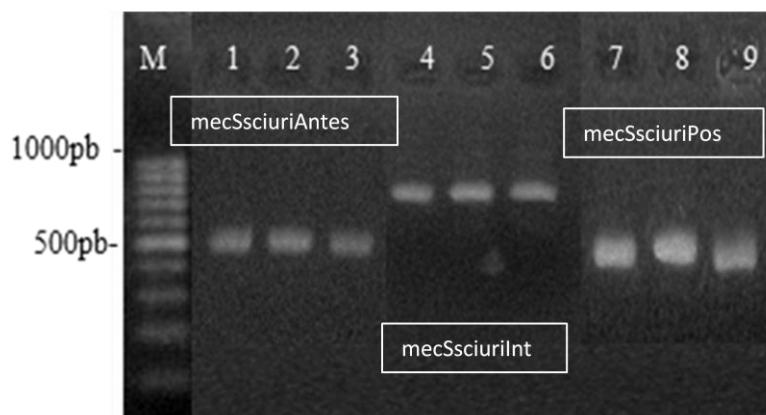


Figura 5. Eletroforese em gel de agarose de 1,5% dos produtos da amplificação do gene *mecA* considerando os diferentes pares de *primers* (mecSciuriAntes/500 pb, mecSciuriInt/809 pb e mecSciuriPos/417 pb). M: marcador de tamanho molecular (100 pb); 1 a 3: *S. aureus* 1, 2 e 3 (mecSsciuriAntes); 4 a 6: *S. aureus* 1, 2 e 3: (mecSsciuriInt); 7 a 9: *S. aureus* 1, 2 e 3 (mecSsciuriPos).

Tabela 4. Amplificação do gene *mecA* utilizando *primers* elaborados com base na sequência do gene *mecA* de *Staphylococcus sciuri* de origem bovina

Origem	Isolados	mecSsciuri	mecSsciuri	mecSsciuri
		Antes	Int	Pos
Leite (Bovino)	<i>S. aureus</i> (1)	+	+	+
Leite (Bovino)	<i>S. aureus</i> (2)	+	+	+
Leite (Bovino)	<i>S. aureus</i> (3)	+	+	+
Mãos (Humana)	ECN (1)	-	-	-
Material Nasal (Humana)	ECN (2)	-	-	-
Cepa Padrão (Humana)	<i>S. aureus</i>	-	-	-

Os isolados de ECN e a cepa padrão, positivos para amplificação do gene *mecA* com os pares de *primers* *mecAantes*, *mecAint1*, *mecAint2* e *mecApos* (Quadro 1; Figura 1), também foram submetidos a uma PCR com os novos *primers* construídos com base na sequência *mecA* de *S. sciuri* isolada de bovino, não sendo possível a detecção de fragmentos amplificados utilizando estes *primers* (Tabela 4).

Os produtos positivos das amplificações mostradas na Figura 5 foram sequenciados, e após análise e edição das sequências, foi possível a montagem dos *contigs* do gene *mecA*. Para a elaboração dos *contigs* das amostras do leite foram utilizadas todas as sequências originadas de amplificações utilizando os seguintes pares de *primers*: *mecSsciuriAntes*, *mecSsciuriInt*, *mecAint1* e *mecSsciuriPos*, respectivamente.

Foram montados também os *contigs* do gene *mecA* dos isolados de origem humana (mãos e material nasal de ordenhadores) e da cepa padrão, através das sequências originadas de amplificações utilizando os seguintes pares de *primers*: *mecAantes*, *mecAint1*, *mecAint2* e *mecApos*.

Para analisar as diferenças entre o gene *mecA* dos ECNs (origem humana) e dos *S. aureus* do leite (origem animal), os *contigs* destes isolados foram alinhados, como mostra o Anexo II.

Neste alinhamento foi possível a observação de inúmeras diferenças na sequência nucleotídica do gene *mecA* de isolados oriundos de humanos e animais. Neste alinhamento destacamos as regiões de anelamento do par de *primers* descrito por MURAKAMI et al. (1991), evidenciando as diferenças nesta região, justificando o sucesso da amplificação deste gene em *Staphylococcus* de origem humana e a possível falha de sua utilização para detecção deste gene em isolados de origem bovina (Anexo II).

Destacamos também neste alinhamento as regiões de anelamento dos pares de *primers* elaborados neste trabalho que se basearam na sequência *mecA* de *Staphylococcus* de origem humana e de origem bovina, e os resultados evidenciados *in silico* justificam os resultados obtidos nas PCRs realizadas cujos resultados estão demonstrados na Tabela 2 e 4.

Mediante estas análises demonstramos que a utilização de *primers* baseados em sequências humanas para pesquisa em isolados de origem bovina pode gerar resultados falso-negativos, levando a uma disseminação silenciosa deste fator de resistência, resultando num risco à sanidade animal e consequentemente à saúde pública.

Uma vez detectada diferenças na sequência de nucleotídeos do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. de origem humana e bovina, supomos que poderia haver diferenças deste gene quando diferentes espécies hospedeiras fossem avaliadas.

Diante disso, visando compreender as diferenças na composição do gene *mecA* de isolados de *Staphylococcus spp.* provenientes de diferentes espécies hospedeiras, foram incluídos neste estudo três isolados de ECN oriundos de equinos, cujo perfil de resistência fenogenotípico está demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5. Perfil de resistência fenogenotípica de isolados de *Staphylococcus* coagulase negativos oriundos de equinos

Isolados/ Espécies	DDS (OXA)	DDS (CFO)	<i>mecA</i> (Murakami et al. 1991)	<i>mecA</i> Antes	<i>mecA</i> Int2	<i>mecA</i> Int1	<i>mecA</i> Pos
<i>S. sciuri</i> (1)	R	R	+	+	+	+	+
<i>S. sciuri</i> (2)	R	R	+	+	+	+	+
<i>S. lentus</i>	R	R	+	+	+	+	+

R- resistente; DDS (OXA)- difusão em disco simples com oxacilina e DDS (CFO)-difusão em disco simples com cefoxitina.

Os produtos positivos da amplificação foram sequenciados, e após a edição das sequências foram montados os *contigs* do gene *mecA*. estes foram comparados as sequências do gene *mecA* dos isolados de *Staphylococcus spp.* provenientes das mãos e material nasal de ordenhadores, da cepa padrão, e do leite, como mostra o Anexo III.

Foi observada a similaridade do gene *mecA* oriundo dos isolados de equino com a cepa padrão, e os isolados oriundos de amostras humanas, sendo possível também observar as diferenças presentes ao longo do gene *mecA* quando comparados com os de origem bovina (leite) (Anexo III).

Visando acrescentar nossos resultados e responder as indagações levantadas acerca da diferença do gene *mecA* em *Staphylococcus* provenientes de diferentes hospedeiros, foram selecionadas várias sequências do gene *mecA* de *Staphylococcus spp.* oriundos de diferentes hospedeiros disponíveis no banco de dados do NCBI (Tabela 6), e estas foram alinhadas e comparadas com as sequências do gene *mecA* de *Staphylococcus spp.* provenientes do leite, das mãos e de material nasal de ordenhadores, de equino e da cepa padrão (Anexo IV).

Os alinhamentos foram utilizados para construção do dendograma que permite uma melhor visualização das diferenças e similaridades do gene *mecA* de *Staphylococcus* provenientes de diferentes espécies hospedeiras (Figura 6).

Tabela 6. Sequências do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. provenientes de diferentes hospedeiros selecionados do NCBI

Identificação da sequência	Espécies	Hospedeiro	Acesso NCBI
S. pseudo (1)	<i>S. pseudointermedius</i>	Cão	AM904731
S. sciuri (2)	<i>S. sciuri</i>	Roedor	Y13096
S. pseudo (3)	<i>S. pseudointermedius</i>	Cão	AM904732
S. sciuri (4)	<i>S. sciuri</i>	Roedor	Y13095
S. kloosii (5)	<i>S. kloosii</i>	Equino	AM048803
S. vitulinus (6)	<i>S. vitulinus</i>	Equino	AM048802
S. pseudo (7)	<i>S. pseudointermedius</i>	Cão e Gato	EU929082
S. pseudo (8)	<i>S. pseudointermedius</i>	Cão e Gato	EU929081
S. capitis (9)	<i>S. capitis</i>	Equino	AM048805
S. kloosii (10)	<i>S. kloosii</i>	Equino	AM048804
S. sciuri (11)	<i>S. sciuri</i>	Bovina	AY820253
S. aureus (12)	<i>S. aureus</i>	Humana	HE681097

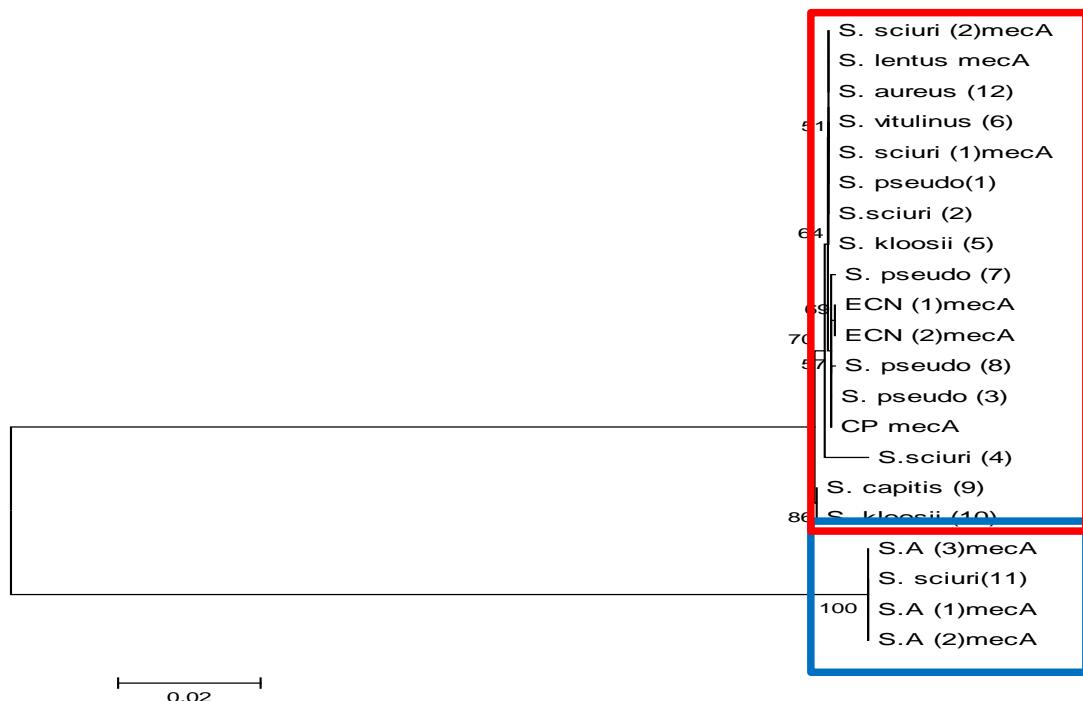


Figura 6. Dendrograma baseado na sequência do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. provenientes de diferentes espécies hospedeiras. Em destaque AZUL os isolados oriundos de bovino, e em vermelho isolados oriundos das demais espécies (cão, gato, roedores, equino e humano).

Através da análise do dendrograma ficou evidente a similaridade do gene *mecA* de diferentes espécies de *Staphylococcus* spp. provenientes de hospedeiros como cão, gato, roedor, equino e humano, e da divergência nítida do gene *mecA* de origem bovina com os demais (Figura 6).

Em destaque no Anexo II e IV estão as regiões de anelamento do par de *primer* descrito por MURAKAMI et al. (1991) para amplificação do gene *mecA*, os pares de *primers* baseados na sequência *mecA* de *Staphylococcus* spp. de origem humana

(mecAantes, mecAint1, mecAint2, mecApos), e os de origem bovina (mecSsciuriAntes, mecSsciuriInt, mecSsciuriPos). Podemos observar que o gene *mecA* de isolados oriundos de amostras de leite bovino apresentam diferenças significativas daqueles provenientes de outros hospedeiros, resultando em diferenças nos anelamentos dos diferentes *primers* avaliados neste trabalho. Portanto, mostrasse necessária a elaboração de *primers* específicos para uma real identificação desta resistência nesta espécie hospedeira.

Estudos recentes apontam um novo MRSA associado a animais de produção, LA-MRSA, este tem sido isolado tanto de espécies animais quanto de humanos. GOLDING e colaboradores (2012) sequenciaram o genoma completo de LA-MRSA ST398 isolado de humanos. Para analisar possíveis diferenças na composição do gene *mecA* dentro da mesma espécie (Humana) e dentro de espécies diferentes (bovina) a sequência do gene *mecA* desta cepa foi selecionada, editada e comparada com as sequências do presente estudo (Anexo V).

Após análise deste alinhamento verificou-se diferenças significativas entre os genes, corroborando com os achados do presente estudo, que além de existir variação na composição do gene *mecA* devido mudança de hospedeiros, também existe variação de acordo com o ambiente no qual o hospedeiro está inserido.

Para confirmar nossa proposição da importância da elaboração de *primers* específicos para detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp. provenientes de bovinos, foi feito um levantamento dos *primers* descritos na literatura que tem sido utilizados para detecção deste gene (Quadro 4).

Todos os pares de *primers* analisados anelaram no gene *mecA* de *Staphylococcus* provenientes de humano, cão, gato, roedor e equino. Porém, nenhum anelou no gene *mecA* de origem bovina (Anexo IV). Portanto, através desta análise *in silico* conclui-se que não seria possível a detecção do gene *mecA* nos isolados de origem bovina com o emprego destes *primers*.

Quadro 4. Sequência de *primers* descritos na literatura para a detecção do gene *mecA*

<i>Sequencia (5'-3')</i>	<i>Tamanho do fragmento</i>	<i>Referências</i>
GTG AAG ATA TAC CAA GTG ATT ATG CGC TAT AGA TTG AAA GGA T	147 pb	ZHANG et al., 2005
TCC AGA TTA CAA CTT CAC CAG G CCA CTT CAT ATC TTG TAA CG	162 pb	LENCASTRE et al., 2002
CAA GAT ATG AAG TGG TAA ATG GT ACT GCC TAA TTC GAG TGC TAC	98 pb	TAN et al., 2002
TGG CTA TCG TGT CAC AAT CG CTG GAA CTT GTT GAG CAG AG	309 pb	BADDOUR et al. 2007
GGG ATC ATA GCG TCA TTA TTC AAC GAT TGT GAC ACG ATA GCC	527 pb	DTU Food National Food Institute (2009)

Sendo assim, em etapa futura, nossa proposta é elaborar e validar um par de *primer* que possibilite a identificação do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. provenientes de diferentes origens, levando em consideração o gene *mecA* de origem bovina descrito no presente estudo.

Com o objetivo de melhor compreender os mecanismos envolvidos na resistência ao marcador oxacilina e cefoxitina, foram pesquisados também os genes do sistema regulatório *mec* (*mecRI* e *mecI*) dos isolados oriundos do leite bovino e das mãos e de material nasal de ordenhadores *mecA* positivos. Os resultados estão dispostos na tabela a seguir.

Tabela 7. Amplificação dos genes do sistema regulatório *mec*

Origem	Isolados	<i>mecA</i>	<i>mecRI</i>	<i>mecI</i>
Mãos (Humana)	ECN (1)	+	+	-
Material Nasal (Humana)	ECN (2)	+	+	-
Leite (Bovina)	<i>S. aureus</i> (1)	+	-	-
Leite (Bovina)	<i>S. aureus</i> (2)	+	-	-
Leite (Bovina)	<i>S. aureus</i> (3)	+	-	-

Foi possível apenas a detecção de um dos genes do sistema regulatório *mec*, gene *mecRI*, nos isolados de origem humana, não sendo possível a detecção dos genes do sistema regulatório *mec* nos isolados de origem bovina.

ROSATO e colaboradores (2003) avaliaram 73 isolados de *S. aureus* e detectaram os genes *mecA*, *mecRI*, *mecI* intactos em 56 isolados, os outros 17 isolados apresentaram deleções no gene *mecI*. Em estudo semelhante, PETINAKI e colaboradores (2001) ao realizar o sequenciamento do sistema *mec* relataram que de um total de 49 cepas de *Staphylococcus aureus* *mecA*-positivos, apenas 13 cepas apresentaram os genes *mecRI-mecI* intactos.

Além destes fatores, a não detecção dos genes do sistema regulatório *mec* nos *S. aureus* isolados do leite, pode ser também justificada pelo uso de *primers* elaborados para a detecção deste tipo de resistência em isolados de origem humana, sendo necessárias novas pesquisas, e elaboração de novos *primers* baseados em sequências obtidas de amostras de origem animal, como realizado no presente estudo para o gene *mecA*.

6. CONCLUSÃO

- A sequência do gene *mecA* de *Staphylococcus* de origem bovina apresenta diferenças significativas da sequência dos de origem humana, equino, roedor, cão e gato.
 - Deve-se investir na busca por homólogos do gene *mecA* para incrementar a detecção gênica desta resistência;
 - A utilização de *primers* elaborados para detecção do gene *mecA* em isolados de *Staphylococcus* de origem humana para a detecção deste gene em isolados de origem bovina deve ser reconsiderada;

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SCHAFFER, A.A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D.J. **Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs.** Nucleic Acids Research. v.25, pp.3389-3402, 1997.
- BADDOUR, M. M.; ABUELKEIR, M. M. **Comparison of *mecA* Polymerase Chain Reaction With Phenotypic Methods for the Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*.** Curr Microbiol v.55, pp.473–479, 2007.
- BAPTISTE, K.E.; WILLIAMS, K.; WILLIAMS, N.J.; WATTRET, A.; CLEGG, P.D.; DAWSON, S.; CORKILL, J.E.; O'NEILL, T.; HART, C.A. **Methicillin-resistant staphylococci in companion animals.** Emerg. Infect. Dis., v.11, pp.1942-1944, 2005.
- BEAUDEAU, F.; FOURICHON, C.; SEEGERS H. & BAREILLE N. **Risk of clinical mastitis in dairy herds with a high proportion of low individual milk somatic-cell counts.** Prev. Vet. Med. v.53, pp.43-54 2002.
- BENS, C. C.; VOSS, A.; KLAASSEN, C. H. **Presence of a novel DNA methylation enzyme in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with pig farming leads to uninterpretable results in standard pulsed-field gel electrophoresis analysis.** J. Clin. Microbiol. v.44, pp.1875–1876, 2006.
- BRADLEY, A.J. **Bovine mastitis: an evolving disease.** Vet. J. v.164, pp.116-128, 2002.
- BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O . **Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Juiz de Fora, v.51, n.2, pp.129-135, 2000.
- BURTON, J. L. & ERSKINE, R. J. **Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease.** The Veterinary Clinics - Food Animal Practice, v.19, pp.1-45, 2003.
- CAVACO, L. M.; HENDRIKSEN, R.; KARLSMOSE, S.; AARESTRUP, F. M. **Report of the 1st External Quality Assurance System on Isolation, Identification and Typing of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Dust Samples,** DTU (Technical University of Denmark) Food National Food Institute, 2009.
- CEFAI, C.; ASHURST, S.; OWENS, C. **Human carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* linked with pet dog.** Lancet. v.344, pp.539–40, 1994.
- CHUNG, M.; DE LENCASTRE, H.; MATTHEWS, P.; TOMASZ, A.; ADAMSSON, I.; AIRES DE SOUSA, M.; CAMOU, T.; COCUZZA, C.; CORSO, A.; COUTO, I.; DOMINGUEZ, A.; GNIADKOWSKI, M.; GOERING, R.; GOMES, A.; KIKUCHI, K.; MARCHESE, A.; MATO, R.; MELTER, O.; OLIVEIRA, D.; PALACIO, R.; SALEAO, R.; SANTOS SANCHES, I.; SONG, J. H.; TASSIOS, P. T.; VILLARI P. **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. Microb. Drug Resist. v.6, pp.189–198, 2000.

CIFTCI, A.; FINDIK, A.; ONUK, E. E.; SAVASAN, S. **Detection of methicillin resistance and slime factor production of *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis.** Brazilian Journal of Microbiology v.40, pp.254-261, 2009.

CLSI, Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2008.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standards-Third Edition, M31-A3, 2012.0

COELHO, S. M. S., **Caracterização fenotípica e genotípica de fatores de virulência e resistência à oxacilina em *Staphylococcus* spp. coagulase-positivos isolados de mastite bovina.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Tese de Doutorado, 2008.

COUTO, A. C. S. **Avaliação da resistência aos beta-lactânicos em *Staphylococcus* coagulase negativos.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Dissertação de Mestrado, 2013.

COUTO,I.; DE LENCASTRE, H.; SEVERINA, E.; KLOOS,W.; WEBSTER,J.A.; HUB- NER,R.J.; SANCHES,I.S.; TOMASZ, A. **Ubiquitous presence of a *mecA* homologue in natural isolates of *Staphylococcus sciuri*.** Microb. DrugResist. v.2, pp.377 391, 1996.

CUNHA, M. L.R.S; LOPES, R.S.; RUGOLO, C. A. M.; CHALITA, L.V.A.S. **Clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from neonates.** Journal Antimicrobial and Chemotherapy. v.48, pp. 463–478, 2002.

CUNY C.; STROMMENGER B.; WITTE W.; STANEK C. **Clusters of infections in horses with MRSA ST1, ST254, and ST398 in a veterinary hospital.** Microb. Drug Resist. v.14, pp.307–310, 2008.

CUNY, C.; LAYER, F.; STROMMENGER, B.; WITTE, W. **Rare Occurrence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* CC130 with a Novel *mecA* Homologue in Humans in Germany.** PLoS ONE ,v. 6, n. 9, 2011.

DEASY, E.C.; SLICKERS, P.; BRENNAN, G.; O'CONNELL, B.; MONECKE, S.; EHRICHT, R.; COLEMAN, D.C. **Detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type XI encoding highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ* and *ccr* genes in human clinical clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** Antimicrob Agents Chemother v.55, pp.3765–73, 2011.

DELEO, F.R.;OTTO, M.; KREISWIRTH, B. N.; CHAMBERS, H.F. **Community-associated meticillin- resistant *Staphylococcus aureus*.** Lancet v.375, pp.1557–1568, 2010.

DEVRIESE LA, VANDAMME LR, FAMEREE L. **Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases.** Zentralblatt fur Veterinar Medizin Reihe B; 1v.9, pp.598–605, 1972.

DEVRIESE, L.A. & HOMMEZ, J. **Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy herds.** Res.Vet.Sci. v.19, pp.23–27, 1975.

DIEKEMA,D.J.; PFALLER,M.A.; SCHMITZ,F.J.; SMAYEVSKY,J.; BELL,J.; JONES, R. N. ; BEACH,M. **Survey of infections dueto *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY.** Antimicrobial Surveillance Program,1997-1999. Clin. Infect. Dis.v.32(Suppl.2),pp.S114–S132, 2002.

DUQUETTE, R.A. & NUTTALL, T.J. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem?** J Small Anim Pract.;v.45, pp.591–7, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite**, <http://www.cnpgl.embrapa.br/>. Acessado em: 4 de Janeiro de 2013.

ENRIGHT,M.C.; ROBINSON,D.A.; RANDLE, G.; FEIL,E.J.; GRUND- MANN, H.; SPRATT,B.G. **The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).** Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. v.99, pp.7687–7692, 2002.

FALCONE, M.; CAMPANILE, F. ;GIANNELLA, M.; BORBONE, S.; STEFANI, S.; VENDITTI, M. ***Staphylococcus haemolyticus* endocarditis: clinical and microbiologic analysis of 4 cases.** Diagn. Microbiol. Infect. Dis. v.57, pp.325–331, 2007.

FELSENSTEIN, J. **Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap.** Evolution v.39, pp.783-791, 1985.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite.** São Paulo : Lemos Editorial. 175p, 2000.

GARCIA-ALVAREZ, L.; HOLDEN, M.T.; LINDSAY, H.; WEBB, C.R.; BROWN, D.F.; CURRAN, M.D.; WALPOLE, E.; BROOKS, K.; PICKARD, D.J.; TEALE, C.; PARKHILL, J.; BENTLEY, S.D.; EDWARDS, G.F.; GIRVAN, E.K.; KEARNS, A.M.; PICHON, B.; HILL, R.L.; LARSEN, A.R.; SKOV, R.L.; PEACOCK, S.J.; MASKELL, D.J.; HOLMES, M.A. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel meca homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study.** Lancet Infect Dis v.11, pp.595–603, 2011.

GENTILINI, E COSTA, E. O.; R AIA, M.R.; WATANABE, E.T.; G ARINO, F.; COELHO, V. **Infuência do tratamento intramamário de casos de mastite de bovinos em lactação em relação à presença de resíduos de antibióticos no leite de quartos sadios.** Napgama, v.3 n.4 pp.14-17, 2000.

GIANOLA, D., HERINGSTAD, B., KLEMETSDAL, G., CHANG, Y. M. **Longitudinal analysis of clinical mastitis at different stages of lactation in Norwegian cattle.** Livest. Prod. Sci. v.88, pp.251-261, 2004.

GOLDING, G.R.; BRYDEN, L.; LEVETT, P.N.; MCDONALD, R.R.; WONG, A.; GRAHAM, M.R.; TYLER, S.; VAN DOMSELAAR, G.; MABON, P.; KENT, H.; BUTAYE, P.; SMITH, T.C.; KADLEC, K.; SCHWARZ, S.; WEESE, S.J.; MULVEY, M.R. **Whole-Genome Sequence of Livestock-Associated ST398 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Humans in Canada.** J. Bacteriol.; v.194, pp.6627-8, 2012.

HALL, T.A. **BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.** Nucl. Acids. Symp. Ser. v.41, pp.95-98, 1999.

HASMAN H., MOODLEY, A.; GUARDABASSI, L.; STEGGER, M.; SKOV, R. L.; AARESTRUP, F. M. **Spa type distribution in *Staphylococcus aureus* originating from pigs, cattle and poultry.** Vet. Microbiol. v.141, pp.326–331, 2010.

HEILMANN, C. & PETERS, G. **Biology and pathogenicity of *S. epidermidis*.** In: Fischetti VA; Novick RP; Ferretti JJ; Portnoy DA; Rood JI *Gram-positive pathogens*. Washington, D.C.: ASM Press, pp.442-9, 2000.

HERRON-OLSON, L.; FITZGERALD, J.R.; MUSSER, J.M.; KAPUR, V. **Molecular Correlates of Host Specialization in *Staphylococcus aureus*.** PLoS ONE 2(10): e1120.doi:10.1371/journal.pone.0001120, 2007.

HIGGINS ET, RONEY C, CROWE E, HYMES C. **Ideal versus ought predilections for approach and avoidance: Distinct self-regulatory systems.** Journal of Personality and Social Psychology v.66, pp.276-86, 1994.

HUBER, H.; KOLLER,S.; GIEZENDANNER, N.; STEPHAN, R.; ZWEIFEL, C. **Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin, Switzerland, 2009.** Euro Surveill. v.15, pii 19542, 2010.

HUDOME, S.M. & FISHER, M.C. **Nosocomial infections in the neonatal intensive care.** Curr Opin Infect Dis;v.14, pp.303-7, 2001.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA / **Pesquisa da Pecuária Municipal e Censo Agropecuário.** SIDRA. Disponível em www.sidra.ibge.gov.br. Acesso: Janeiro 2013.

IKAWATY, R.; BROUWER, E.C.; JANSEN, M.D.; VAN DUIJKEREN, E.; MEVIUS, D.; VERHOEF, J.; FLUIT, A.C. **Characterization of Dutch *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis using a Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis.** Vet. Microbiol. v.136, pp.277–284, 2009.

International Working Group on the *Staphylococcal Cassette Chromosome* elements. Disponível em www.sccmec.org/Pages/SCC_TypesEN. Acesso: Fevereiro de 2012.

ITO T; KATAYAMA Y.; ASDA K.; MORI N.; TSUTSUMIMOTO K.; TIENSASITORN C.; HIRAMATSU K. **Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *S. aureus*.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy. v.45, pp.1323-1336, 2001.

ITO, T.; MA, X.X.; TAKEUCHI, F.; OKUMA, K.; YUZAWA, H.; HIRAMATSU, K. **Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccr*.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy. v.48, pp. 2637-2651, 2004.

JANSEN, M.D.; BOX, A.T.A.; FLUIT, A.C. **SCCmec Typing in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains of Animal Origin.** Emerging Infectious Diseases.v.15, n.1, p.136, 2009.

JAPONI,A.; ALBORZI, A.; MANOOCHEHR, R.; POURABBAS, B. **Modified DNA extraction for rapid PCR detection of methicillin-resistant staphylococci.** Iran. Biom. J. v.8, n.3, pp.161-164, 2003.

JEVONS, M.; ROLINSON, G.; KNOX, R. **“Celbenin” resistant staphylococci.** Br. Med. J., pp.124-125, 1961.

JØRGENSEN, H. J.; MØRK, T.; CAUGANT, D. A.; KEARNS, A. ;RØRVIK, L. M. **Genetic variation among *Staphylococcus aureus* strains from Norwegian bulk milk.** Appl. Environ. Microbiol. v.71,pp.8352-8361, 2005.

KAPUR, V.; SISCHO, W. M.; GREER, R. S.; WHITTAM, T. S.; MUSSER, J. M. **Molecular population genetic analysis of *Staphylococcus aureus* recovered from cows.** J. Clin. Microbiol. v.33,pp.376-380, 1995.

KARAHAN, M. & CETINKAYA, B. **Coagulase gene polymorphisms detected by PCR in *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in Turkey.** Vet. J. v.174, pp.428–431, 2006.

KATAYAMA, Y.; ITO, T.; HIRAMATSU, K. **Genetic organization of the chromosome region surrounding *mecA* in clinical staphylococcal strains: role of *IS431*-mediated *mecI* deletion in expression of resistance in *mecA*-carrying, low-level methicillinresistant *Staphylococcus haemolyticus*.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 45, n. 7, pp.1955-1963, 2001.

KHANNA, T.; FRIENDSHIP, R.; DEWEY, C.; WEESE, J.S. **Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers.** Vet. Microbiol. v.128, pp.298 –303, 2008.

KLUYTMANS-VANDENBERGH M.F. & KLUYTMANS J.A. **Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: current perspectives.** Clin Microbiol Infect.;v.12, pp.9–15, 2006.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, J.R. **Diagn. Microbiol.** 6.ed. Rio de Janeiro: Editora MEDS, 2008.

KREDIET, T.G.; JONES, M.E. ; JANSSEN, K. ; GERARDS, L.J.; FLEER, A. **Prevalence of molecular types and *mecA* gene carriage of coagulase-negative *Staphylococci* in a neonatal intensive care unit: relation to nosocomial septicemia.** J. Clin. Microbiol. v.39, pp.3376–3378, 2001.

KUMAR,S.; KOICHIRO, T.; MASATOSHI, N. **MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment Brief Bioinform**,2004.

LENCASTRE, H., OLIVEIRA, D. C. **Multiplex PCR Strategy for Rapid Identification of Structural Types and Variants of the *mec* Element in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 46, n. 7, pp.2155–2161, 2002.

LEONARD FC, MARKEY BK. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review.** Veterinary Journal v.175,pp.27–36, 2008.

LEONARD, F.C.; MARKEY, B.K. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review.** Veterinary Journal; v.175, pp.27–36, 2008.

LOEFFLER, A. & LLOYD, D. H. **Companion animals: a reservoir for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community?** Epidemiol. Infect. v.138, pp.595–605, 2010.

LOEFFLER, A.; BOAG, A.K.; SUNG, J.; LINDSAY, J.A.; GUARDABASSI, L.; DALSGAARD, A.; SMITH, H.; STEVENS, K.B.; LLOYD, D.H. **Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK.** J. Antimicrob. Chemother.;v.56, pp.692–7, 2005.

LOPES, M. Palestra proferida na Embrapa Gado de Leite, em novembro de 2011.

LYYTIKAINEN, O.; LUMIO, J.; SARKKINEN, H.; KOLHO, E; KOSTIALA, A.; RUUTU, P. **Nosocomial bloodstream infections in Finnish hospitals during 1999–2000.** Clin. Infect. Dis. v.35, pp.14–19, 2002.

MENDOÇA, E. L. C. **Caracterização fenogenotípica da resistência antimicrobiana em *staphylococcus* spp isolados de mastites clínicas e subclínicas em unidades leiteiras de municípios do rio de janeiro como subsídio para implementação de medidas de controle.** 82 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária. Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

MONECKE, S.; COOMBS, G.; SHORE, A. C.; COLEMAN, D. C.; AKPAKA, P.; BORG, M.; CHOW, H.; JATZWAUK, L.; JONAS, D.; KADLEC, K.; KEARNS, A.; LAURENT, F.; O'BRIEN, F. G.; PEARSON, J.; RUPPELT, A.; SCHWARZ, S.; SCICLUNA, E.; SLICKERS, P.; TAN, H. L.; WEBER, S.; EHRICHT, R. **A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** PLoS ONE 6, e17936., 2011.

MOODLEY, A.; NIELSEN, S.S.; GUARD- ABASSI, L. **Effects of tetra cycline and zinc on selection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sequencetype398 in pigs.** Vet.Microbiol. v.152, pp.420–423, 2011.

MURAKAMI, K.W.; MINAMIDE, K.; WADA, W.; NAKAMURA, E.; TERAOKA, H.; WATANBE, S. **Identification of methicillin resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction.** Journal of Clinical Microbiology. v.29, pp.2240-2244, 1991.

NAIMI, T.S.; LEDELL, K.H.; COMO-SABETTI, K.; BORCHARDT, S.M.; BOXRUD D.J.; ETIENNE, J. JOHNSON, S.K.; VANDENESCH, F.; FRIDKIN, S.; O'BOYLE, C.; DANILA, R.N.; LYNFIELD, R. **Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection.** JAMA.;v.290, pp.2976–84, 2003.

NÉRON, B.; MÉNAGER, H.; MAUFRAIS, C.; JOLY, N.; LETORT, M. S.;CARRERE, S.; TUFFERY, P.; LETONDAL, C. **Moible a new full web bioinformatics framework,** Bioinformatic Advance, 2009.

PANTOSTI, A. **Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Associated with Animals and Its Relevance to Human Health.** Front Microbiol. 3: 127, 2012.

PANTOSTI,A.;SANCHINI,A.;MONACO, M.. **Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*.** Future Microbiol. v.2, pp.323–334, 2007.

PEREIRA, I. A. **Processos infecciosos de animais de companhia: uma abordagem sobre fatores de virulência em *Staphylococcus* spp. e resistência à azitromicina e oxacilina como modelo de estudo.** 166 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

PERSSON WALLER K., COLDITZ I.G., LUN S.; OSTENSSON K. **Cytokines in mammary lymph and milk during endotoxininduced bovine mastitis.** Res. Vet. Sci. v.75, pp.247-255, 2003.

PETINAKI, E.; ARVANITI, A.; DIMITRACOPOULOS, G.; SPILIOPOULOU, I.; **Detection of *mecA*, *mecR1* and *mecI* genes among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci by combined polymerase chain reactions.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. v.47, pp.297-304, 2001.

PHILPOT, W.N. & NICKERSON, S.C. **Mastities: Counter Attack.** Illinois: Babson Bros Co. 150 p. 1991.

PIDDOCK, L.J.V. **Does the use of antimicrobial agents in veterinary medicine and animal husbandry select antibiotic resistant bacteria that infect man and compromise antimicrobial chemotherapy?** J. Antimicrob. Chemother. v.38, pp.1–3, 1996.

ROSATO, A.E; KREISWIRTH, B.N; GRAIG, W.A.; EISNER, W.; CLIMO, M.W.; AECHER, G.L. ***mecA-BlaZ* corepressors in clinical *Staphylococcus aureus* isolates.** Antimicrobial Agents Chemotherapy. v.47, pp.1463-1466, 2003.

SABOUR, P.M.; GILL, J.J.; LEPP, D.; PACAN, J.C.; AHMED, R.; DINGWELL, R.; LESLIE, K. **Molecular Typing and Distribution of *Staphylococcus aureus* Isolates in Eastern Canadian Dairy Herds.** *J. Clin. Microbiol.*, v.42, pp.3449-3455, 2004.

SAKAI, H. **Simultaneous detection of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci in positive blood cultures by real-time PCR with two fluorescence resonance energy transfer probe sets.** *Journal of Clinical Microbiology*, v.42, n.12, pp.5739-5744, 2004.

SAKWINSK, O.; MORISSET, D.; MADEC J, Y.; WALDVOGEL, A.; MOREILLON, P.; HAENNI, M. **Link between Genotype and Antimicrobial Resistance in Bovine Mastitis-Related *Staphylococcus aureus* Strains, Determined by Comparing Swiss and French Isolates from the Rhône Valley.** *Applied And Environmental Microbiology*, v.77, n. 10, pp.3428–3432, 2011.

SHORE, A.C.; DEASY, E.C.; SLICKERS, P.; BRENNAN, G. O.; CONNELL, B.; MONECKE, S.; EHRICHT, R.; COLEMAN, D.C. **Detection of staphylococcal cassette chromosome mec type XI carrying highly divergent meCA, meCI, meCR1, blaZ, and ccr genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.55, pp.3765–3773, 2011

SMYTH D. S.; FEIL, E. J.; MEANEY ,W. J.; HARTIGAN, P. J.; TOLLERSRUD, T.; FITZGERALD, J.R.; ENRIGHT, M. C.; SMYTH, C. J. **Molecular genetic typing reveals further insights into the diversity of animal-associated *Staphylococcus aureus*.** *J. Med. Microbiol.* v.58, pp.1343–1353, 2009.

SOARES, L. C. **Correlação entre marcadores fenotípicos e genotípicos de virulência e resistência à oxacilina ea *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos isolados a partir de mastite bovina.** 82 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária. Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

SOMMERHAUSER J., KLOPPERT B., WOLTER W., ZSCHOCK M., SOBIRAJ A. & FAILING K. **The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme.** *Vet. Microbiol.* v.96, pp.91-102, 2003.

STRAUB, J.A.; HERTEL, C. ; HAMMES, W.P. **A 23S RNAr-targeted polymerase chain reaction-based system for detection of *Staphylococcus aureus* in meat started cultures and dairy products.** *J. Food Prot.*, v.62, pp.1150-1156, 1999.

SUNG, J.M.; LLOYD, D.H.; DLIND- SAY, J.A. ***Staphylococcus aureus* host specificity: comparative genomics of human versus animal isolates by multi- strain microarray.** *Microbiology* v.154, pp.1949–1959, 2008.

SVILAND, S. & WAAGE, S. **Clinical bovine mastitis in Norway.** *Preventive Veterinary Medicine*, v. 54, pp. 65-78. 2002.

TAN, T. Y. **A comparison of PCR detection of *mecA* with two standard methods of oxacillin disk susceptibility testing for coagulase-negative staphylococci.** Journal of Medical Microbiology, v.51 no. 1, pp.83-85, 2002.

VAN WAMEL, W. J.; ROOIJAKKERS, S. H.; RUYKEN, M.; VAN KESSEL, K. P.; VAN STRIJP, J. A. **The innate immune modulators staphylococcal complement inhibitor and chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* are located on beta-hemolysin-converting bacteriophages.** J. Bacteriol. v.188, pp.1310–1315, 2006.

VANDERHAEGHEN, W.; HERMANS, K.; HAESEBROUCK, F.; BUTAYE, P. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food production animals.** Epidemiol. Infect. v.138, pp.606–625, 2010.

VANDERHAEGHEN, W.; VANDENDRIESSCHE, S.; CROMBE, F.; NEMEGHAIRE, F.; DISPAS, M.; DENIS, O.; HERMANS, K.; HAESEBROUCK, F.; BUTAYE, P.; **Characterization of methicillin-resistant non-*Staphylococcus aureus* staphylococci carriage isolates from different bovine populations.** J Antimicrob Chemother, doi:10.1093, 2012.

VENGUST, M.; ANDERSON, M.E.; ROUSSEAU, J.; WEESE, J.S. **Methicillin-resistant staphylococcal colonization in clinically normal dogs and horses in the community.** Letters in Applied Microbiology v.43, pp.602–606, 2006.

VON EIFF, C.; PETERS, G.; HEILMANN, C. **Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci.** Lancet of Infectious Disease. v.2, pp.677-685, 2004.

WEESE, J.S.; ARCHAMBAULT, M.; WILLEY, B.M.; HEARN, P.; KREISWIRTH, B.N.; SAID-SALIM, B.; MCGEER, A.; LIKHOSHVAY, Y.; PRESCOTT, J.F.; LOW, D.E. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000–2002.** Emerg Infect Dis. v.11, pp.430–5, 2005.

YASUDA, R.; KAWANO, J.; MATSUO, E.; MASUDA, T.; SHIMIZU, A.; ANZAI, T.; HASHIKURA, S. **Distribution of *mecA*-harboring staphylococci in healthy horses.** Journal Veterinary Medicine Science. v.69, n.4, pp.821-827, 2002.

ZHANG, K.; SPARLING, J.; CHOW, B.L.; ELSAYED, S.; HUSSAIN, Z.; CHURCH, D.L.; GREGSON, D.B.; LOUIE, T.; CONLY, J.M. **New Quadruplex PCR Assay for Detection of Methicillin and Mupirocin Resistance and Simultaneous Discrimination of *Staphylococcus aureus* from Coagulase-Negative Staphylococci.** Journal of clinical microbiology, v. 42, n 11, pp. 4947–4955, 2004.

ANEXOS

ANEXO I- Alinhamento das sequências geradas pela amplificação utilizando o par de primer mecAInt1.

	10	20	30	40	50	60	
						
mecA Int 1	ATATTCAACTAACTATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATG						
CP mecA Int1	ATATTCAACTAACTATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATG						
ECN (1)mecA Int1	ATATTCAACTAACTATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATG						
ECN (2)mecA Int1	ATATTCAACTAACTATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATG						
S.A (1)mecA Int1	ATATTAAAATTAACCATCGATTCTAGAGTCAAAAAAGTATTATAACAAACATGAAAGATG						
S.A (2)mecA Int1	ATATTAAAATTAACCATCGATTCTAGAGTCAAAAAAGTATTATAACAAACATGAAAGATG						
S.A (3)mecA Int1	ATATTAAAATTAACCATCGATTCTAGAGTCAAAAAAGTATTATAACAAACATGAAAGATG						
	70	80	90	100	110	120	
						
mecA Int 1	ATTATGGCTCAGGTACTGCTATCCACCCCAAACAGGTGAATTATTAGCAGTTGTAAGCA						
CP mecA Int1	ATTATGGCTCAGGTACTGCTATCCACCCCAAACAGGTGAATTATTAGCAGTTGTAAGCA						
ECN (1)mecA Int1	ATTATGGCTCAGGTACTGCTATCCACCCCAAACAGGTGAATTATTAGCAGTTGTAAGCA						
ECN (2)mecA Int1	ATTATGGCTCAGGTACTGCTATCCACCCCAAACAGGTGAATTATTAGCAGTTGTAAGCA						
S.A (1)mecA Int1	ACTACGGTTCAAGGTACAGCTATTCAATCCACAAACAGGCCAACTGTTAGCAGTTGTCAGCA						
S.A (2)mecA Int1	ACTACGGTTCAAGGTACAGCTATTCAATCCACAAACAGGCCAACTGTTAGCAGTTGTCAGCA						
S.A (3)mecA Int1	ACTACGGTTCAAGGTACAGCTATTCAATCCACAAACAGGCCAACTGTTAGCAGTTGTCAGCA						
	130	140	150	160	170	180	
						
mecA Int 1	CACCTTCATATGACGTCTATCCATTATGATGGCATGAGTAACGAAGAATAAATAAAT						
CP mecA Int1	CACCTTCATATGACGTCTATCCATTATGATGGCATGAGTAACGAAGAATAAATAAAT						
ECN (1)mecA Int1	CACCTTCATATGACGTCTATCCATTATGATGGCATGAGTAACGAAGAATAAATAAAT						
ECN (2)mecA Int1	CACCTTCATATGACGTCTATCCATTATGATGGCATGAGTAACGAAGAATAAATAAAT						
S.A (1)mecA Int1	CACCATCTAACGATGTTATCCATTATGAATGGAATGAGTGATGAAGATTATAAGAAAT						
S.A (2)mecA Int1	CACCATCTAACGATGTTATCCATTATGAATGGAATGAGTGATGAAGATTATAAGAAAT						
S.A (3)mecA Int1	CACCATCTAACGATGTTATCCATTATGAATGGAATGAGTGATGAAGATTATAAGAAAT						

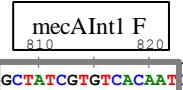
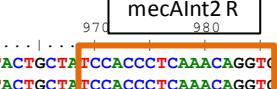
mecA Int 1	TAACCGAAGATAAAAAAGAACCTCTGCTCAACAAGTTCCAGATTACAACCTCACCAAGTT	190	200	210	220	230	240
CP mecA Int1	TAACCGAAGATAAAAAAGAACCTCTGCTCAACAAGTTCCAGATTACAACCTCACCAAGTT						
ECN (1)mecA Int1	TAACCGAAGATAAAAAAGAACCTCTGCTCAACAAGTTCCAGATTACAACCTCACCAAGTT						
ECN (2)mecA Int1	TAACCGAAGATAAAAAAGAACCTCTGCTCAACAAGTTCCAGATTACAACCTCACCAAGTT						
S.A (1)mecA Int1	TAACCGAAGATGATAAAGAACCACTTCTTAATAAGTTCCAAATCACGACATCACCTGGTT						
S.A (2)mecA Int1	TAACCGAAGATGATAAAGAACCACTTCTTAATAAGTTCCAAATCACGACATCACCTGGTT						
S.A (3)mecA Int1	TAACCGAAGATGATAAAGAACCACTTCTTAATAAGTTCCAAATCACGACATCACCTGGTT						
mecA Int 1	CAACTCAAAAATAATTAAACAGCAATGATTGGGTTAAATAACAAAAACATTAGACGATAAAA	250	260	270	280	290	300
CP mecA Int1	CAACTCAAAAATAATTAAACAGCAATGATTGGGTTAAATAACAAAAACATTAGACGATAAAA						
ECN (1)mecA Int1	CAACTCAAAAATAATTAAACAGCAATGATTGGGTTAAATAACAAAAACATTAGACGATAAAA						
ECN (2)mecA Int1	CAACTCAAAAATAATTAAACAGCAATGATTGGGTTAAATAACAAAAACATTAGACGATAAAA						
S.A (1)mecA Int1	CGACTCAAAAATAATTAAACAGCTATGATTGGCTTAAATAATAAGACTTTAGACGACAAA						
S.A (2)mecA Int1	CGACTCAAAAATAATTAAACAGCTATGATTGGCTTAAATAATAAGACTTTAGACGACAAA						
S.A (3)mecA Int1	CGACTCAAAAATAATTAAACAGCTATGATTGGCTTAAATAATAAGACTTTAGACGACAAA						
Primer F (MURAKAMI et al., 1991)							
mecA Int 1	CAAGTTATAAAATCGATGGTAAAGGTTGGAAAAAGATAAAATCTTGGGTGGTTACAACG	310	320	330	340	350	360
CP mecA Int1	CAAGTTATAAAATCGATGGTAAAGGTTGGAAAAAGATAAAATCTTGGGTGGTTACAACG						
ECN (1)mecA Int1	CAAGTTATAAAATCGATGGTAAAGGTTGGAAAAAGATAAAATCTTGGGTGGTTACAACG						
ECN (2)mecA Int1	CAAGTTATAAAATCGATGGTAAAGGTTGGAAAAAGATAAAATCTTGGGTGGTTACAACG						
S.A (1)mecA Int1	CAAGTTATAAAATTAAACGGAAAAGGATGGCAAAAAGATAAAATCTTGGGTGACTACAACG						
S.A (2)mecA Int1	CAAGTTATAAAATTAAACGGAAAAGGATGGCAAAAAGATAAAATCTTGGGTGACTACAACG						
S.A (3)mecA Int1	CAAGTTATAAAATTAAACGGAAAAGGATGGCAAAAAGATAAAATCTTGGGTGACTACAACG						
mecA Int 1	TTACAAGATATGAAGTGGTAAATGCTAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAG	370	380	390	400	410	420
CP mecA Int1	TTACAAGATATGAAGTGGTAAATGCTAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAG						
ECN (1)mecA Int1	TTACAAGATATGAAGTGGTAAATGCTAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAG						
ECN (2)mecA Int1	TTACAAGATATGAAGTGGTAAATGCTAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAG						
S.A (1)mecA Int1	TTACAAGATATGAAGTGGTAAATGCTAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAG						
S.A (2)mecA Int1	TTACAAGATATGAAGTGGTAAATGCTAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAG						
S.A (3)mecA Int1	TTACAAGATATGAAGTGGTAAATGCTAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAG						
mecA Int 1	ATAAACATTTCCTTCTGTAGAGTAGCACTCGAAATTAGGCAGTAAGAAAATTGAAAAAGGCA	430	440	450	460	470	480
CP mecA Int1	ATAAACATTTCCTTCTGTAGAGTAGCACTCGAAATTAGGCAGTAAGAAAATTGAAAAAGGCA						
ECN (1)mecA Int1	ATAAACATTTCCTTCTGTAGAGTAGCACTCGAAATTAGGCAGTAAGAAAATTGAAAAAGGCA						
ECN (2)mecA Int1	ATAAACATTTCCTTCTGTAGAGTAGCACTCGAAATTAGGCAGTAAGAAAATTGAAAAAGGCA						
S.A (1)mecA Int1	ATAATATCTTCTTCCGAGAGTTGCACTTGAATTAGGAAGCAAAAAATTCAAGAGGTAA						
S.A (2)mecA Int1	ATAATATCTTCTTCCGAGAGTTGCACTTGAATTAGGAAGCAAAAAATTCAAGAGGTAA						
S.A (3)mecA Int1	ATAATATCTTCTTCCGAGAGTTGCACTTGAATTAGGAAGCAAAAAATTCAAGAGGTAA						
mecA Int 1	TGAAAAAAACTAGGTGTTGGTGAGGATATACCAAGTGATATCCATTAAATGCTCAA	490	500	510	520	530	540
CP mecA Int1	TGAAAAAAACTAGGTGTTGGTGAGGATATACCAAGTGATATCCATTAAATGCTCAA						
ECN (1)mecA Int1	TGAAAAAAACTAGGTGTTGGTGAGGATATACCAAGTGATATCCATTAAATGCTCAA						
ECN (2)mecA Int1	TGAAAAAAACTAGGTGTTGGTGAGGATATACCAAGTGATATCCATTAAATGCTCAA						
S.A (1)mecA Int1	TGAAACGTCTAGGCCTGGTGAGGATATCCCAGTGATATCCATTCTATAATGCACAAA						
S.A (2)mecA Int1	TGAAACGTCTAGGCCTGGTGAGGATATCCCAGTGATATCCATTCTATAATGCACAAA						
S.A (3)mecA Int1	TGAAACGTCTAGGCCTGGTGAGGATATCCCAGTGATATCCATTCTATAATGCACAAA						
mecA Int 1	TT						
CP mecA Int1	TT						
ECN (1)mecA Int1	TT						
ECN (2)mecA Int1	TT						
S.A (1)mecA Int1	TT						
S.A (2)mecA Int1	TT						
S.A (3)mecA Int1	TT						

Legenda: *mecA* Int 1- sequência utilizada na elaboração do *primer* (HE681097.1); CP- cepa padrão (ATCC43300); ECN(1); ECN (2); e S.A (1,2 e 3) respectivamente.

ANEXO II- Alinhamento dos contigs do gene *mecA* de isolado de *Staphylococcus* spp. de origem humana e bovina.

mecA	TAAAGAAAATTAAATAATACATTGATGCAATTGAAGATAAAAAATTTC CP mecA TAAAGAAAATTAAATAATACATTGATGCAATTGAAGATAAAAAATTTC ECN (1)mecA TAAAGAAAATTAAATAATACATTGATGCAATTGAAGATAAAAAATTTC ECN (2)mecA TAAAGAAAATTAAATAATACATTGATGCAATTGAAGATAAAAAATTTC mecSsciuri CAGCCAAATAACGATAACACTAGATGCCATTGAAGACAAAAATGTTAAGCAAGTGTCAA S.A (1)mecA CAGCCAAATAACGATAACACTAGATGCCATTGAAGACAAAAATGTTAAGCAAGTGTCAA S.A (2)mecA CAGCCAAATAACGATAACACTAGATGCCATTGAAGACAAAAATGTTAAGCAAGTGTCAA S.A (3)mecA CAGCCAAATAACGATAACACTAGATGCCATTGAAGACAAAAATGTTAAGCAAGTGTCAA	10 20 30 40 50 60				
mecA	AGATAGCAGTTATCTAAAAGCGATAATTGGTGAAGTAGAAATGACTGAAACGTCCGAT CP mecA AGATAGCAGTTATCTAAAAGCGATAATTGGTGAAGTAGAAATGACTGAAACGTCCGAT ECN (1)mecA AGATAGCAGTTATCTAAAAGCGATAATTGGTGAAGTAGAAATGACTGAAACGTCCGAT ECN (2)mecA AGATAGCAGTTATCTAAAAGCGATAATTGGTGAAGTAGAAATGACTGAAACGTCCGAT mecSsciuri AGATAGTACTTACCAATCTAAAATGATAATTGCCGAAGTGAAATGACAGACCGCCCTAT S.A (1)mecA AGATAGTACTTACCAATCTAAAATGATAATTGCCGAAGTGAAATGACAGACCGCCCTAT S.A (2)mecA AGATAGTACTTACCAATCTAAAATGATAATTGCCGAAGTGAAATGACAGACCGCCCTAT S.A (3)mecA AGATAGTACTTACCAATCTAAAATGATAATTGCCGAAGTGAAATGACAGACCGCCCTAT	70 80 90 100 110 120				
mecA	AAAAATATAATAAGTTAGCGTTAAAGATAAAAATTTCAGGATCTAAAATAAAAA CP mecA AAAAATATAATAAGTTAGCGTTAAAGATAAAAATTTCAGGATCTAAAATAAAAA ECN (1)mecA AAAAATATAATAAGTTAGCGTTAAAGATAAAAATTTCAGGATCTAAAATAAAAA ECN (2)mecA AAAAATATAATAAGTTAGCGTTAAAGATAAAAATTTCAGGATCTAAAATAAAAA mecSsciuri TAAGATTATGACAGTCTAGGTGTAAAGCTATCAACATTAAAGATCGTATATCAAAA S.A (1)mecA TAAGATTATGACAGTCTAGGTGTAAAGCTATCAACATTAAAGATCGTATATCAAAA S.A (2)mecA TAAGATTATGACAGTCTAGGTGTAAAGCTATCAACATTAAAGATCGTATATCAAAA S.A (3)mecA TAAGATTATGACAGTCTAGGTGTAAAGCTATCAACATTAAAGATCGTATATCAAAA	130 140 150 160 170 180				
mecA	AGTATCTAAAAATAAAAACGAGTAGATGCTCAATATAAAAATTAAACAAACTACGGTA CP mecA AGTATCTAAAAATAAAAACGAGTAGATGCTCAATATAAAAATTAAACAAACTACGGTA ECN (1)mecA AGTATCTAAAAATAAAAACGAGTAGATGCTCAATATAAAAATTAAACAAACTACGGTA ECN (2)mecA AGTATCTAAAAATAAAAACGAGTAGATGCTCAATATAAAAATTAAACAAACTACGGTA mecSsciuri GGTTCAAAAAACAAAAACAAGTCACCTGCAAAATATGAACCTGCAAAACAAATTACGGAA S.A (1)mecA GGTTCAAAAAACAAAAACAAGTCACCTGCAAAATATGAACCTGCAAAACAAATTACGGAA S.A (2)mecA GGTTCAAAAAACAAAAACAAGTCACCTGCAAAATATGAACCTGCAAAACAAATTACGGAA S.A (3)mecA GGTTCAAAAAACAAAAACAAGTCACCTGCAAAATATGAACCTGCAAAACAAATTACGGAA	190 200 210 220 230 240				
mecA	CATTGATCGCAACGTTCAATTAAATTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTG CP mecA CATTGATCGCAACGTTCAATTAAATTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTG ECN (1)mecA CATTGATCGCAACGTTCAATTAAATTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTG ECN (2)mecA CATTGATCGCAACGTTCAATTAAATTGTTAAAGAAGATGGTATGTGGAAGTTAGATTG mecSsciuri AATTAACTGTGACGTTAAATTAAACATTATTAAAGAAGATAAAAGATTGGAAATTAGATTG S.A (1)mecA AATTAACTGTGACGTTAAATTAAACATTATTAAAGAAGATAAAAGATTGGAAATTAGATTG S.A (2)mecA AATTAACTGTGACGTTAAATTAAACATTATTAAAGAAGATAAAAGATTGGAAATTAGATTG S.A (3)mecA AATTAACTGTGACGTTAAATTAAACATTATTAAAGAAGATAAAAGATTGGAAATTAGATTG	250 260 270 280 290 300				
mecA	mecAint2 F					
mecA	GGATCATAGCGTCATTATTCCAGGAATGCAGAAAGACCAAGCATACATATTGAAAAATT CP mecA GGATCATAGCGTCATTATTCCAGGAATGCAGAAAGACCAAGCATACATATTGAAAAATT ECN (1)mecA GGATCATAGCGTCATTATTCCAGGAATGCAGAAAGACCAAGCATACATATTGAAAAATT ECN (2)mecA GGATCATAGCGTCATTATTCCAGGAATGCAGAAAGACCAAGCATACATATTGAAAAATT mecSsciuri GAATCAAAGTGTCACTCATTCAGGCATGCAGAAAAATCAAATCATCAATTGAAACCAT S.A (1)mecA GAATCAAAGTGTCACTCATTCAGGCATGCAGAAAAATCAAATCATCAATTGAAACCAT S.A (2)mecA GAATCAAAGTGTCACTCATTCAGGCATGCAGAAAAATCAAATCATCAATTGAAACCAT S.A (3)mecA GAATCAAAGTGTCACTCATTCAGGCATGCAGAAAAATCAAATCATCAATTGAAACCAT	310 320 330 340 350 360				
mecSsciuriInt F						

<pre> 370 380 390 400 410 420 mecA AAAATCAGAACGTGTTAAAATTTAGACCGAAACAAATGTGGATTGCCCATACAGGAAC CP mecA AAAATCAGAACGTGTTAAAATTTAGACCGAAACAAATGTGGATTGCCCATACAGGAAC ECN (1)mecA AAAATCAGAACGTGTTAAAATTTAGACCGAAACAAATGTGGATTGCCCATACAGGAAC ECN (2)mecA AAAATCAGAACGTGTTAAAATTTAGACCGAAACAAATGTGGATTGCCCATACAGGAAC mecSsciuri GAAAATCAGAACGAGGTAAGATTTAGACCGAAAATAATGTAGAATTAGCCACTACAGGAAC S.A (1)mecA GAAAATCAGAACGAGGTAAGATTTAGACCGAAAATAATGTAGAATTAGCCACTACAGGAAC S.A (2)mecA GAAAATCAGAACGAGGTAAGATTTAGACCGAAAATAATGTAGAATTAGCCACTACAGGAAC S.A (3)mecA GAAAATCAGAACGAGGTAAGATTTAGACCGAAAATAATGTAGAATTAGCCACTACAGGAAC </pre>	mecAantes R
<pre> 430 440 450 460 470 480 mecA AGCATATGAGATAGGCATCGTCCAAAGAAATGTATCTAAAAAAGATTAATAAGCAAATCGC CP mecA AGCATATGAGATAGGCATCGTCCAAAGAAATGTATCTAAAAAAGATTAATAAGCAAATCGC ECN (1)mecA AGCATATGAGATAGGCATCGTCCAAAGAAATGTATCTAAAAAAGATTAATAAGCAAATCGC ECN (2)mecA AGCATATGAGATAGGCATCGTCCAAAGAAATGTATCTAAAAAAGATTAATAAGCAAATCGC mecSsciuri AGCACATGAAAGTTGGCATTGTCCTAAATAATGTTTGCACAAAGTGATTAACAAGCAAATCGC S.A (1)mecA AGCACATGAAAGTTGGCATTGTCCTAAATAATGTTTGCACAAAGTGATTAACAAGCAAATCGC S.A (2)mecA AGCACATGAAAGTTGGCATTGTCCTAAATAATGTTTGCACAAAGTGATTAACAAGCAAATCGC S.A (3)mecA AGCACATGAAAGTTGGCATTGTCCTAAATAATGTTTGCACAAAGTGATTAACAAGCAAATCGC </pre>	mecSsciuriAntes R
<pre> 490 500 510 520 530 540 mecA TAAAGAACTAAAGTATTCCTGAAGACTATACTAAACAAACAAATGGATCAAAATTGGGTACA CP mecA TAAAGAACTAAAGTATTCCTGAAGACTATACTAAACAAACAAATGGATCAAAATTGGGTACA ECN (1)mecA TAAAGAACTAAAGTATTCCTGAAGACTATACTAAACAAACAAATGGATCAAAATTGGGTACA ECN (2)mecA TAAAGAACTAAAGTATTCCTGAAGACTATACTAAACAAACAAATGGATCAAAATTGGGTACA mecSsciuri TGAAAATAGACCCTTCAGAATCGTATATTAAACACAAAGCTGAACAGGAATTGGGTCAA S.A (1)mecA TGAAAATAGACCCTTCAGAATCGTATATTAAACACAAAGCTGAACAGGAATTGGGTCAA S.A (2)mecA TGAAAATAGACCCTTCAGAATCGTATATTAAACACAAAGCTGAACAGGAATTGGGTCAA S.A (3)mecA TGAAAATAGACCCTTCAGAATCGTATATTAAACACAAAGCTGAACAGGAATTGGGTCAA </pre>	
<pre> 550 560 570 580 590 600 mecA AGATGATACCTTCGTTCCACTTAAACCCCTTAAAAAAATGGATGAATATTAAAGTGATTT CP mecA AGATGATACCTTCGTTCCACTTAAACCCCTTAAAAAAATGGATGAATATTAAAGTGATTT ECN (1)mecA AGATGATACCTTCGTTCCACTTAAACCCCTTAAAAAAATGGATGAATATTAAAGGAGATT ECN (2)mecA AGATGATACCTTCGTTCCACTTAAACCCCTTAAAAAAATGGATGAATATTAAAGGAGATT mecSsciuri AGATGATACCTTCGTTCCACTTAAACCCCTTAAAAAAATGGATGAATATTAAAGGAGATT S.A (1)mecA AGATGATACCTTCGTTCCACTTAAACCCCTTAAAAAAATGGATGAATATTAAAGGAGATT S.A (2)mecA AGATGATACCTTCGTTCCACTTAAACCCCTTAAAAAAATGGATGAATATTAAAGGAGATT S.A (3)mecA AGATGATACCTTCGTTCCACTTAAACCCCTTAAAAAAATGGATGAATATTAAAGGAGATT </pre>	
<pre> 610 620 630 640 650 660 mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACTTAATGAAACAGAAAGTCGTAACATCTCTTAGAAAA CP mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACTTAATGAAACAGAAAGTCGTAACATCTCTTAGAAAA ECN (1)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACTTAATGAAACAGAAAGTCGTAACATCTCTTAGAAAA ECN (2)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACTTAATGAAACAGAAAGTCGTAACATCTCTTAGAAAA mecSsciuri TGTTGAAAAGTATCATCTCACAAACACAAGAAAAGAAAGTCGACAGTATCCGCTTGAAAGA S.A (1)mecA TGTTGAAAAGTATCATCTCACAAACACAAGAAAAGAAAGTCGACAGTATCCGCTTGAAAGA S.A (2)mecA TGTTGAAAAGTATCATCTCACAAACACAAGAAAAGAAAGTCGACAGTATCCGCTTGAAAGA S.A (3)mecA TGTTGAAAAGTATCATCTCACAAACACAAGAAAAGAAAGTCGACAGTATCCGCTTGAAAGA </pre>	
<pre> 670 680 690 700 710 720 mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTAGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAAACAAAA CP mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTAGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAAACAAAA ECN (1)mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTAGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAAACAAAA ECN (2)mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTAGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAAACAAAA mecSsciuri AGCAACACCGACTTGCTTGGTTAGTTGGCCCTATTAACTCTGAAGAATTAAAAACAAAA S.A (1)mecA AGCAACACCGACTTGCTTGGTTAGTTGGCCCTATTAACTCTGAAGAATTAAAAACAAAA S.A (2)mecA AGCAACACCGACTTGCTTGGTTAGTTGGCCCTATTAACTCTGAAGAATTAAAAACAAAA S.A (3)mecA AGCAACACCGACTTGCTTGGTTAGTTGGCCCTATTAACTCTGAAGAATTAAAAACAAAA </pre>	
<pre> 730 740 750 760 770 780 mecA AGAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA CP mecA AGAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA ECN (1)mecA AGAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA ECN (2)mecA AGAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA mecSsciuri AGCATTAAAGGTTATAAAAAGATGCCATCGCTGGTAAAAAGGAATCGAAAAACTTTA S.A (1)mecA AGCATTAAAGGTTATAAAAAGATGCCATCGCTGGTAAAAAGGAATCGAAAAACTTTA S.A (2)mecA AGCATTAAAGGTTATAAAAAGATGCCATCGCTGGTAAAAAGGAATCGAAAAACTTTA S.A (3)mecA AGCATTAAAGGTTATAAAAAGATGCCATCGCTGGTAAAAAGGAATCGAAAAACTTTA </pre>	

mecAInt1 F 
<pre> 790 800 810 820 830 840 mecA CGATAAAAAGCTCCAACATGAAGATGCTATCGTGTCAAACTGGTACGATAATAGCAA CP mecA CGATAAAAAGCTCCAACATGAAGATGCTATCGTGTCAAACTGGTACGATAATAGCAA ECN (1)mecA CGATAAAAAGCTCCAACATGAAGATGCTATCGTGTCAAACTGGTACGATAATACCAA ECN (2)mecA CGATAAAAAGCTCCAACATGAAGATGCTATCGTGTCAAACTGGTACGATAATACCAA mecSsciuri CGATAAAAGACCTTCAAAATAAGACGGATATCGGGTCACAATAATTGATAATAA--- S.A (1)mecA CGATAAAAGACCTTCAAAATAAGACGGATATCGGGTCACAATAATTGATAATAA--- S.A (2)mecA CGATAAAAGACCTTCAAAATAAGACGGATATCGGGTCACAATAATTGATAATAA--- S.A (3)mecA CGATAAAAGACCTTCAAAATAAGACGGATATCGGGTCACAATAATTGATAATAA--- </pre>
mecAInt2 R 
<pre> 910 920 930 940 950 960 mecA TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG CP mecA TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG ECN (1)mecA TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG ECN (2)mecA TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG mecSsciuri ---AGTATTGATACATTAATAAGAAAAAGAAAAAGATGGCAAGAATTAAATTAAAC S.A (1)mecA ---AGTATTGATACATTAATAAGAAAAAGAAAAAGATGGCAAGAATTAAATTAAAC S.A (2)mecA ---AGTATTGATACATTAATAAGAAAAAGAAAAAGATGGCAAGAATTAAATTAAAC S.A (3)mecA ---AGTATTGATACATTAATAAGAAAAAGAAAAAGATGGCAAGAATTAAATTAAAC 970 980 990 1000 1010 1020 mecA TACTGCTATCCACCCCTCAAAACAGGTCAATTATTAGCATTGTAAGCACACCTTCATATGA CP mecA TACTGCTATCCACCCCTCAAAACAGGTCAATTATTAGCATTGTAAGCACACCTTCATATGA ECN (1)mecA TACTGCTATCCACCCCTCAAAACAGGTCAATTATTAGCATTGTAAGCACACCTTCATATGA ECN (2)mecA TACTGCTATCCACCCCTCAAAACAGGTCAATTATTAGCATTGTAAGCACACCTTCATATGA mecSsciuri TACAGCTATTCCACCCCTCAAAACAGGTCAATTATTAGCATTGTAAGCACACCTTCATATGA S.A (1)mecA TACAGCTATTCCACCCCTCAAAACAGGTCAATTATTAGCATTGTAAGCACACCTTCATATGA S.A (2)mecA TACAGCTATTCCACCCCTCAAAACAGGTCAATTATTAGCATTGTAAGCACACCTTCATATGA S.A (3)mecA TACAGCTATTCCACCCCTCAAAACAGGTCAATTATTAGCATTGTAAGCACACCTTCATATGA 1030 1040 1050 1060 1070 1080 mecA CGTCTATCCATTATGATGGCATGACTAACGAAGATAATAAATTAAACCGAAGATAA CP mecA CGTCTATCCATTATGATGGCATGACTAACGAAGATAATAAATTAAACCGAAGATAA ECN (1)mecA CGTCTATCCATTATGATGGCATGACTAACGAAGATAATAAATTAAACCGAAGATAA ECN (2)mecA CGTCTATCCATTATGATGGCATGACTAACGAAGATAATAAATTAAACCGAAGATAA mecSsciuri TGTTTATCCATTATGAAATGGAATGAGTGATGAAGATAAAGAAATTAAACCGAAGATGA S.A (1)mecA TGTTTATCCATTATGAAATGGAATGAGTGATGAAGATAAAGAAATTAAACCGAAGATGA S.A (2)mecA TGTTTATCCATTATGAAATGGAATGAGTGATGAAGATAAAGAAATTAAACCGAAGATGA S.A (3)mecA TGTTTATCCATTATGAAATGGAATGAGTGATGAAGATAAAGAAATTAAACCGAAGATGA </pre>

Primer F (MURAKAMI, et al., 1991)

1090	1100	1110	1120	1130	1140	
memA	AAAAGAACCTCTGCTCACAAAGTTCCAGATAACACTTCACCAAGGTTCAACTCAAAAAAT					
CP memA	AAAAGAACCTCTGCTCACAAAGTTCCAGATAACACTTCACCAAGGTTCAACTCAAAAAAT					
ECN (1) memA	AAAAGAACCTCTGCTCACAAAGTTCCAGATAACACTTCACCAAGGTTCAACTCAAAAAAT					
ECN (2) memA	AAAAGAACCTCTGCTCACAAAGTTCCAGATAACACTTCACCAAGGTTCAACTCAAAAAAT					
mecSSciuri	TAAGAACCCACTTCTAATAAGTTCCAAATCACG, CATCACCTGGTTGACTCAAAAT					
S.A (1) memA	TAAGAACCCACTTCTAATAAGTTCCAAATCACG, CATCACCTGGTTGACTCAAAAT					
S.A (2) memA	TAAGAACCCACTTCTAATAAGTTCCAAATCACG, CATCACCTGGTTGACTCAAAAT					
S.A (3) memA	TAAGAACCCACTTCTAATAAGTTCCAAATCACG, CATCACCTGGTTGACTCAAAAT					
mecSSciuriInt R						
1150	1160	1170	1180	1190	1200	
memA	ATTAAACAGCAAATGATTGGGTTAAATAACAAACATTAGACGATAAAACAAGTTAAAT					
CP memA	ATTAAACAGCAAATGATTGGGTTAAATAACAAACATTAGACGATAAAACAAGTTAAAT					
ECN (1) memA	ATTAAACAGCAAATGATTGGGTTAAATAACAAACATTAGACGATAAAACAAGTTAAAT					
ECN (2) memA	ATTAAACAGCAAATGATTGGGTTAAATAACAAACATTAGACGATAAAACAAGTTAAAT					
mecSSciuri	ATTAAACAGCTATGATTGGCTTAAATAAAGACTTTAGACGACAAAACAAGTTAAAT					
S.A (1) memA	ATTAAACAGCTATGATTGGCTTAAATAAAGACTTTAGACGACAAAACAAGTTAAAT					
S.A (2) memA	ATTAAACAGCTATGATTGGCTTAAATAAAGACTTTAGACGACAAAACAAGTTAAAT					
S.A (3) memA	ATTAAACAGCTATGATTGGCTTAAATAAAGACTTTAGACGACAAAACAAGTTAAAT					
1210	1220	1230	1240	1250	1260	
memA	CGATGGTAAAGGTTGGCAAAAGATAAAATCTGGGGTGTTACACGTTACAAGATATGA					
CP memA	CGATGGTAAAGGTTGGCAAAAGATAAAATCTGGGGTGTTACACGTTACAAGATATGA					
ECN (1) memA	CGATGGTAAAGGTTGGCAAAAGATAAAATCTGGGGTGTTACACGTTACAAGATATGA					
ECN (2) memA	CGATGGTAAAGGTTGGCAAAAGATAAAATCTGGGGTGTTACACGTTACAAGATATGA					
mecSSciuri	TAACGGAAAAGGTGGCAAAAGATAAAATCTGGGGTGACTACACGTTACAAGATATGA					
S.A (1) memA	TAACGGAAAAGGTGGCAAAAGATAAAATCTGGGGTGACTACACGTTACAAGATATGA					
S.A (2) memA	TAACGGAAAAGGTGGCAAAAGATAAAATCTGGGGTGACTACACGTTACAAGATATGA					
S.A (3) memA	TAACGGAAAAGGTGGCAAAAGATAAAATCTGGGGTGACTACACGTTACAAGATATGA					
1270	1280	1290	1300	1310	1320	
memA	AGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAAATCATCAGATAACATTTCTT					
CP memA	AGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAAATCATCAGATAACATTTCTT					
ECN (1) memA	AGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAAATCATCAGATAACATTTCTT					
ECN (2) memA	AGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAAAGCAATAGAAATCATCAGATAACATTTCTT					
mecSSciuri	AGTTGGTAAATGGTATATCGATTAAACAAAGCTATTGAATCATCAGATAATACTCTTCTT					
S.A (1) memA	AGTTGGTAAATGGTATATCGATTAAACAAAGCTATTGAATCATCAGATAATACTCTTCTT					
S.A (2) memA	AGTTGGTAAATGGTATATCGATTAAACAAAGCTATTGAATCATCAGATAATACTCTTCTT					
S.A (3) memA	AGTTGGTAAATGGTATATCGATTAAACAAAGCTATTGAATCATCAGATAATACTCTTCTT					
mecAPos F						
1330	1340	1350	1360	1370	1380	
memA	TGCTAGAGTTGCACCTCGAAATTAGGCAGTAAGAATTTCGAAAAAGGCATGAAAAAACTAGG					
CP memA	TGCTAGAGTTGCACCTCGAAATTAGGCAGTAAGAATTTCGAAAAAGGCATGAAAAAACTAGG					
ECN (1) memA	TGCTAGAGTTGCACCTCGAAATTAGGCAGTAAGAATTTCGAAAAAGGCATGAAAAAACTAGG					
ECN (2) memA	TGCTAGAGTTGCACCTCGAAATTAGGCAGTAAGAATTTCGAAAAAGGCATGAAAAAACTAGG					
mecSSciuri	TGCGAGAGTTGCACCTGGAAATTAGGAAGCAAAATACTCGAAGAGGTATGAAACGTCTAGG					
S.A (1) memA	TGCGAGAGTTGCACCTGGAAATTAGGAAGCAAAATACTCGAAGAGGTATGAAACGTCTAGG					
S.A (2) memA	TGCGAGAGTTGCACCTGGAAATTAGGAAGCAAAATACTCGAAGAGGTATGAAACGTCTAGG					
S.A (3) memA	TGCGAGAGTTGCACCTGGAAATTAGGAAGCAAAATACTCGAAGAGGTATGAAACGTCTAGG					
1390	1400	1410	1420	1430	1440	
memA	TGTTGGTGAAGATAATCCAAAGTGAATTATCCATTTTATTAATGCTCAAAATTCAACAAAAA					
CP memA	TGTTGGTGAAGATAATCCAAAGTGAATTATCCATTTTATTAATGCTCAAAATTCAACAAAAA					
ECN (1) memA	TGTTGGTGAAGATAATCCAAAGTGAATTATCCATTTTATTAATGCTCAAAATTCAACAAAAA					
ECN (2) memA	TGTTGGTGAAGATAATCCAAAGTGAATTATCCATTTTATTAATGCTCAAAATTCAACAAAAA					
mecSSciuri	CGTTGGTGAAGATAATCCCAGTGAATTATCCATTCTATATAATGCAACAAATTCAAAATAAGAA					
S.A (1) memA	CGTTGGTGAAGATAATCCCAGTGAATTATCCATTCTATATAATGCAACAAATTCAAAATAAGAA					
S.A (2) memA	CGTTGGTGAAGATAATCCCAGTGAATTATCCATTCTATATAATGCAACAAATTCAAAATAAGAA					
S.A (3) memA	CGTTGGTGAAGATAATCCCAGTGAATTATCCATTCTATATAATGCAACAAATTCAAAATAAGAA					
mecAIntl R						
1450	1460	1470	1480	1490	1500	
memA	TTTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATCAGGTTACGGACAAGGTGAATACGTGATTA					
CP memA	TTTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATCAGGTTACGGACAAGGTGAATACGTGATTA					
ECN (1) memA	TTTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATCAGGTTACGGACAAGGTGAATACGTGATTA					
ECN (2) memA	TTTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATCAGGTTACGGACAAGGTGAATACGTGATTA					
mecSSciuri	CTTAGATAATGAAATATTGTTAGCTGACTCGGTATGGTATGGACAAGGCCAAAAATTGATTTA					
S.A (1) memA	CTTAGATAATGAAATATTGTTAGCTGACTCGGTATGGTATGGACAAGGCCAAAAATTGATTTA					
S.A (2) memA	CTTAGATAATGAAATATTGTTAGCTGACTCGGTATGGTATGGACAAGGCCAAAAATTGATTTA					
S.A (3) memA	CTTAGATAATGAAATATTGTTAGCTGACTCGGTATGGTATGGACAAGGCCAAAAATTGATTTA					
mecSSciuriPos F						
1510	1520	1530	1540	1550	1560	
memA	CCCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCCATTAGAAAAATACTGGCAATATTAACGCCACC					
CP memA	CCCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCCATTAGAAAAATACTGGCAATATTAACGCCACC					
ECN (1) memA	CCCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCCATTAGAAAAATACTGGCAATATTAACGCCACC					
ECN (2) memA	CCCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCCATTAGAAAAATACTGGCAATATTAACGCCACC					
mecSSciuri	TCCCTGTTCAAATTCTTCATCTATAGCCATTAGAAAAATACTGGCAATATTAACGCCACC					
S.A (1) memA	TCCCTGTTCAAATTCTTCATCTATAGCCATTAGAAAAATACTGGCAATATTAACGCCACC					
S.A (2) memA	TCCCTGTTCAAATTCTTCATCTATAGCCATTAGAAAAATACTGGCAATATTAACGCCACC					
S.A (3) memA	TCCCTGTTCAAATTCTTCATCTATAGCCATTAGAAAAATACTGGCAATATTAACGCCACC					
1570	1580	1590	1600	1610	1620	
memA	TCACCTTAAAGAACACGAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATACTGGCAATATTTCCAGGAAA					
CP memA	TCACCTTAAAGAACACGAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATACTGGCAATATTTCCAGGAAA					
ECN (1) memA	TCACCTTAAAGAACACGAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATACTGGCAATATTTCCAGGAAA					
ECN (2) memA	TCACCTTAAAGAACACGAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATACTGGCAATATTTCCAGGAAA					
mecSSciuri	ACATGTACTCAAAGATACGAAAAATAAGCTGGAAAGAGAACATCATTCCCAGGAAA					
S.A (1) memA	ACATGTACTCAAAGATACGAAAAATAAGCTGGAAAGAGAACATCATTCCCAGGAAA					
S.A (2) memA	ACATGTACTCAAAGATACGAAAAATAAGCTGGAAAGAGAACATCATTCCCAGGAAA					
S.A (3) memA	ACATGTACTCAAAGATACGAAAAATAAGCTGGAAAGAGAACATCATTCCCAGGAAA					

	1630	1640	1650	1660	1670	1680	
mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCCAACAAAGTCGTTAAATAAAAACACATAAAAGAGATAT						
CP mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCCAACAAAGTCGTTAAATAAAAACACATAAAAGAGATAT						
ECN (1)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCCAACAAAGTCGTTAAATAAAAACACATAAAAGAGATAT						
ECN (2)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCCAACAAAGTCGTTAAATAAAAACACATAAAAGAGATAT						
mecSsciuri	TATTAATTGTTAACAGACGGCATGCCAACAAAGTCGTAACAAAACACATAAGAGATAT						
S.A (1)mecA	TATTAATTGTTAACAGACGGCATGCCAACAAAGTCGTAACAAAACACATAAGAGATAT						
S.A (2)mecA	TATTAATTGTTAACAGACGGCATGCCAACAAAGTCGTAACAAAACACATAAGAGATAT						
S.A (3)mecA	TATTAATTGTTAACAGACGGCATGCCAACAAAGTCGTAACAAAACACATAAGAGATAT						
	Primer R (MURAKAMI et al., 1991)						
	1690	1700	1710	1720	1730	1740	
mecA	TTATAGATCTTATGCCAACCTTAATTGGCAAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAATGAAACA						
CP mecA	TTATAGATCTTATGCCAACCTTAATTGGCAAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAATGAAACA						
ECN (1)mecA	TTATAGATCTTATGCCAACCTTAATTGGCAAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAATGAAACA						
ECN (2)mecA	TTATAGATCTTATGCCAACCTTAATTGGCAAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAATGAAACA						
mecSsciuri	TTATAGATCATATGCCAACCTTAGTTGGTAAATCAGGCCACAGCTGAACCTCAAAGATGAAACA						
S.A (1)mecA	TTATAGATCATATGCCAACCTTAGTTGGTAAATCAGGCCACAGCTGAACCTCAAAGATGAAACA						
S.A (2)mecA	TTATAGATCATATGCCAACCTTAGTTGGTAAATCAGGCCACAGCTGAACCTCAAAGATGAAACA						
S.A (3)mecA	TTATAGATCATATGCCAACCTTAGTTGGTAAATCAGGCCACAGCTGAACCTCAAAGATGAAACA						
	1750	1760	1770	1780	1790	1800	
mecA	AGGAGAAACTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAAGATAATCCAAACAT						
CP mecA	AGGAGAAACTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAAGATAATCCAAACAT						
ECN (1)mecA	AGGAGAAACTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAAGATAATCCAAACAT						
ECN (2)mecA	AGGAGAAACTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAAGATAATCCAAACAT						
mecSsciuri	AGGTGAGACAGGCCACAAATAGGTTGGTTCATTTCTTATAATAAAAGATAATCCAAATAT						
S.A (1)mecA	AGGTGAGACAGGCCACAAATAGGTTGGTTCATTTCTTATAATAAAAGATAATCCAAATAT						
S.A (2)mecA	AGGTGAGACAGGCCACAAATAGGTTGGTTCATTTCTTATAATAAAAGATAATCCAAATAT						
S.A (3)mecA	AGGTGAGACAGGCCACAAATAGGTTGGTTCATTTCTTATAATAAAAGATAATCCAAATAT						
	1810	1820	1830				
mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA						
CP mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA						
ECN (1)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA						
ECN (2)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA						
mecSsciuri	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA						
S.A (1)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA						
S.A (2)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA						
S.A (3)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA						

Legenda: *mecA* (HE681097.1); CP- cepa padrão (ATCC43300); ECN(1); ECN (2); e S.A (1,2 e 3) respectivamente. *Primers* em destaque: MURAKAMI, (F e R) *mecSsciuriAntes R*; *mecSsciuri Int F*; *mecSsciuri Int R*; *mecSsciuriPos F*.

ANEXO III- Alinhamento dos contigs do gene *mecA* de isolado de *Staphylococcus* spp. de origem humana, bovina e equina.

mecA	TAAAGAAA T TAATAAT A CTATTGAT G CAATT G AGA T AAA A TTT C AAAC A AG T TT T AA	10 20 30 40 50 60
CP mecA	TAAAGAAA T TAATAAT A CTATTGAT G CAATT G AGA T AAA A TTT C AAAC A AG T TT T AA	
ECN (1)memA	TAAAGAAA T TAATAAT A CTATTGAT G CAATT G AGA T AAA A TTT C AAAC A AG T TT T AA	
ECN (2)memA	TAAAGAAA T TAATAAT A CTATTGAT G CAATT G AGA T AAA A TTT C AAAC A AG T TT T AA	
mecSsciuri	CAGCCAA T AAAC G ATAC A CTAGAT G CCATT G AGAC A AAA A T G TAAG C AG T TT C AA	
S.A (1)memA	CAGCCAA T AAAC G ATAC A CTAGAT G CCATT G AGAC A AAA A T G TAAG C AG T TT C AA	
S.A (2)memA	CAGCCAA T AAAC G ATAC A CTAGAT G CCATT G AGAC A AAA A T G TAAG C AG T TT C AA	
S.A (3)memA	CAGCCAA T AAAC G ATAC A CTAGAT G CCATT G AGAC A AAA A T G TAAG C AG T TT C AA	
S.sciuri (1)memA	TAAAGAAA T TAATAAT A CTATTGAT G CAATT G AGA T AAA A TTT C AAAC A AG T TT T AA	
S.sciuri (2)memA	TAAAGAAA T TAATAAT A CTATTGAT G CAATT G AGA T AAA A TTT C AAAC A AG T TT T AA	
S.lentus memA	TAAAGAAA T TAATAAT A CTATTGAT G CAATT G AGA T AAA A TTT C AAAC A AG T TT T AA	
mecA	AGATAGCAGTTATTTCTAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAA A T G ACT G AAC G T T CG G AT	70 80 90 100 110 120
CP mecA	AGATAGCAGTTATTTCTAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAA A T G ACT G AAC G T T CG G AT	
ECN (1)memA	AGATAGCAGTTATTTCTAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAA A T G ACT G AAC G T T CG G AT	
ECN (2)memA	AGATAGCAGTTATTTCTAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAA A T G ACT G AAC G T T CG G AT	
mecSsciuri	AGATAGTACTTACCAAT C AAAA A T G ATAAT G CG A GTGG A AT G AC A GG C CC C T A	
S.A (1)memA	AGATAGTACTTACCAAT C AAAA A T G ATAAT G CG A GTGG A AT G AC A GG C CC C T A	
S.A (2)memA	AGATAGTACTTACCAAT C AAAA A T G ATAAT G CG A GTGG A AT G AC A GG C CC C T A	
S.A (3)memA	AGATAGTACTTACCAAT C AAAA A T G ATAAT G CG A GTGG A AT G AC A GG C CC C T A	
S.sciuri (1)memA	AGATAGCAGTTATTTCTAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAA A T G ACT G AAC G T T CG G AT	
S.sciuri (2)memA	AGATAGCAGTTATTTCTAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAA A T G ACT G AAC G T T CG G AT	
S.lentus memA	AGATAGCAGTTATTTCTAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAA A T G ACT G AAC G T T CG G AT	
mecA	AAAAA T AT A TAAT A TAGTTAG G CG T AAAG A T A AA A C T CA G AT C GT A AA A TTAAAAA	130 140 150 160 170 180
CP mecA	AAAAA T AT A TAAT A TAGTTAG G CG T AAAG A T A AA A C T CA G AT C GT A AA A TTAAAAA	
ECN (1)memA	AAAAA T AT A TAAT A TAGTTAG G CG T AAAG A T A AA A C T CA G AT C GT A AA A TTAAAAA	
ECN (2)memA	AAAAA T AT A TAAT A TAGTTAG G CG T AAAG A T A AA A C T CA G AT C GT A AA A TTAAAAA	
mecSsciuri	TAAGATT T AT G AC G T C AG G T C AA A GT C TA A AC A AT T AA A AG A T C GT G AT T CA AAA	
S.A (1)memA	TAAGATT T AT G AC G T C AG G T C AA A GT C TA A AC A AT T AA A AG A T C GT G AT T CA AAA	
S.A (2)memA	TAAGATT T AT G AC G T C AG G T C AA A GT C TA A AC A AT T AA A AG A T C GT G AT T CA AAA	
S.A (3)memA	TAAGATT T AT G AC G T C AG G T C AA A GT C TA A AC A AT T AA A AG A T C GT G AT T CA AAA	
S.sciuri (1)memA	AAAAA T AT A TAAT A TAGTTAG G CG T AAAG A T A AA A C T CA G AT C GT A AA A TTAAAAA	
S.sciuri (2)memA	AAAAA T AT A TAAT A TAGTTAG G CG T AAAG A T A AA A C T CA G AT C GT A AA A TTAAAAA	
S.lentus memA	AAAAA T AT A TAAT A TAGTTAG G CG T AAAG A T A AA A C T CA G AT C GT A AA A TTAAAAA	
mecA	AGTA T CT A AAA A T A AAA A CG A GT A AT G CT C TA A T A AAA A TT A AAA A AA A CT A CG G TA A	190 200 210 220 230 240
CP mecA	AGTA T CT A AAA A T A AAA A CG A GT A AT G CT C TA A T A AAA A TT A AAA A AA A CT A CG G TA A	
ECN (1)memA	AGTA T CT A AAA A T A AAA A CG A GT A AT G CT C TA A T A AAA A TT A AAA A AA A CT A CG G TA A	
ECN (2)memA	AGTA T CT A AAA A T A AAA A CG A GT A AT G CT C TA A T A AAA A TT A AAA A AA A CT A CG G TA A	
mecSsciuri	GGTT T CA AAA AA A CA A GT C AC T CG C AA A AT T GA A CT G CA AA AA A TT T AC GG CA A	
S.A (1)memA	GGTT T CA AAA AA A CA A GT C AC T CG C AA A AT T GA A CT G CA AA AA A TT T AC GG CA A	
S.A (2)memA	GGTT T CA AAA AA A CA A GT C AC T CG C AA A AT T GA A CT G CA AA AA A TT T AC GG CA A	
S.A (3)memA	GGTT T CA AAA AA A CA A GT C AC T CG C AA A AT T GA A CT G CA AA AA A TT T AC GG CA A	
S.sciuri (1)memA	AGTA T CT A AAA A T A AAA A CG A GT A AT G CT C TA A T A AAA A TT A AAA A AA A CT A CG G TA A	
S.sciuri (2)memA	AGTA T CT A AAA A T A AAA A CG A GT A AT G CT C TA A T A AAA A TT A AAA A AA A CT A CG G TA A	
S.lentus memA	AGTA T CT A AAA A T A AAA A CG A GT A AT G CT C TA A T A AAA A TT A AAA A AA A CT A CG G TA A	
mecA	CATTGAT C CC A AC G TT C AA T TA T TT T GT T AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	250 260 270 280 290 300
CP mecA	CATTGAT C CC A AC G TT C AA T TA T TT T GT T AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
ECN (1)memA	CATTGAT C CC A AC G TT C AA T TA T TT T GT T AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
ECN (2)memA	CATTGAT C CC A AC G TT C AA T TA T TT T GT T AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
mecSsciuri	ATTAAT C GT A CG T AA A TT A AA A CT T TT A TT A AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
S.A (1)memA	ATTAAT C GT A CG T AA A TT A AA A CT T TT A TT A AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
S.A (2)memA	ATTAAT C GT A CG T AA A TT A AA A CT T TT A TT A AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
S.A (3)memA	ATTAAT C GT A CG T AA A TT A AA A CT T TT A TT A AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
S.sciuri (1)memA	CATTGAT C CC A AC G TT C AA T TA T TT T GT T AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
S.sciuri (2)memA	CATTGAT C CC A AC G TT C AA T TA T TT T GT T AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	
S.lentus memA	CATTGAT C CC A AC G TT C AA T TA T TT T GT T AA A GA A T G GT T AT G T G GA A GT A TT G AT T G	

	310	320	330	340	350	360	
mecA	GGATCATAGCGTCA	TTCCAGGA	TGCA	GAAAAGAC	CAAAGC	TACAT	TATTGAAAAATT
CP mecA	GGATCATAGCGTCA	TTCCAGGA	TGCA	GAAAAGAC	CAAAGC	TACAT	TATTGAAAAATT
ECN (1)mecA	GGATCATAGCGTCA	TTCCAGGA	TGCA	GAAAAGAC	CAAAGC	TACAT	TATTGAAAAATT
ECN (2)mecA	GGATCATAGCGTCA	TTCCAGGA	TGCA	GAAAAGAC	CAAAGC	TACAT	TATTGAAAAATT
mecSsciuri	GAATCAAAGTGTC	ATCATC	ATCCAGGC	ATGCAGAAAAA	TCAATCC	CATCA	TATTGAACCATT
S.A (1)mecA	GAATCAAAGTGTC	ATCATC	ATCCAGGC	ATGCAGAAAAA	TCAATCC	CATCA	TATTGAACCATT
S.A (2)mecA	GAATCAAAGTGTC	ATCATC	ATCCAGGC	ATGCAGAAAAA	TCAATCC	CATCA	TATTGAACCATT
S.A (3)mecA	GAATCAAAGTGTC	ATCATC	ATCCAGGC	ATGCAGAAAAA	TCAATCC	CATCA	TATTGAACCATT
S.sciuri (1)mecA	GGATCATAGCGTCA	TTCCAGGA	TGCA	GAAAAGAC	CAAAGC	TACAT	TATT-----
S.sciuri (2)mecA	GGATCATAGCGTCA	TTCCAGGA	TGCA	GAAAAGAC	CAAAGC	TACAT	TATTGAAAAATT
S.lentus mecA	GGATCATAGCGTCA	TTCCAGGA	TGCA	GAAAAGAC	CAAAGC	TACAT	TATTGAAAAATT
	370	380	390	400	410	420	
mecA	AAAATCAGAACGTGG	TTAAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTGGCCA	ATACAGGAAC	
CP mecA	AAAATCAGAACGTGG	TTAAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTGGCCA	ATACAGGAAC	
ECN (1)mecA	AAAATCAGAACGTGG	TTAAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTGGCCA	ATACAGGAAC	
ECN (2)mecA	AAAATCAGAACGTGG	TTAAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTGGCCA	ATACAGGAAC	
mecSsciuri	GAAATCAGAACGGG	TAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTAGCCAC	ATACAGGAAC	
S.A (1)mecA	GAAATCAGAACGGG	TAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTAGCCAC	ATACAGGAAC	
S.A (2)mecA	GAAATCAGAACGGG	TAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTAGCCAC	ATACAGGAAC	
S.A (3)mecA	GAAATCAGAACGGG	TAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTAGCCAC	ATACAGGAAC	
S.sciuri (1)mecA	AAAATCAGAACGTGG	TTAAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTGGCCA	ATACAGGAAC	
S.sciuri (2)mecA	AAAATCAGAACGTGG	TTAAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTGGCCA	ATACAGGAAC	
S.lentus mecA	AAAATCAGAACGTGG	TTAAAGATT	TTAGACCGAA	AACTGTGGA	ATTGGCCA	ATACAGGAAC	
	430	440	450	460	470	480	
mecA	AGCATATGAGATAGGC	ATCGTT	CCAAAGAA	GTATCT	AAAAAAGATT	ATAAGCAATCGC	
CP mecA	AGCATATGAGATAGGC	ATCGTT	CCAAAGAA	GTATCT	AAAAAAGATT	ATAAGCAATCGC	
ECN (1)mecA	AGCATATGAGATAGGC	ATCGTT	CCAAAGAA	GTATCT	AAAAAAGATT	ATAAGCAATCGC	
ECN (2)mecA	AGCATATGAGATAGGC	ATCGTT	CCAAAGAA	GTATCT	AAAAAAGATT	ATAAGCAATCGC	
mecSsciuri	AGCACATGAAGTTGGC	ATTGTC	CTTA	TAATGTT	TCGACAAGT	GATTACAAGCAATCGC	
S.A (1)mecA	AGCACATGAAGTTGGC	ATTGTC	CTTA	TAATGTT	TCGACAAGT	GATTACAAGCAATCGC	
S.A (2)mecA	AGCACATGAAGTTGGC	ATTGTC	CTTA	TAATGTT	TCGACAAGT	GATTACAAGCAATCGC	
S.A (3)mecA	AGCACATGAAGTTGGC	ATTGTC	CTTA	TAATGTT	TCGACAAGT	GATTACAAGCAATCGC	
S.sciuri (1)mecA	AGCATATGAGATAGGC	ATCGTT	CCAAAGAA	GTATCT	AAAAAAGATT	ATAAGCAATCGC	
S.sciuri (2)mecA	AGCATATGAGATAGGC	ATCGTT	CCAAAGAA	GTATCT	AAAAAAGATT	ATAAGCAATCGC	
S.lentus mecA	AGCATATGAGATAGGC	ATCGTT	CCAAAGAA	GTATCT	AAAAAAGATT	ATAAGCAATCGC	
	490	500	510	520	530	540	
mecA	TAAAGAAC	TAAGT	TTCTG	GAAGACT	ATATCAA	AAACAA	TGGATCAAATTGGGTACA
CP mecA	TAAAGAAC	TAAGT	TTCTG	GAAGACT	ATATCAA	AAACAA	TGGATCAAATTGGGTACA
ECN (1)mecA	TAAAGAAC	TAAGT	TTCTG	GAAGACT	ATATCAA	AAACAA	TGGATCAAATTGGGTACA
ECN (2)mecA	TAAAGAAC	TAAGT	TTCTG	GAAGACT	ATATCAA	AAACAA	TGGATCAAATTGGGTACA
mecSsciuri	TGAAAAAATTAGACCT	TTTC	CAGAAT	CGTAT	TTAAACAA	CAAGCTGAA	AGGATTGGGTAA
S.A (1)mecA	TGAAAAAATTAGACCT	TTTC	CAGAAT	CGTAT	TTAAACAA	CAAGCTGAA	AGGATTGGGTAA
S.A (2)mecA	TGAAAAAATTAGACCT	TTTC	CAGAAT	CGTAT	TTAAACAA	CAAGCTGAA	AGGATTGGGTAA
S.A (3)mecA	TGAAAAAATTAGACCT	TTTC	CAGAAT	CGTAT	TTAAACAA	CAAGCTGAA	AGGATTGGGTAA
S.sciuri (1)mecA	TAAAGAAC	TAAGT	TTCTG	GAAGACT	ATATCAA	AAACAA	TGGATCAAATTGGGTACA
S.sciuri (2)mecA	TAAAGAAC	TAAGT	TTCTG	GAAGACT	ATATCAA	AAACAA	TGGATCAAATTGGGTACA
S.lentus mecA	TAAAGAAC	TAAGT	TTCTG	GAAGACT	ATATCAA	AAACAA	TGGATCAAATTGGGTACA
	550	560	570	580	590	600	
mecA	AGATGATACCTTCG	TTCCACT	TTAAC	CCGTT	AAAAA	TGGATGAAT	TTTAAGTGA
CP mecA	AGATGATACCTTCG	TTCCACT	TTAAC	CCGTT	AAAAA	TGGATGAAT	TTTAAGTGA
ECN (1)mecA	AGATGATACCTTCG	TTCCACT	TTAAC	CCGTT	AAAAA	TGGATGAAT	TTTAAGTGA
ECN (2)mecA	AGATGATACCTTCG	TTCCACT	TTAAC	CCGTT	AAAAA	TGGATGAAT	TTTAAGTGA
mecSsciuri	AGATGATACATCG	TCCCCTC	TAAGAC	TGTT	AAAAA	TGAATCA	AAAGACACAAAGCGTT
S.A (1)mecA	AGATGATACATCG	TCCCCTC	TAAGAC	TGTT	AAAAA	TGAATCA	AAAGACACAAAGCGTT
S.A (2)mecA	AGATGATACATCG	TCCCCTC	TAAGAC	TGTT	AAAAA	TGAATCA	AAAGACACAAAGCGTT
S.A (3)mecA	AGATGATACATCG	TCCCCTC	TAAGAC	TGTT	AAAAA	TGAATCA	AAAGACACAAAGCGTT
S.sciuri (1)mecA	AGATGATACCTTCG	TTCCACT	TTAAC	CCGTT	AAAAA	TGGATGAAT	TTTAAGTGA
S.sciuri (2)mecA	AGATGATACCTTCG	TTCCACT	TTAAC	CCGTT	AAAAA	TGGATGAAT	TTTAAGTGA
S.lentus mecA	AGATGATACCTTCG	TTCCACT	TTAAC	CCGTT	AAAAA	TGGATGAAT	TTTAAGTGA

	610	620	630	640	650	660
mecA	CGCAAAAAAAATTTCATCTTACAACATAATGAAAACAGAAAAGTCGTAACTATCCCTCTAGAAAA					
CP mecA	CGCAAAAAAAATTTCATCTTACAACATAATGAAAACAGAAAAGTCGTAACTATCCCTCTAGAAAA					
ECN (1)mecA	CGCAAAAAAAATTTCATCTTACAACATAATGAAAACAGAAAAGTCGTAACTATCCCTCTAGAAAA					
ECN (2)mecA	CGCAAAAAAAATTTCATCTTACAACATAATGAAAACAGAAAAGTCGTAACTATCCCTCTAGAAAA					
mecSsciuri	TGTTGAAAAGTATCATCTCACAAACACAAGAACAGAAAAGTCGACAGTATCCGCTTGAGAAGA					
S.A (1)mecA	TGTTGAAAAGTATCATCTCACAAACACAAGAACAGAAAAGTCGACAGTATCCGCTTGAGAAGA					
S.A (2)mecA	TGTTGAAAAGTATCATCTCACAAACACAAGAACAGAAAAGTCGACAGTATCCGCTTGAGAAGA					
S.A (3)mecA	TGTTGAAAAGTATCATCTCACAAACACAAGAACAGAAAAGTCGACAGTATCCGCTTGAGAAGA					
S.sciuri (1)mecA	CGCAAAAAAAATTTCATCTTACAACATAATGAAAACAGAAAAGTCGTAACTATCCCTCTAGAAAA					
S.sciuri (2)mecA	CGCAAAAAAAATTTCATCTTACAACATAATGAAAACAGAAAAGTCGTAACTATCCCTCTAGAAAA					
S.lentus mecA	CGCAAAAAAAATTTCATCTTACAACATAATGAAAACAGAAAAGTCGTAACTATCCCTCTAGAAAA					
	670	680	690	700	710	720
mecA	AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAACAAAA					
CP mecA	AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAACAAAA					
ECN (1)mecA	AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAACAAAA					
ECN (2)mecA	AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAACAAAA					
mecSsciuri	AGCAACAAACGCACATTGCTTGGTTATGTTGGCCCTATTAACTCAGAAGAATTAAAGCAAAA					
S.A (1)mecA	AGCAACAAACGCACATTGCTTGGTTATGTTGGCCCTATTAACTCAGAAGAATTAAAGCAAAA					
S.A (2)mecA	AGCAACAAACGCACATTGCTTGGTTATGTTGGCCCTATTAACTCAGAAGAATTAAAGCAAAA					
S.A (3)mecA	AGCAACAAACGCACATTGCTTGGTTATGTTGGCCCTATTAACTCAGAAGAATTAAAGCAAAA					
S.sciuri (1)mecA	AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAACAAAA					
S.sciuri (2)mecA	AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAACAAAA					
S.lentus mecA	AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAATTAAAACAAAA					
	730	740	750	760	770	780
mecA	AGAAATAAAGGCATAAAAGATGATGCAAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA					
CP mecA	AGAAATAAAGGCATAAAAGATGATGCAAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA					
ECN (1)mecA	AGAAATAAAGGCATAAAAGATGATGCAAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA					
ECN (2)mecA	AGAAATAAAGGCATAAAAGATGATGCAAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA					
mecSsciuri	AGCAATTAAAGGTATAAAAAGATGCCCCATCGTCGGTAAAAAGGAATCGAAAAACTTTA					
S.A (1)mecA	AGCAATTAAAGGTATAAAAAGATGCCCCATCGTCGGTAAAAAGGAATCGAAAAACTTTA					
S.A (2)mecA	AGCAATTAAAGGTATAAAAAGATGCCCCATCGTCGGTAAAAAGGAATCGAAAAACTTTA					
S.A (3)mecA	AGCAATTAAAGGTATAAAAAGATGCCCCATCGTCGGTAAAAAGGAATCGAAAAACTTTA					
S.sciuri (1)mecA	AGAAATAAAGGCATAAAAGATGATGCAAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA					
S.sciuri (2)mecA	AGAAATAAAGGCATAAAAGATGATGCAAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA					
S.lentus mecA	AGAAATAAAGGCATAAAAGATGATGCAAGTTATTGGTAAAAAGGGACTCGAAAAACTTTA					
	790	800	810	820	830	840
mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
CP mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
ECN (1)mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
ECN (2)mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
mecSsciuri	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
S.A (1)mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
S.A (2)mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
S.A (3)mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
S.sciuri (1)mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
S.sciuri (2)mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
S.lentus mecA	CGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTACAATCGTTGACGATAATAGCAA					
	850	860	870	880	890	900
mecA	TACAATCGCACATACAATTAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTCAACTAAC					
CP mecA	TACAATCGCACATACAATTAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTCAACTAAC					
ECN (1)mecA	TACAATCGCACATACAATTAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTCAACTAAC					
ECN (2)mecA	TACAATCGCACATACAATTAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTCAACTAAC					
mecSsciuri	--AGTTATTGATACATTAATAAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTAAATTAAAC					
S.A (1)mecA	--AGTTATTGATACATTAATAAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTAAATTAAAC					
S.A (2)mecA	--AGTTATTGATACATTAATAAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTAAATTAAAC					
S.A (3)mecA	--AGTTATTGATACATTAATAAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTAAATTAAAC					
S.sciuri (1)mecA	TACAATCGCACATACAATTAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTCAACTAAC					
S.sciuri (2)mecA	TACAATCGCACATACAATTAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTCAACTAAC					
S.lentus mecA	TACAATCGCACATACAATTAGAAAAAGAAAAAGATGGAAAGATATTCAACTAAC					
	910	920	930	940	950	960
mecA	TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
CP mecA	TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
ECN (1)mecA	TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
ECN (2)mecA	TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
mecSsciuri	CATCGATTCTAGAGTCCAAAAAAAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGACTACGGTCAGG					
S.A (1)mecA	CATCGATTCTAGAGTCCAAAAAAAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGACTACGGTCAGG					
S.A (2)mecA	CATCGATTCTAGAGTCCAAAAAAAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGACTACGGTCAGG					
S.A (3)mecA	CATCGATTCTAGAGTCCAAAAAAAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGACTACGGTCAGG					
S.sciuri (1)mecA	TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S.sciuri (2)mecA	TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S.lentus mecA	TATTGATGCTAAAGTTCAAAAGAGTATTTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					

	1278	1288	1298	1308	1318	1328
mecA	AGTGGTAAATGGTAATATCGACCTAAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
CP mecA	AGTGGTAAATGGTAATATCGACCTAAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
ECN (1)mecA	AGTGGTAAATGGTAATATCGACCTAAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
ECN (2)mecA	AGTGGTAAATGGTAATATCGACCTAAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
mecSsciuri	AGTTGTTAAATGGTGTATCGATTAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
S.A (1)mecA	AGTTGTTAAATGGTGTATCGATTAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
S.A (2)mecA	AGTTGTTAAATGGTGTATCGATTAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
S.A (3)mecA	AGTTGTTAAATGGTGTATCGATTAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
S.sciuri (1)mecA	AGTGGTAAATGGTAATATCGACCTAAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
S.sciuri (2)mecA	AGTGGTAAATGGTAATATCGACCTAAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
S.lentus mecA	AGTGGTAAATGGTAATATCGACCTAAAAACAAGCAAATAGAACTCATCAGATAAACATTTCCTT					
	1330	1340	1350	1360	1370	1380
mecA	TGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG					
CP mecA	TGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG					
ECN (1)mecA	TGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG					
ECN (2)mecA	TGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG					
mecSsciuri	TGCGAGAGTTGCACCTTGAAATTAGGAAGCAAAAAAATTGAAAGAGGTATGAAACCTCTAGG					
S.A (1)mecA	TGCGAGAGTTGCACCTTGAAATTAGGAAGCAAAAAAATTGAAAGAGGTATGAAACCTCTAGG					
S.A (2)mecA	TGCGAGAGTTGCACCTTGAAATTAGGAAGCAAAAAAATTGAAAGAGGTATGAAACCTCTAGG					
S.A (3)mecA	TGCGAGAGTTGCACCTTGAAATTAGGAAGCAAAAAAATTGAAAGAGGTATGAAACCTCTAGG					
S.sciuri (1)mecA	TGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG					
S.sciuri (2)mecA	TGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG					
S.lentus mecA	TGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG					
	1390	1400	1410	1420	1430	1440
mecA	TGTTGGTGAAGATAACCAAGTGATTATCCATTTTAAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA					
CP mecA	TGTTGGTGAAGATAACCAAGTGATTATCCATTTTAAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA					
ECN (1)mecA	TGTTGGTGAAGATAACCAAGTGATTATCCATTTTAAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA					
ECN (2)mecA	TGTTGGTGAAGATAACCAAGTGATTATCCATTTTAAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA					
mecSsciuri	CCTGGGTGAAGATAACCCGAGTGATTATCCATTCTAAATGCAAAATTTCAAATAAGAA					
S.A (1)mecA	CCTGGGTGAAGATAACCCGAGTGATTATCCATTCTAAATGCAAAATTTCAAATAAGAA					
S.A (2)mecA	CCTGGGTGAAGATAACCCGAGTGATTATCCATTCTAAATGCAAAATTTCAAATAAGAA					
S.A (3)mecA	CCTGGGTGAAGATAACCCGAGTGATTATCCATTCTAAATGCAAAATTTCAAATAAGAA					
S.sciuri (1)mecA	TGTTGGTGAAGATAACCAAGTGATTATCCATTAAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA					
S.sciuri (2)mecA	TGTTGGTGAAGATAACCAAGTGATTATCCATTAAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA					
S.lentus mecA	TGTTGGTGAAGATAACCAAGTGATTATCCATTAAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA					
	1450	1460	1470	1480	1490	1500
mecA	TTTAGATAATGAAATATTACTGATTTCAGGTTACGGCAAGGTGAAATACTGATTTAA					
CP mecA	TTTAGATAATGAAATATTACTGATTTCAGGTTACGGCAAGGTGAAATACTGATTTAA					
ECN (1)mecA	TTTAGATAATGAAATATTACTGATTTCAGGTTACGGCAAGGTGAAATACTGATTTAA					
ECN (2)mecA	TTTAGATAATGAAATATTACTGATTTCAGGTTACGGCAAGGTGAAATACTGATTTAA					
mecSsciuri	CTTAGATAATGAAATATTGTTACTGACTCAGGTTATGGCAAGGCCAAATTGATTTAA					
S.A (1)mecA	CTTAGATAATGAAATATTGTTACTGACTCAGGTTATGGCAAGGCCAAATTGATTTAA					
S.A (2)mecA	CTTAGATAATGAAATATTGTTACTGACTCAGGTTATGGCAAGGCCAAATTGATTTAA					
S.A (3)mecA	CTTAGATAATGAAATATTGTTACTGACTCAGGTTATGGCAAGGCCAAATTGATTTAA					
S.sciuri (1)mecA	TTTAGATAATGAAATATTACTGATTTCAGGTTACGGCAAGGTGAAATACTGATTTAA					
S.sciuri (2)mecA	TTTAGATAATGAAATATTACTGATTTCAGGTTACGGCAAGGTGAAATACTGATTTAA					
S.lentus mecA	TTTAGATAATGAAATATTACTGATTTCAGGTTACGGCAAGGTGAAATACTGATTTAA					
	1510	1520	1530	1540	1550	1560
mecA	CCCCATACAGATCCCTTCAAATCTATAGCGCATTAGAAAATAATGGCAATTAAACGCACC					
CP mecA	CCCCATACAGATCCCTTCAAATCTATAGCGCATTAGAAAATAATGGCAATTAAACGCACC					
ECN (1)mecA	CCCCATACAGATCCCTTCAAATCTATAGCGCATTAGAAAATAATGGCAATTAAACGCACC					
ECN (2)mecA	CCCCATACAGATCCCTTCAAATCTATAGCGCATTAGAAAATAATGGCAATTAAACGCACC					
mecSsciuri	TCCCTGTTCAAAATTCTTCAAATATAGCGCATTAGAAAATAAGGTAAATGAAACCTCTAGG					
S.A (1)mecA	TCCCTGTTCAAAATTCTTCAAATATAGCGCATTAGAAAATAAGGTAAATGAAACCTCTAGG					
S.A (2)mecA	TCCCTGTTCAAAATTCTTCAAATATAGCGCATTAGAAAATAAGGTAAATGAAACCTCTAGG					
S.A (3)mecA	TCCCTGTTCAAAATTCTTCAAATATAGCGCATTAGAAAATAAGGTAAATGAAACCTCTAGG					
S.sciuri (1)mecA	CCCCATACAGATCCCTTCAAATCTATAGCGCATTAGAAAATAATGGCAATTAAACGCACC					
S.sciuri (2)mecA	CCCCATACAGATCCCTTCAAATCTATAGCGCATTAGAAAATAATGGCAATTAAACGCACC					
S.lentus mecA	CCCCATACAGATCCCTTCAAATCTATAGCGCATTAGAAAATAATGGCAATTAAACGCACC					

1570 1580 1590 1600 1610 1620
 | | | | | |
 mecA TCACTTATTAAAAGACACGAAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATAATTATTCAAAGAAAA
 CP mecA TCACTTATTAAAAGACACGAAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATAATTATTCAAAGAAAA
 ECN (1)mecA TCACTTATTAAAAGACACGAAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATAATTATTCAAAGAAAA
 ECN (2)mecA TCACTTATTAAAAGACACGAAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATAATTATTCAAAGAAAA
 mecSsciuri ACATGTACTCAAAGATACGAAAAATAAGTCTGGAAGAAGACATCATTTCAGGAAAA
 S.A (1)mecA ACATGTACTCAAAGATACGAAAAATAAGTCTGGAAGAAGACATCATTTCAGGAAAA
 S.A (2)mecA ACATGTACTCAAAGATACGAAAAATAAGTCTGGAAGAAGACATCATTTCAGGAAAA
 S.A (3)mecA ACATGTACTCAAAGATACGAAAAATAAGTCTGGAAGAAGACATCATTTCAGGAAAA
 S.sciuri (1)mecA TCACTTATTAAAAGACACGAAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATAATTATTCAAAGAAAA
 S.sciuri (2)mecA TCACTTATTAAAAGACACGAAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATAATTATTCAAAGAAAA
 S.lentus mecA TCACTTATTAAAAGACACGAAAAAACAAAGTTGGAAAGAAAAATAATTATTCAAAGAAAA

 1630 1640 1650 1660 1670 1680
 | | | | | |
 mecA TATCAATCTATTAACTGTAGGGTATGCAACAACTCGTAAATAAACACATAAAGAAGATAT
 CP mecA TATCAATCTATTAACTGTAGGGTATGCAACAACTCGTAAATAAACACATAAAGAAGATAT
 ECN (1)mecA TATCAATCTATTAACTGTAGGGTATGCAACAACTCGTAAATAAACACATAAAGAAGATAT
 ECN (2)mecA TATCAATCTATTAACTGTAGGGTATGCAACAACTCGTAAATAAACACATAAAGAAGATAT
 mecSsciuri TATTAATTCTTAAACAGACGGCACTGCAACAACTCGTGAACAAAACATAAAGAAGATAT
 S.A (1)mecA TATTAATTCTTAAACAGACGGCACTGCAACAACTCGTGAACAAAACATAAAGAAGATAT
 S.A (2)mecA TATTAATTCTTAAACAGACGGCACTGCAACAACTCGTGAACAAAACATAAAGAAGATAT
 S.A (3)mecA TATTAATTCTTAAACAGACGGCACTGCAACAACTCGTGAACAAAACATAAAGAAGATAT
 S.sciuri (1)mecA TATCAATCTATTAACTGTAGGGTATGCAACAACTCGTAAATAAACACATAAAGAAGATAT
 S.sciuri (2)mecA TATCAATCTATTAACTGTAGGGTATGCAACAACTCGTAAATAAACACATAAAGAAGATAT
 S.lentus mecA TATCAATCTATTAACTGTAGGGTATGCAACAACTCGTAAATAAACACATAAAGAAGATAT

 1690 1700 1710 1720 1730 1740
 | | | | | |
 mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 CP mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 ECN (1)mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 ECN (2)mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 mecSsciuri TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 S.A (1)mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 S.A (2)mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 S.A (3)mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 S.sciuri (1)mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 S.sciuri (2)mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA
 S.lentus mecA TTATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTAAATGAAACA

 1750 1760 1770 1780 1790 1800
 | | | | | |
 mecA AGGAGAAAATGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 CP mecA AGGAGAAAATGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 ECN (1)mecA AGGAGAAAATGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 ECN (2)mecA AGGAGAAAATGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 mecSsciuri AGGTGAGACAGGACAAACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 S.A (1)mecA AGGTGAGACAGGACAAACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 S.A (2)mecA AGGTGAGACAGGACAAACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 S.A (3)mecA AGGTGAGACAGGACAAACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 S.sciuri (1)mecA AGGAGAAAATGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 S.sciuri (2)mecA AGGAGAAAATGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT
 S.lentus mecA AGGAGAAAATGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATATCATATGATAAAGATAATTCCAAACAT

 1810 1820 1830
 | | |
 mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 CP mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 ECN (1)mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 ECN (2)mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 mecSsciuri GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 S.A (1)mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 S.A (2)mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 S.A (3)mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 S.sciuri (1)mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 S.sciuri (2)mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA
 S.lentus mecA GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA

Legenda: *mecA* (HE681097.1);CP- cepa padrão (ATCC43300); ECN (1 e 2) *mecA* de origem humana; S.A (1,2 e 3) *mecA* de origem bovina, *S. sciuri* (1 e 2) *mecA* e *S. lentus* de origem equina, respectivamente.

ANEXO IV- Alinhamento das sequências do gene *mecA* de *Staphylococcus* spp. provenientes de diferentes hospedeiros selecionados do NCBI com os *contigs* montados neste estudo (origem humana, bovina e equina).

	10	20	30	40	50	60
S. pseudo (1)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TTGAT	CCAATT	GAAGA
S. sciuri (2)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	GCAATT	GAAGA
S. pseudo(3)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. sciuri (4)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. kloosii (5)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. vitulinus (6)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. pseudo (7)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. pseudo (8)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. capitis (9)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. kloosii (10)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. aureus (11)	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. sciuri (12)	CAGCCAAA	TAACCGA	TACACT	AGATGCCATT	GAAGAC	AAAAATGTT
CP_mecA	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
ECN (1)mecA	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
ECN (2)mecA	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. A(1)mecA	CAGCCAAA	TAACCGA	TACACT	AGATGCCATT	GAAGAC	AAAAATGTT
S. A(2)mecA	CAGCCAAA	TAACCGA	TACACT	AGATGCCATT	GAAGAC	AAAAATGTT
S. A(3)mecA	CAGCCAAA	TAACCGA	TACACT	AGATGCCATT	GAAGAC	AAAAATGTT
S. sciuri(1)mecA	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. sciuri(2)mecA	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
S. latus meca	TAAAGAAA	TTAATAA	TACTA	TATG	CCAATT	GAAGA
	70	80	90	100	110	120
S. pseudo (1)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. sciuri (2)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. pseudo(3)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. sciuri (4)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. kloosii (5)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. vitulinus (6)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. pseudo (7)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. pseudo (8)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. capitis (9)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. kloosii (10)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. aureus (11)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. sciuri (12)	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
CP_mecA	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
ECN (1)mecA	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
ECN (2)mecA	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. A(1)mecA	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. A(2)mecA	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. A(3)mecA	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. sciuri(1)mecA	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. sciuri(2)mecA	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
S. latus meca	AGATAGCAGTTA	TATTTCTAA	AAAGCGATA	TTGGTGAAGTAGAAATGACT	GAACGTCCGAT	
	130	140	150	160	170	180
S. pseudo (1)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. sciuri (2)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. pseudo(3)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. sciuri (4)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. kloosii (5)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. vitulinus (6)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. pseudo (7)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. pseudo (8)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. capitis (9)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. kloosii (10)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. aureus (11)	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. sciuri (12)	TAAGA	TTTATGACAG	TCTAGGTG	TCAAAGCT	TACACATTAA	AGATCGTGAT
CP_mecA	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
ECN (1)mecA	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
ECN (2)mecA	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. A(1)mecA	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. A(2)mecA	TAAGA	TTTATGACAG	TCTAGGTG	TCAAAGCT	TACACATTAA	AGATCGTGAT
S. A(3)mecA	TAAGA	TTTATGACAG	TCTAGGTG	TCAAAGCT	TACACATTAA	AGATCGTGAT
S. sciuri(1)mecA	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. sciuri(2)mecA	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA
S. latus meca	AAAAA	TATATAA	TATAGTTAGCG	GTTAAAGA	TATAAACATTC	CAGGA

	190	200	210	220	230	240	
S. pseudo (1)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. sciuri (2)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. pseudo(3)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. sciuri (4)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. kloosii (5)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. vitulinus (6)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. pseudo (7)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. pseudo (8)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. capititis (9)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. kloosii (10)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. aureus (11)	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. sciuri (12)	GGTTCAAAAAA	CAAAAAACAAAGTCACTGCAAATATGAAC	TGCAACACAAATTACGGCAA				
CP_mecA	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
ECN (1)mecA	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
ECN (2)mecA	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. A(1)mecA	GGTTCAAAAAA	CAAAAAACAAAGTCACTGCAAATATGAAC	TGCAACACAAATTACGGCAA				
S. A(2)mecA	GGTTCAAAAAA	CAAAAAACAAAGTCACTGCAAATATGAAC	TGCAACACAAATTACGGCAA				
S. A(3)mecA	GGTTCAAAAAA	CAAAAAACAAAGTCACTGCAAATATGAAC	TGCAACACAAATTACGGCAA				
S. sciuri(1)mecA	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. sciuri(2)mecA	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
S. lentus mecA	AGTATCTAAAAA	TAAAAAACGAGTAGATGCTCAATA	TAAAATTAAAAACAAACTACGGTAA				
	250	260	270	280	290	300	
S. pseudo (1)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. sciuri (2)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. pseudo(3)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. sciuri (4)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. kloosii (5)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. vitulinus (6)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. pseudo (7)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. pseudo (8)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. capititis (9)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. kloosii (10)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. aureus (11)	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. sciuri (12)	AATTAACTG	GACGTTAAATTAAACCTT	TTAAAGAAGATGGAAATTAGATTG				
CP_mecA	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
ECN (1)mecA	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
ECN (2)mecA	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. A(1)mecA	AATTAACTG	GACGTTAAATTAAACCTT	TTAAAGAAGATGGAAATTAGATTG				
S. A(2)mecA	AATTAACTG	GACGTTAAATTAAACCTT	TTAAAGAAGATGGAAATTAGATTG				
S. A(3)mecA	AATTAACTG	GACGTTAAATTAAACCTT	TTAAAGAAGATGGAAATTAGATTG				
S. sciuri(1)mecA	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. sciuri(2)mecA	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
S. lentus mecA	CATTGATCGCAACGTTCAATT	TTAATTGTTAAAGAAGATGGTAGGTG	GGAAAGTTAGATTG				
	310	320	330	340	350	360	
S. pseudo (1)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. sciuri (2)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. pseudo(3)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. sciuri (4)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. kloosii (5)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. vitulinus (6)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. pseudo (7)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. pseudo (8)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. capititis (9)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. kloosii (10)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. aureus (11)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. sciuri (12)	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
CP_mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
ECN (1)mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
ECN (2)mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. A(1)mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. A(2)mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. A(3)mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. sciuri(1)mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. sciuri(2)mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				
S. lentus mecA	GAATCATAGCGTCAATT	TTCCAGGAATGCAGAAAGACAAAGCATACATA	TGAAATT				

DTU F

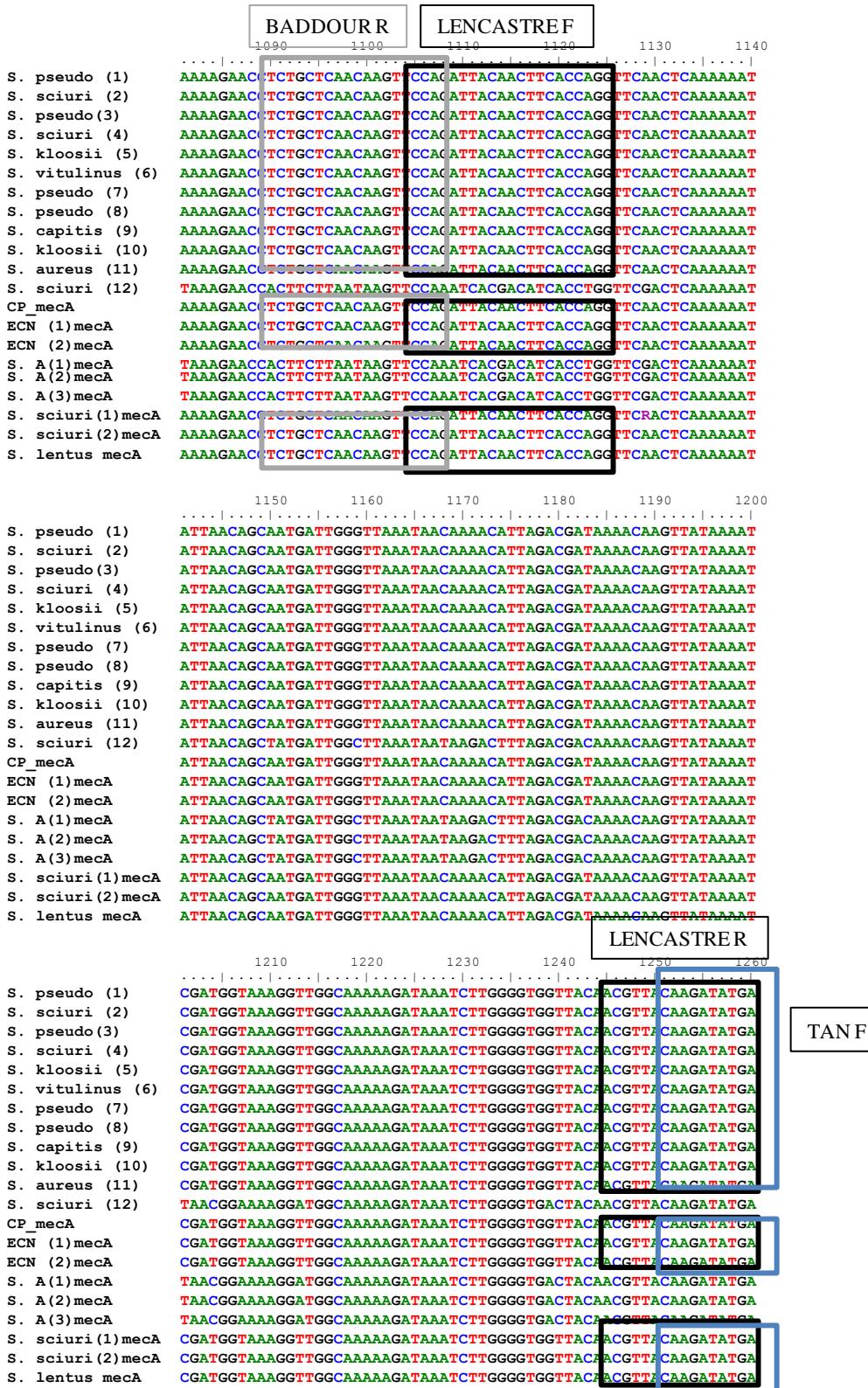
	370	380	390	400	410	420
<i>S. pseudo</i> (1)	AAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. sciuri</i> (2)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. pseudo</i> (3)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. sciuri</i> (4)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. kloosii</i> (5)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. vitulinus</i> (6)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. pseudo</i> (7)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. pseudo</i> (8)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. capititis</i> (9)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. kloosii</i> (10)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. aureus</i> (11)	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. sciuri</i> (12)	GAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
CP_mecA	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
ECN (1)mecA	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
ECN (2)mecA	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. A</i> (1)mecA	GAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. A</i> (2)mecA	GAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. A</i> (3)mecA	GAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. sciuri</i> (1)mecA	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. sciuri</i> (2)mecA	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
<i>S. lentus</i> mecA	AAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAACAACTGTGGAATTGGCCAATACAGGAAC					
	430	440	450	460	470	480
<i>S. pseudo</i> (1)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. sciuri</i> (2)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. pseudo</i> (3)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. sciuri</i> (4)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. kloosii</i> (5)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. vitulinus</i> (6)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. pseudo</i> (7)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. pseudo</i> (8)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. capititis</i> (9)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. kloosii</i> (10)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. aureus</i> (11)	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. sciuri</i> (12)	AGCACATGAAGTTGGCATCGTTCTTAATAGTTTCGACAAGTGATTACAAAGCAATCGC					
CP_mecA	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
ECN (1)mecA	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
ECN (2)mecA	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. A</i> (1)mecA	AGCACATGAAGTTGGCATCGTTCTTAATAGTTTCGACAAGTGATTACAAAGCAATCGC					
<i>S. A</i> (2)mecA	AGCACATGAAGTTGGCATCGTTCTTAATAGTTTCGACAAGTGATTACAAAGCAATCGC					
<i>S. A</i> (3)mecA	AGCACATGAAGTTGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. sciuri</i> (1)mecA	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. sciuri</i> (2)mecA	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
<i>S. lentus</i> mecA	AGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAAAGAATGTATCTAAAAAAGATTATAAGCAATCGC					
	490	500	510	520	530	540
<i>S. pseudo</i> (1)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. sciuri</i> (2)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. pseudo</i> (3)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. sciuri</i> (4)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. kloosii</i> (5)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. vitulinus</i> (6)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. pseudo</i> (7)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. pseudo</i> (8)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. capititis</i> (9)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. kloosii</i> (10)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. aureus</i> (11)	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. sciuri</i> (12)	TGAAAAAATTAGACCTTTCAGAATCGTATATAAACAAACAAAGCTGAACAGGATTTGGGTTAA					
CP_mecA	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
ECN (1)mecA	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
ECN (2)mecA	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. A</i> (1)mecA	TGAAAAAATTAGACCTTTCAGAATCGTATATAAACAAACAAAGCTGAACAGGATTTGGGTTAA					
<i>S. A</i> (2)mecA	TGAAAAAATTAGACCTTTCAGAATCGTATATAAACAAACAAAGCTGAACAGGATTTGGGTTAA					
<i>S. A</i> (3)mecA	TGAAAAAATTAGACCTTTCAGAATCGTATATAAACAAACAAAGCTGAACAGGATTTGGGTTAA					
<i>S. sciuri</i> (1)mecA	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. sciuri</i> (2)mecA	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					
<i>S. lentus</i> mecA	TAAAGAACATAAGTATTCCTGAAGACTATATCAAACAAACAAATGGATCAAATGGGTACA					

550 560 570 580 590 600
 .
 S. pseudo (1) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. sciuri (2) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. pseudo(3) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. sciuri (4) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. kloosii (5) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. vitulinus (6) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. pseudo (7) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. pseudo (8) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. capititis (9) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAAGATTAAAGTGATT
 S. kloosii (10) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAAGATTAAAGTGATT
 S. aureus (11) AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. sciuri (12) CP_mecA AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAAGATTAAAGTGATT
 ECN (1)mecA AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAAGATTAAAGTGATT
 ECN (2)mecA AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAAGATTAAAGAGATT
 S. A(1)mecA AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. A(2)mecA AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. A(3)mecA AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. sciuri(1)mecA AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. sciuri(2)mecA AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT
 S. latus meca AGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAAAGGATGAATAATTAAAGTGATT

 610 620 630 640 650 660
 .
 S. pseudo (1) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. sciuri (2) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. pseudo(3) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. sciuri (4) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. kloosii (5) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. vitulinus (6) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. pseudo (7) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. pseudo (8) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. capititis (9) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. kloosii (10) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. aureus (11) CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. sciuri (12) CP_mecA TGTTGAAAAGTATCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGACAGTATCCGCTTAGAAAA
 ECN (1)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 ECN (2)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. A(1)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. A(2)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. A(3)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. sciuri(1)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. sciuri(2)mecA CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA
 S. latus meca CGCAAAAAAAATTCATCTTACAACCTAAATGAAACAGAAAAGTCGTAACCTATCCCTCTAGAAAA

 670 680 690 700 710 720
 .
 S. pseudo (1) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. sciuri (2) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. pseudo(3) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. sciuri (4) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. kloosii (5) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. vitulinus (6) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. pseudo (7) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. pseudo (8) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. capititis (9) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. kloosii (10) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. aureus (11) AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. sciuri (12) S. sciuri (12) CP_mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGCCTATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 ECN (1)mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGCCTATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 ECN (2)mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGCCTATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. A(1)mecA AGCAACAAACGCACTTGCTTGGTTATGTTGGCCTATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. A(2)mecA AGCAACAAACGCACTTGCTTGGTTATGTTGGCCTATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. A(3)mecA AGCAACAAACGCACTTGCTTGGTTATGTTGGCCTATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. sciuri(1)mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. sciuri(2)mecA AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA
 S. latus meca AGCGACTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAACTCTGAAGAAATTAAACAAAA

	910	920	930	940	950	960
S. pseudo (1)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. sciuri (2)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. pseudo(3)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. sciuri (4)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. kloosii (5)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. vitulinus (6)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. pseudo (7)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. pseudo (8)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. capititis (9)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. kloosii (10)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. aureus (11)	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. sciuri (12)	CATCGATTCTAGAGTCCAAAAAAGTATTATAACAAACATGAAAAATGACTACGGTTCAGG					
CP_mecA	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
ECN (1)mecA	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
ECN (2)mecA	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. A(1)mecA	CATCGATTCTAGAGTCCAAAAAAGTATTATAACAAACATGAAAAATGACTACGGTTCAGG					
S. A(2)mecA	CATCGATTCTAGAGTCCAAAAAAGTATTATAACAAACATGAAAAATGACTACGGTTCAGG					
S. A(3)mecA	CATCGATTCTAGAGTCCAAAAAAGTATTATAACAAACATGAAAAATGACTACGGTTCAGG					
S. sciuri (1)mecA	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. sciuri (2)mecA	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
S. lentus mecA	TATTGATCCTAAAGTTCAAAAGAGTATTATAACAAACATGAAAAATGATTATGGCTCAGG					
	970	980	990	1000	1010	1020
S. pseudo (1)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. sciuri (2)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. pseudo(3)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. sciuri (4)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. kloosii (5)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. vitulinus (6)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. pseudo (7)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. pseudo (8)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. capititis (9)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. kloosii (10)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. aureus (11)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. sciuri (12)	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
CP_mecA	TACAGCTATTCACTCCACAAACAGCGAACTGTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
ECN (1)mecA	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
ECN (2)mecA	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. A(1)mecA	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. A(2)mecA	TACAGCTATTCACTCCACAAACAGCGAACTGTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. A(3)mecA	TACAGCTATTCACTCCACAAACAGCGAACTGTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. sciuri (1)mecA	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. sciuri (2)mecA	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
S. lentus mecA	TACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAAGCACACCTTCATATGA					
	1030	1040	1050	1060	1070	1080
S. pseudo (1)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. sciuri (2)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. pseudo(3)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. sciuri (4)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. kloosii (5)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. vitulinus (6)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. pseudo (7)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. pseudo (8)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. capititis (9)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. kloosii (10)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. aureus (11)	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. sciuri (12)	TGTTTATCCATTATGAATGGAACTGAGTGATGAAGAATTAAAGAAATTAAACCGAAGATGA					
CP_mecA	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
ECN (1)mecA	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
ECN (2)mecA	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. A(1)mecA	TGTTTATCCATTATGAATGGAACTGAGTGATGAAGAATTAAAGAAATTAAACCGAAGATGA					
S. A(2)mecA	TGTTTATCCATTATGAATGGAACTGAGTGATGAAGAATTAAAGAAATTAAACCGAAGATGA					
S. A(3)mecA	TGTTTATCCATTATGAATGGAACTGAGTGATGAAGAATTAAAGAAATTAAACCGAAGATGA					
S. sciuri (1)mecA	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. sciuri (2)mecA	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					
S. lentus mecA	CGTCTATCCATTATGTATGGCATGAGTAACGAAGAAATATAAATTAACCGAAGATAAA					



S. pseudo (1) AGTGG¹²⁷⁰ AAA TGG¹²⁷¹ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. sciuri (2) AGTGG¹²⁷² AAA TGG¹²⁷³ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. pseudo(3) AGTGG¹²⁷⁴ AAA TGG¹²⁷⁵ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. sciuri (4) AGTGG¹²⁷⁶ AAA TGG¹²⁷⁷ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. kloosii (5) AGTGG¹²⁷⁸ AAA TGG¹²⁷⁹ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. vitulinus (6) AGTGG¹²⁸⁰ AAA TGG¹²⁸¹ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. pseudo (7) AGTGG¹²⁸² AAA TGG¹²⁸³ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. pseudo (8) AGTGG¹²⁸⁴ AAA TGG¹²⁸⁵ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. capititis (9) AGTGG¹²⁸⁶ AAA TGG¹²⁸⁷ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. kloosii (10) AGTGG¹²⁸⁸ AAA TGG¹²⁸⁹ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. aureus (11) AGTGG¹²⁹⁰ AAA TGG¹²⁹¹ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. sciuri (12) AGTGG¹²⁹² AAA TGG¹²⁹³ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 CP_mecA AGTGG¹²⁹⁴ AAA TGG¹²⁹⁵ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 ECN (1)mecA AGTGG¹²⁹⁶ AAA TGG¹²⁹⁷ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 ECN (2)mecA AGTGG¹²⁹⁸ AAA TGG¹²⁹⁹ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. A(1)mecA AGTTGTT¹³⁰⁰ AAA TGG¹³⁰¹ GAT ATCGATTAAACAAAGCTATTGAATCATCAGATAATATCTTCTT
 S. A(2)mecA AGTTGTT¹³⁰² AAA TGG¹³⁰³ GAT ATCGATTAAACAAAGCTATTGAATCATCAGATAATATCTTCTT
 S. A(3)mecA AGTTGTT¹³⁰⁴ AAA TGG¹³⁰⁵ GAT ATCGATTAAACAAAGCTATTGAATCATCAGATAATATCTTCTT
 S. sciuri(1)mecA AGTGG¹³⁰⁶ AAA TGG¹³⁰⁷ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. sciuri(2)mecA AGTGG¹³⁰⁸ AAA TGG¹³⁰⁹ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT
 S. latus meca AGTGG¹³¹⁰ AAA TGG¹³¹¹ AAT ATCGACTTAAACAAAGCAATAGAATCATCAGATAAACATTTCCTT

TAN R

S. pseudo (1) TGCTAGA¹³³⁰ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴⁰ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. sciuri (2) TGCTAGA¹³³¹ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴¹ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. pseudo(3) TGCTAGA¹³³² STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴² TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. sciuri (4) TGCTAGA¹³³³ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴³ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. kloosii (5) TGCTAGA¹³³⁴ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴⁴ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. vitulinus (6) TGCTAGA¹³³⁵ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴⁵ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. pseudo (7) TGCTAGA¹³³⁶ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴⁶ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. pseudo (8) TGCTAGA¹³³⁷ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴⁷ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. capititis (9) TGCTAGA¹³³⁸ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴⁸ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. kloosii (10) TGCTAGA¹³³⁹ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁴⁹ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. aureus (11) TGCTAGA¹³⁴⁰ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁵⁰ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. sciuri (12) TGCTAGA¹³⁴¹ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁵¹ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 CP_mecA TGCTAGA¹³⁴² STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁵² TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 ECN (1)mecA TGCTAGA¹³⁴³ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁵³ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 ECN (2)mecA TGCTAGA¹³⁴⁴ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁵⁴ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. A(1)mecA TGCGAGAG¹³⁴⁵ TTGCACTTGAAATTAGGAACGAAAAAATTGCAAAGAGGTATGAAACGTCTAGG
 S. A(2)mecA TGCGAGAG¹³⁴⁶ TTGCACTTGAAATTAGGAACGAAAAAATTGCAAAGAGGTATGAAACGTCTAGG
 S. A(3)mecA TGCGAGAG¹³⁴⁷ TTGCACTTGAAATTAGGAACGAAAAAATTGCAAAGAGGTATGAAACGTCTAGG
 S. sciuri(1)mecA TGCTAGA¹³⁴⁸ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁵⁸ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. sciuri(2)mecA TGCTAGA¹³⁴⁹ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁵⁹ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG
 S. latus meca TGCTAGA¹³⁵⁰ STAGCACTCGAATTAGGCAG¹³⁶⁰ TAAAGAAATTGAAAAAGGCATGAAAAAAACTAGG

ZHANG F

S. pseudo (1) TGTT¹³⁹⁰ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴⁰⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. sciuri (2) TGTT¹⁴⁰¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴¹⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. pseudo(3) TGTT¹⁴¹¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴²⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. sciuri (4) TGTT¹⁴²¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴³⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. kloosii (5) TGTT¹⁴³¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴⁴⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. vitulinus (6) TGTT¹⁴⁴¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴⁵⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. pseudo (7) TGTT¹⁴⁵¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴⁶⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. pseudo (8) TGTT¹⁴⁶¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴⁷⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. capititis (9) TGTT¹⁴⁷¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴⁸⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. kloosii (10) TGTT¹⁴⁸¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁴⁹⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. aureus (11) TGTT¹⁴⁹¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁵⁰⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. sciuri (12) CGTTGGTGAAGATACCAAGTGATT¹⁵⁰¹ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 CP_mecA TGTT¹⁵¹¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁵²⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 ECN (1)mecA TGTT¹⁵²¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁵³⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 ECN (2)mecA TGTT¹⁵³¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁵⁴⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. A(1)mecA CGTTGGTGAAGATACCCGAGTGATT¹⁵⁴¹ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. A(2)mecA CGTTGGTGAAGATACCCGAGTGATT¹⁵⁵⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. A(3)mecA CGTTGGTGAAGATACCCGAGTGATT¹⁵⁶⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. sciuri(1)mecA TGTT¹⁵⁶¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁵⁷⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. sciuri(2)mecA TGTT¹⁵⁷¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁵⁸⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA
 S. latus meca TGTT¹⁵⁸¹ GTGAAGATACCAAGTGATT¹⁵⁹⁰ ATCCATTATAATGCTCAAATTTCAAACAAAAA

	1630	1640	1650	1660	1670	1680
<i>S. pseudo</i> (1)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. sciuri</i> (2)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. pseudo</i> (3)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. sciuri</i> (4)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. kloosii</i> (5)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. vitulinus</i> (6)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. pseudo</i> (7)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. pseudo</i> (8)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. capitis</i> (9)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. kloosii</i> (10)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. aureus</i> (11)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. sciuri</i> (12)	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
CP_mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
ECN (1)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
ECN (2)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. A</i> (1)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. A</i> (2)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. A</i> (3)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. sciuri</i> (1)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. sciuri</i> (2)mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					
<i>S. lentus</i> mecA	TATCAATCTATTAACTGATGGTATGCAACAAGTCGTAAATAAAACACATAAAGAAGATAT					

	1690	1700	1710	1720	1730	1740
<i>S. pseudo</i> (1)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. sciuri</i> (2)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. pseudo</i> (3)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. sciuri</i> (4)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. kloosii</i> (5)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. vitulinus</i> (6)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. pseudo</i> (7)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. pseudo</i> (8)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. capitis</i> (9)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. kloosii</i> (10)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. aureus</i> (11)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. sciuri</i> (12)	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
CP_mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
ECN (1)mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
ECN (2)mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. A</i> (1)mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. A</i> (2)mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. A</i> (3)mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. sciuri</i> (1)mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. sciuri</i> (2)mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					
<i>S. lentus</i> mecA	TTAATAGATCTTATGCAAACCTTAATTGGCAAATCCGGTACTGCAGAACCTCAAAATGAAACA					

	1750	1760	1770	1780	1790	1800
S. pseudo (1)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. sciuri (2)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. pseudo(3)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. sciuri (4)	AGGAGAAA CTGGCGACCAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCCCACCT					
S. kloosii (5)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. vitulinus (6)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. pseudo (7)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. pseudo (8)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. capitis (9)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. kloosii (10)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. aureus (11)	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. sciuri (12)	AGGTGAGACAGGACAACAAATTGGGTGGTTCATTCATTCTTATAATAAAGATAATCCAAACAT					
CP_mecA	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
ECN (1)mecA	AGGTGAGACAGGACAACAAATTGGGTGGTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
ECN (2)mecA	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. A(1)mecA	AGGTGAGACAGGACAACAAATTGGGTGGTTCATTCATTCTTATAATAAAGATAATCCAAACAT					
S. A(2)mecA	AGGTGAGACAGGACAACAAATTGGGTGGTTCATTCATTCTTATAATAAAGATAATCCAAACAT					
S. A(3)mecA	AGGTGAGACAGGACAACAAATTGGGTGGTTCATTCATTCTTATAATAAAGATAATCCAAACAT					
S. sciuri(1)mecA	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. sciuri(2)mecA	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
S. latus meca	AGGAGAAA CTGGCAGACAAATTGGGTGGTTATCATATGATAAAGATAATCCAAACAT					
	1810	1820	1830			
S. pseudo (1)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. sciuri (2)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. pseudo(3)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. sciuri (4)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. kloosii (5)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. vitulinus (6)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. pseudo (7)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. pseudo (8)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. capitis (9)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. kloosii (10)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. aureus (11)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. sciuri (12)	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
CP_mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
ECN (1)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
ECN (2)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. A(1)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. A(2)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. A(3)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. sciuri(1)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. sciuri(2)mecA	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					
S. latus meca	GATGATGGCTATTAAATGTTAAAGATGTACAAGATAAA					

Legenda- Em destaque os pares de *primers* ZHANG e colaboradores (2005); LENCASTRE e colaboradores (2002); TAN e colaboradores (2002); BADDOUR e colaboradores (2007); DTU Food National Food Institute (2009).

ANEXO V- Alinhamento dos contigs do gene *mecA* de origem humana e de origem bovina.

mecA	TAAAGAAAATTAAATAACTATTGA-----TGCAATTGAAGATAAAAAA TTCAAACAAGTT
CP_meca	TAAAGAAAATTAAATAACTATTGA-----TGCAATTGAAGATAAAAAA TTCAAACAAGTT
ECN (1)mecA	TAAAGAAAATTAAATAACTATTGA-----TGCAATTGAAGATAAAAAA TTCAAACAAGTT
ECN (2)mecA	TAAAGAAAATTAAATAACTATTGA-----TGCAATTGAAGATAAAAAA TTCAAACAAGTT
mecSsciuri	CAGCCAAAATAACGATACACTAGA-----TGCCATTGAAGACAAAAA TGTTAACAGTG
S.A (1)mecA	CAGCCAAAATAACGATACACTAGA-----TGCCATTGAAGACAAAAA TGTTAACAGTG
S.A (2)mecA	CAGCCAAAATAACGATACACTAGA-----TGCCATTGAAGACAAAAA TGTTAACAGTG
S.A (3)mecA	CAGCCAAAATAACGATACACTAGA-----TGCCATTGAAGACAAAAA TGTTAACAGTG
LA-MRSA (Humano)	TAGCTCATACATACACCTTGAGATTGGCATTGTAGCCATTCCCTTATCTG
mecA	TATAAAGAGTAGCAGTTATTTCTAAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAAAT TGACTGAACGT
CP_meca	TATAAAGAGTAGCAGTTATTTCTAAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAAAT TGACTGAACGT
ECN (1)mecA	TATAAAGAGTAGCAGTTATTTCTAAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAAAT TGACTGAACGT
ECN (2)mecA	TATAAAGAGTAGCAGTTATTTCTAAAAGCGATAATGGTGAAGTAGAAAAT TGACTGAACGT
mecSsciuri	TTCAAAGAGTAGACTTACCAATCTAAAAGATGATAATGGCGAAGTG GAAATGACAGACCGC
S.A (1)mecA	TTCAAAGAGTAGACTTACCAATCTAAAAGATGATAATGGCGAAGTG GAAATGACAGACCGC
S.A (2)mecA	TTCAAAGAGTAGACTTACCAATCTAAAAGATGATAATGGCGAAGTG GAAATGACAGACCGC
S.A (3)mecA	TTCAAAGAGTAGACTTACCAATCTAAAAGATGATAATGGCGAAGTG GAAATGACAGACCGC
LA-MRSA (Humano)	TACATCTTTAACATTAAATGCCATCATCATGTTGGATTATCTTATGATATAA
mecA	CCGAATAAAAATATAATAGT-TTAGGCCTTAAGATAATAACATTCA GGATCGTAAA-
CP_meca	CCGAATAAAAATATAATAGT-TTAGGCCTTAAGATAATAACATTCA GGATCGTAAA-
ECN (1)mecA	CCGAATAAAAATATAATAGT-TTAGGCCTTAAGATAATAACATTCA GGATCGTAAA-
ECN (2)mecA	CCGAATAAAAATATAATAGT-TTAGGCCTTAAGATAATAACATTCA GGATCGTAAA-
mecSsciuri	CCTATTAAAGATTATGACAGT-CTAGGTGTC AAAGCTATCAACATTAAAGATCGTGAT-
S.A (1)mecA	CCTATTAAAGATTATGACAGT-CTAGGTGTC AAAGCTATCAACATTAAAGATCGTGAT-
S.A (2)mecA	CCTATTAAAGATTATGACAGT-CTAGGTGTC AAAGCTATCAACATTAAAGATCGTGAT-
S.A (3)mecA	CCTATTAAAGATTATGACAGT-CTAGGTGTC AAAGCTATCAACATTAAAGATCGTGAT-
LA-MRSA (Humano)	CCACCCAATTGCTGCCAGTTCTCCTTGTT CATTGGAGTTCTGCAGTACCGGATT
mecA	ATAAAAAAAGTATCTAAAATAAAAACGAGTAGATGCT CAAATATAAAATTAAAAACAAAC
CP_meca	ATAAAAAAAGTATCTAAAATAAAAACGAGTAGATGCT CAAATATAAAATTAAAAACAAAC
ECN (1)mecA	ATAAAAAAAGTATCTAAAATAAAAACGAGTAGATGCT CAAATATAAAATTAAAAACAAAC
ECN (2)mecA	ATAAAAAAAGTATCTAAAATAAAAACGAGTAGATGCT CAAATATAAAATTAAAAACAAAC
mecSsciuri	ATCAAAAAGTTCTAAAACAAAAACAAAGTCA CTGCAAAATATGAACTGC AAACAAAT
S.A (1)mecA	ATCAAAAAGTTCTAAAACAAAAACAAAGTCA CTGCAAAATATGAACTGC AAACAAAT
S.A (2)mecA	ATCAAAAAGTTCTAAAACAAAAACAAAGTCA CTGCAAAATATGAACTGC AAACAAAT
S.A (3)mecA	ATCAAAAAGTTCTAAAACAAAAACAAAGTCA CTGCAAAATATGAACTGC AAACAAAT
LA-MRSA (Humano)	GCCATTAAAGTTGCCAT AAAG-ATCTATAAATAC TTCTTTATGTGTTTATT ACGACT
mecA	TACGGTAACATTGATCGAACGTT CAATTAAATTGTTAAGAGA TGTTACGGTATCTGGAA
CP_meca	TACGGTAACATTGATCGAACGTT CAATTAAATTGTTAAGAGA TGTTACGGTATCTGGAA
ECN (1)mecA	TACGGTAACATTGATCGAACGTT CAATTAAATTGTTAAGAGA TGTTACGGTATCTGGAA
ECN (2)mecA	TACGGTAACATTGATCGAACGTT CAATTAAATTGTTAAGAGA TGTTACGGTATCTGGAA
mecSsciuri	TACGGAAAAATTAACTGT GACGTTAAATTAAAC TTTATTAAAGAGATA AAAGATTGGAAA
S.A (1)mecA	TACGGAAAAATTAACTGT GACGTTAAATTAAAC TTTATTAAAGAGATA AAAGATTGGAAA
S.A (2)mecA	TACGGAAAAATTAACTGT GACGTTAAATTAAAC TTTATTAAAGAGATA AAAGATTGGAAA
S.A (3)mecA	TACGGAAAAATTAACTGT GACGTTAAATTAAAC TTTATTAAAGAGATA AAAGATTGGAAA
LA-MRSA (Humano)	TGTGCA TAC-ATCA-GT TAATAGATATT TTCTGGAA-AT AATATT TTCT
mecA	TTAGATTGGGATCATAGCGTC ATTATTCCAGGAATGC AGAAAAGACCAAGCA TACATATT
CP_meca	TTAGATTGGGATCATAGCGTC ATTATTCCAGGAATGC AGAAAAGACCAAGCA TACATATT
ECN (1)mecA	TTAGATTGGGATCATAGCGTC ATTATTCCAGGAATGC AGAAAAGACCAAGCA TACATATT
ECN (2)mecA	TTAGATTGGGATCATAGCGTC ATTATTCCAGGAATGC AGAAAAGACCAAGCA TACATATT
mecSsciuri	TTAGATTGGGATCAAAAGT GTCACTATTCCAGGC ATGCAGAAAATCA ATCCATCAATT
S.A (1)mecA	TTAGATTGGGATCAAAAGT GTCACTATTCCAGGC ATGCAGAAAATCA ATCCATCAATT
S.A (2)mecA	TTAGATTGGGATCAAAAGT GTCACTATTCCAGGC ATGCAGAAAATCA ATCCATCAATT
S.A (3)mecA	TTAGATTGGGATCAAAAGT GTCACTATTCCAGGC ATGCAGAAAATCA ATCCATCAATT
LA-MRSA (Humano)	CCAAACTTGT TTTCGTGT TTAAAGTG AGGTGCGTT AAATTGCCATT TTTC

	370	380	390	400	410	420	
mecA	GAAA - ATTTAAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAAATAATGTGGAATTGGCCAA						
CP_mecA	GAAA - ATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAAATAATGTGGAATTGGCCAA						
ECN (1) mecA	GAAA - ATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAAATAATGTGGAATTGGCCAA						
ECN (2) mecA	GAAA - ATTTAAAATCAGAACGTGGTAAAATTAGACCGAAAATAATGTGGAATTGGCCAA						
mecSsciuri	GAAC - CATTGAAATCAGAACGAGGTAAGATTAGACCGAAAATAATGTGGAATTGGCCAA						
S.A (1) mecA	GAAC - CATTGAAATCAGAACGAGGTAAGATTAGACCGAAAATAATGTGGAATTGGCCAA						
S.A (2) mecA	GAAC - CATTGAAATCAGAACGAGGTAAGATTAGACCGAAAATAATGTGGAATTGGCCAA						
S.A (3) mecA	GAAC - CATTGAAATCAGAACGAGGTAAGATTAGACCGAAAATAATGTGGAATTGGCCAA						
LA-MRSA (Humano)	TAATGCGCTATAGATTGAAAG - GATCTGTACTGGGTTAATCAGTATTTCACCTTGTCCGT						
	430	440	450	460	470	480	
mecA	TACAGGAA - CAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAGAAATGTATCTAAA - AAAGATTA						
CP_mecA	TACAGGAA - CAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAGAAATGTATCTAAA - AAAGATTA						
ECN (1) mecA	TACAGGAA - CAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAGAAATGTATCTAAA - AAAGATTA						
ECN (2) mecA	TACAGGAA - CAGCATATGAGATAGGCATCGTTCCAAGAAATGTATCTAAA - AAAGATTA						
mecSsciuri	TACAGGAA - CAGCACATGAAGTTGGCATTTGTTCCAATAAATGTTTCGACA - AGTGATTA						
S.A (1) mecA	TACAGGAA - CAGCACATGAAGTTGGCATTTGTTCCAATAAATGTTTCGACA - AGTGATTA						
S.A (2) mecA	TACAGGAA - CAGCACATGAAGTTGGCATTTGTTCCAATAAATGTTTCGACA - AGTGATTA						
S.A (3) mecA	TACAGGAA - CAGCACATGAAGTTGGCATTTGTTCCAATAAATGTTTCGACA - AGTGATTA						
LA-MRSA (Humano)	AACCTGAATCAGCTAATAATATT - CATTATCAAATTTGTTGAAATTGAGCATTAA						
	490	500	510	520	530	540	
mecA	TAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTCTGAAAGACTATATAACAAACAAATGGATCA						
CP_mecA	TAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTCTGAAAGACTATATAACAAACAAATGGATCA						
ECN (1) mecA	TAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTCTGAAAGACTATATAACAAACAAATGGATCA						
ECN (2) mecA	TAAAGCAATCGCTAAAGAACTAAGTATTCTGAAAGACTATATAACAAACAAATGGATCA						
mecSsciuri	CAAAGCAA TCGCTAAAAAAATTAGACCTTTCAGAACATCGTATATTAAACAAACAGCTGAACA						
S.A (1) mecA	CAAAGCAA TCGCTAAAAAAATTAGACCTTTCAGAACATCGTATATTAAACAAACAGCTGAACA						
S.A (2) mecA	CAAAGCAA TCGCTAAAAAAATTAGACCTTTCAGAACATCGTATATTAAACAAACAGCTGAACA						
S.A (3) mecA	CAAAGCAA TCGCTAAAAAAATTAGACCTTTCAGAACATCGTATATTAAACAAACAGCTGAACA						
LA-MRSA (Humano)	AAAAATGGATAATCACTTGGTATATCTTCACCAACACCTAGTTTTTCA TGCCTTTTCA						
	550	560	570	580	590	600	
mecA	AAATGGGTACAAGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAATGGATGAATA						
CP_mecA	AAATGGGTACAAGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAATGGATGAATA						
ECN (1) mecA	AAATGGGTACAAGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAATGGATGAATA						
ECN (2) mecA	AAATGGGTACAAGATGATAACCTTCGTTCCACTTAAACCGTTAAAAAAATGGATGAATA						
mecSsciuri	GGATTTGGTTAAAGATGATAACATTCGTCCCTCTCAAGACTGTTCAAAATATGAATCAAGA						
S.A (1) mecA	GGATTTGGTTAAAGATGATAACATTCGTCCCTCTCAAGACTGTTCAAAATATGAATCAAGA						
S.A (2) mecA	GGATTTGGTTAAAGATGATAACATTCGTCCCTCTCAAGACTGTTCAAAATATGAATCAAGA						
S.A (3) mecA	GGATTTGGTTAAAGATGATAACATTCGTCCCTCTCAAGACTGTTCAAAATATGAATCAAGA						
LA-MRSA (Humano)	A - ATTCTTACTGCTTAATTCGAGTGCTACTCTAGCAAAGAAAATGTTATCTGATGATTC						
	610	620	630	640	650	660	
mecA	TTAAGTGATTCG - AAAAATTTCATCTTACAACTAATGAAACAGAAAATCGTAAC						
CP_mecA	TTAAGTGATTCG - AAAAATTTCATCTTACAACTAATGAAACAGAAAATCGTAAC						
ECN (1) mecA	TTAAGAGATTCG - AAAAATTTCATCTTACAACTAATGAAACAGAAAATCGTAAC						
ECN (2) mecA	TTAAGAGATTCG - AAAAATTTCATCTTACAACTAATGAAACAGAAAATCGTAAC						
mecSsciuri	CACAAAGCGTTTG - TGAAAAGTATCATCTCAACACAAAGAACAGAAAATCGACAGT						
S.A (1) mecA	CACAAAGCGTTTG - TGAAAAGTATCATCTCAACACAAAGAACAGAAAATCGACAGT						
S.A (2) mecA	CACAAAGCGTTTG - TGAAAAGTATCATCTCAACACAAAGAACAGAAAATCGACAGT						
S.A (3) mecA	CACAAAGCGTTTG - TGAAAAGTATCATCTCAACACAAAGAACAGAAAATCGACAGT						
LA-MRSA (Humano)	TATTGCTTGTAAAGTCGATATTACCATTTACCACTTCATATCTTGTAAACGTTGTAACC						
	670	680	690	700	710	720	
mecA	ATCC --- TCTAGAAAAAGCAGCTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAAAC - TC						
CP_mecA	ATCC --- TCTAGAAAAAGCAGCTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAAAC - TC						
ECN (1) mecA	ATCC --- TCTAGAAAAAGCAGCTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAAAC - TC						
ECN (2) mecA	ATCC --- TCTAGAAAAAGCAGCTTCACATCTATTAGGTTATGTTGGTCCCATTAAAC - TC						
mecSsciuri	ATCC --- GCTTGAAAGAACCAACACGCACTTGCCTGGTTATGTTGGCCCTATTAAAC - TC						
S.A (1) mecA	ATCC --- GCTTGAAAGAACCAACACGCACTTGCCTGGTTATGTTGGCCCTATTAAAC - TC						
S.A (2) mecA	ATCC --- GCTTGAAAGAACCAACACGCACTTGCCTGGTTATGTTGGCCCTATTAAAC - TC						
S.A (3) mecA	ATCC --- GCTTGAAAGAACCAACACGCACTTGCCTGGTTATGTTGGCCCTATTAAAC - TC						
LA-MRSA (Humano)	ACCCCAAGATTATCTTTTGCACACCTTACCATCGATTTATAACTTGTGTTTATCGTC						

	730	740	750	760	770	780
mecA	TGAAAGAATTAAAACAAAAAGAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTTA--	TTGGTAA				
CP_mecA	TGAAAGAATTAAAACAAAAAGAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTTA--	TTGGTAA				
ECN (1)mecA	TGAAAGAATTAAAACAAAAAGAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTTA--	TTGGTAA				
ECN (2)mecA	TGAAAGAATTAAAACAAAAAGAATATAAAGGCTATAAAGATGATGCAGTTA--	TTGGTAA				
mecSsciuri	AGAAGAAATTAAAGCAAAAGCATTTAAAGGTTATAAAAGAGATGCCATCG--	TCGGTAA				
S.A (1)mecA	AGAAGAAATTAAAGCAAAAGCATTTAAAGGTTATAAAAGAGATGCCATCG--	TCGGTAA				
S.A (2)mecA	AGAAGAAATTAAAGCAAAAGCATTTAAAGGTTATAAAAGAGATGCCATCG--	TCGGTAA				
S.A (3)mecA	AGAAGAAATTAAAGCAAAAGCATTTAAAGGTTATAAAAGAGATGCCATCG--	TCGGTAA				
LA-MRSA (Humano)	TAATCTTTGTATTAAACCCATCATTGCTGTTAATATTTTTGAGTTGAACCTGGTGA					
	790	800	810	820	830	840
mecA	AAAGGGACTCGAAAAAACTTTACGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTAC					
CP_mecA	AAAGGGACTCGAAAAAACTTTACGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTAC					
ECN (1)mecA	AAAGGGACTCGAAAAAACTTTACGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTAC					
ECN (2)mecA	AAAGGGACTCGAAAAAACTTTACGATAAAAGCTCCAACATGAAGATGGCTATCGTGTAC					
mecSsciuri	AAAAGGAATCGAAAAAACTTTACGATAAAAGCTTCAAAATAAAGACGGATATCGGGTCAC					
S.A (1)mecA	AAAAGGAATCGAAAAAACTTTACGATAAAAGACCTTCAAAATAAAGACGGATATCGGGTCAC					
S.A (2)mecA	AAAAGGAATCGAAAAAACTTTACGATAAAAGACCTTCAAAATAAAGACGGATATCGGGTCAC					
S.A (3)mecA	AAAAGGAATCGAAAAAACTTTACGATAAAAGACCTTCAAAATAAAGACGGATATCGGGTCAC					
LA-MRSA (Humano)	AGTTGTAATCTGAA-CTTGTTGAGCAGAGGTTCTTTTATCTCGGTTAATTATT					
	850	860	870	880	890	900
mecA	AATCGTTGACGATAATAGCAATAACATCGCACATACATTAAATAGAGAAAAAGAAAAAGA					
CP_mecA	AATCGTTGACGATAATAGCAATAACATCGCACATACATTAAATAGAGAAAAAGAAAAAGA					
ECN (1)mecA	AATCGTTGACGATAATAGCAATAACATCGCACATACATTAAATAGAGAAAAAGAAAAAGA					
ECN (2)mecA	AATCGTTGACGATAATAGCAATAACATCGCACATACATTAAATAGAGAAAAAGAAAAAGA					
mecSsciuri	ATAATTGATAATAATAA-----AGTTATTGATACATTAATAAAGAAAAAGAAAAAGA					
S.A (1)mecA	ATAATTGATAATAATAA-----AGTTATTGATACATTAATAAAGAAAAAGAAAAAGA					
S.A (2)mecA	ATAATTGATAATAATAA-----AGTTATTGATACATTAATAAAGAAAAAGAAAAAGA					
S.A (3)mecA	ATAATTGATAATAATAA-----AGTTATTGATACATTAATAAAGAAAAAGAAAAAGA					
LA-MRSA (Humano)	ATCTTCGTTACCAT-----GCCATACATAAACTGGTAGACGTATAGAGTG					
	910	920	930	940	950	960
mecA	TGGCAAAAGATTCAACTAACTATTGATGCTAAAGTTCAAAGAGTATTATAACAAACAT					
CP_mecA	TGGCAAAAGATTCAACTAACTATTGATGCTAAAGTTCAAAGAGTATTATAACAAACAT					
ECN (1)mecA	TGGCAAAAGATTCAACTAACTATTGATGCTAAAGTTCAAAGAGTATTATAACAAACAT					
ECN (2)mecA	TGGCAAAAGATTCAACTAACTATTGATGCTAAAGTTCAAAGAGTATTATAACAAACAT					
mecSsciuri	TGGCAAAAGATTAAATTAAACCATCGATTTCTAGAGTCCAAAAAAAGTATTATAACAAACAT					
S.A (1)mecA	TGGCAAAAGATTAAATTAAACCATCGATTTCTAGAGTCCAAAAAAAGTATTATAACAAACAT					
S.A (2)mecA	TGGCAAAAGATTAAATTAAACCATCGATTTCTAGAGTCCAAAAAAAGTATTATAACAAACAT					
S.A (3)mecA	TGGCAAAAGATTAAATTAAACCATCGATTTCTAGAGTCCAAAAAAAGTATTATAACAAACAT					
LA-MRSA (Humano)	TGCTTACAAGTGCTAATAATTCACTGTTGAGGGTGGATAGCAGTACCTGAGCCATAAT					
	970	980	990	1000	1010	1020
mecA	GAAAAAAATGATTATGGCTCAGGTACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTTAGCACT					
CP_mecA	GAAAAAAATGATTATGGCTCAGGTACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTTAGCACT					
ECN (1)mecA	GAAAAAAATGATTATGGCTCAGGTACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTTAGCACT					
ECN (2)mecA	GAAAAAAATGATTATGGCTCAGGTACTGCTATCCACCCCTAAACAGGTGAATTATTTAGCACT					
mecSsciuri	GAAAGATGACTACCGGTTCAAGGTACAGCTATTCACTCCACAAACAGGCCAACGTGTTAGCACT					
S.A (1)mecA	GAAAGATGACTACCGGTTCAAGGTACAGCTATTCACTCCACAAACAGGCCAACGTGTTAGCACT					
S.A (2)mecA	GAAAGATGACTACCGGTTCAAGGTACAGCTATTCACTCCACAAACAGGCCAACGTGTTAGCACT					
S.A (3)mecA	GAAAGATGACTACCGGTTCAAGGTACAGCTATTCACTCCACAAACAGGCCAACGTGTTAGCACT					
LA-MRSA (Humano)	CATTTTCATGTTGTTAAATACTTTTGAACATTAGCATCAAT-AGTTAGTGTAA					
	1030	1040	1050	1060	1070	1080
mecA	TGTAAGCACACCTTCAATAGACGTCTATCCATTATGATGGCATGAGTA-ACGAAGAAAT					
CP_mecA	TGTAAGCACACCTTCAATAGACGTCTATCCATTATGATGGCATGAGTA-ACGAAGAAAT					
ECN (1)mecA	TGTAAGCACACCTTCAATAGACGTCTATCCATTATGATGGCATGAGTA-ACGAAGAAAT					
ECN (2)mecA	TGTAAGCACACCTTCAATAGACGTCTATCCATTATGATGGCATGAGTA-ACGAAGAAAT					
mecSsciuri	TGTCAGCACACCATCTTACGATGTTATCCATTATGAAATGGAAATGAGTG-ATGAAGATT					
S.A (1)mecA	TGTCAGCACACCATCTTACGATGTTATCCATTATGAAATGGAAATGAGTG-ATGAAGATT					
S.A (2)mecA	TGTCAGCACACCATCTTACGATGTTATCCATTATGAAATGGAAATGAGTG-ATGAAGATT					
S.A (3)mecA	TGTCAGCACACCATCTTACGATGTTATCCATTATGAAATGGAAATGAGTG-ATGAAGATT					
LA-MRSA (Humano)	TCTTTGC-CATCTTTTTTC-TTTTCTCTATTAAATGTATG-TGGATTGTATTGCTATT					

	1090	1100	1110	1120	1130	1140
mecA	ATAAATAAAATTAAACCGAAGATAAAAAAGAACCTCTGCTCAACAAGTTCCAGATTCACAAC					
CP_mecA	ATAAATAAAATTAAACCGAAGATAAAAAAGAACCTCTGCTCAACAAGTTCCAGATTCACAAC					
ECN (1)mecA	ATAAATAAAATTAAACCGAAGATAAAAAAGAACCTCTGCTCAACAAGTTCCAGATTCACAAC					
ECN (2)mecA	ATAAATAAAATTAAACCGAAGATAAAAAAGAACCTCTGCTCAACAAGTTCCAGATTCACAAC					
mecSsciuri	ATAAGAAAATTAAACCGAAGATGAATAAGAACCACTTCCTTAATAAGTTCCAAATCACGACAT					
S.A (1)mecA	ATAAGAAAATTAAACCGAAGATGAATAAGAACCACTTCCTTAATAAGTTCCAAATCACGACAT					
S.A (2)mecA	ATAAGAAAATTAAACCGAAGATGAATAAGAACCACTTCCTTAATAAGTTCCAAATCACGACAT					
S.A (3)mecA	ATAAGAAAATTAAACCGAAGATGAATAAGAACCACTTCCTTAATAAGTTCCAAATCACGACAT					
LA-MRSA (Humano)	ATCGTCAACGATTGTGACACGA TAGCCATCTTCATGGAGCTTTTATCGTAAAGTT					
	1150	1160	1170	1180	1190	1200
mecA	CACCAAGGTTCAACTCA-- AAAAATTTAACAGCAATGATTGGGTTAAATAACAAAACATT					
CP_mecA	CACCAAGGTTCAACTCA-- AAAAATTTAACAGCAATGATTGGGTTAAATAACAAAACATT					
ECN (1)mecA	CACCAAGGTTCAACTCA-- AAAAATTTAACAGCAATGATTGGGTTAAATAACAAAACATT					
ECN (2)mecA	CACCAAGGTTCAACTCA-- AAAAATTTAACAGCAATGATTGGGTTAAATAACAAAACATT					
mecSsciuri	CACCTGGTTGCACCTCA-- AAAAATTTAACAGCTATGATTGGCTTAAATAAAGACTTT					
S.A (1)mecA	CACCTGGTTGCACCTCA-- AAAAATTTAACAGCTATGATTGGCTTAAATAAAGACTTT					
S.A (2)mecA	CACCTGGTTGCACCTCA-- AAAAATTTAACAGCTATGATTGGCTTAAATAAAGACTTT					
S.A (3)mecA	CACCTGGTTGCACCTCA-- AAAAATTTAACAGCTATGATTGGCTTAAATAAAGACTTT					
LA-MRSA (Humano)	TTCGAGTCCCCTTTACAAATAACTGCATCATCTTATAGCCTTTATTCCTTTGTT					
	1210	1220	1230	1240	1250	1260
mecA	AGACGATAAAAACAACTTAATAATCGATGGTAAAGGTTGGCAAAAAGATAAACTTT---					
CP_mecA	AGACGATAAAAACAACTTAATAATCGATGGTAAAGGTTGGCAAAAAGATAAACTTT---					
ECN (1)mecA	AGACGATAAAAACAACTTAATAATCGATGGTAAAGGTTGGCAAAAAGATAAACTTT---					
ECN (2)mecA	AGACGATAAAAACAACTTAATAATCGATGGTAAAGGTTGGCAAAAAGATAAACTTT---					
mecSsciuri	AGACGACAAAACAACTTAATAATTTAACCGGAAAAGGATGGCAAAAAGATAAACTTT---					
S.A (1)mecA	AGACGACAAAACAACTTAATAATTTAACCGGAAAAGGATGGCAAAAAGATAAACTTT---					
S.A (2)mecA	AGACGACAAAACAACTTAATAATTTAACCGGAAAAGGATGGCAAAAAGATAAACTTT---					
S.A (3)mecA	AGACGACAAAACAACTTAATAATTTAACCGGAAAAGGATGGCAAAAAGATAAACTTT---					
LA-MRSA (Humano)	TAATTCTTCAG--ACTTAATGGGACCAACATAACCTAATAGATGTGAAGTCGCTTTCTTA					
	1270	1280	1290	1300	1310	1320
mecA	-GGGGTGGTTACACGTTACAAGATATGAAGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAA					
CP_mecA	-GGGGTGGTTACACGTTACAAGATATGAAGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAA					
ECN (1)mecA	-GGGGTGGTTACACGTTACAAGATATGAAGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAA					
ECN (2)mecA	-GGGGTGGTTACACGTTACAAGATATGAAGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAA					
mecSsciuri	-GGGGTGACTACACGTTACAAGATATGAAGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAA					
S.A (1)mecA	-GGGGTGACTACACGTTACAAGATATGAAGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAA					
S.A (2)mecA	-GGGGTGACTACACGTTACAAGATATGAAGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAA					
S.A (3)mecA	-GGGGTGACTACACGTTACAAGATATGAAGTGGTAAATGGTAAATATCGACTTAAACAA					
LA-MRSA (Humano)	GAGGATAGTTACGACTTTCTGTTCTTCA-TTGTCAA-GATGAAATTTCGCGA-AA					
	1330	1340	1350	1360	1370	1380
mecA	GCAATAGAACATCATAGATAAACATTTCCTTGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAG					
CP_mecA	GCAATAGAACATCATAGATAAACATTTCCTTGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAG					
ECN (1)mecA	GCAATAGAACATCATAGATAAACATTTCCTTGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAG					
ECN (2)mecA	GCAATAGAACATCATAGATAAACATTTCCTTGCTAGAGTAGCACTCGAATTAGGCAGTAAG					
mecSsciuri	GCTATTGAATCATCAGATAAACATTTCCTTGCGAGAGTTGCACCTTGAATTAGGAAGCAA					
S.A (1)mecA	GCTATTGAATCATCAGATAAACATTTCCTTGCGAGAGTTGCACCTTGAATTAGGAAGCAA					
S.A (2)mecA	GCTATTGAATCATCAGATAAACATTTCCTTGCGAGAGTTGCACCTTGAATTAGGAAGCAA					
S.A (3)mecA	GCTATTGAATCATCAGATAAACATTTCCTTGCGAGAGTTGCACCTTGAATTAGGAAGCAA					
LA-MRSA (Humano)	TCTCTTAAATATTCTAC--CATTTTTTAAC--GGTTTTAAGTGGAAC--GAAGGTATC					
	1390	1400	1410	1420	1430	1440
mecA	AAATTGAAAAAGGCATAAAAAAACTAGGTGTTGGTAAAGATAATCCAAGTGATTATCCA					
CP_mecA	AAATTGAAAAAGGCATAAAAAAACTAGGTGTTGGTAAAGATAATCCAAGTGATTATCCA					
ECN (1)mecA	AAATTGAAAAAGGCATAAAAAAACTAGGTGTTGGTAAAGATAATCCAAGTGATTATCCA					
ECN (2)mecA	AAATTGAAAAAGGCATAAAAAAACTAGGTGTTGGTAAAGATAATCCAAGTGATTATCCA					
mecSsciuri	AAATTGAAAGAGCTATGAAACGCTAGGCCGTTGGTAAAGATAATCCCAGTGATTATCCA					
S.A (1)mecA	AAATTGAAAGAGCTATGAAACGCTAGGCCGTTGGTAAAGATAATCCCAGTGATTATCCA					
S.A (2)mecA	AAATTGAAAGAGCTATGAAACGCTAGGCCGTTGGTAAAGATAATCCCAGTGATTATCCA					
S.A (3)mecA	AAATTGAAAGAGCTATGAAACGCTAGGCCGTTGGTAAAGATAATCCCAGTGATTATCCA					
LA-MRSA (Humano)	ATCTTGTACCCATTTCATGATCCATTGTTGTTGATAGTCAGAAATACTTAGTTC					
	1450	1460	1470	1480	1490	1500
mecA	TTTTATAAT-GCTCAAATTCAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAT-TAGCTGATT					
CP_mecA	TTTTATAAT-GCTCAAATTCAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAT-TAGCTGATT					
ECN (1)mecA	TTTTATAAT-GCTCAAATTCAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAT-TAGCTGATT					
ECN (2)mecA	TTTTATAAT-GCTCAAATTCAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAT-TAGCTGATT					
mecSsciuri	TTCTATAAT-GCACAAATTCAAAAGAACCTAGATAATGAAATATTGT-TAGCTGACT					
S.A (1)mecA	TTCTATAAT-GCACAAATTCAAAAGAACCTAGATAATGAAATATTGT-TAGCTGACT					
S.A (2)mecA	TTCTATAAT-GCACAAATTCAAAAGAACCTAGATAATGAAATATTGT-TAGCTGACT					
S.A (3)mecA	TTCTATAAT-GCACAAATTCAAAAGAACCTAGATAATGAAATATTGT-TAGCTGACT					
LA-MRSA (Humano)	TTAGCGATTGCTTTATACTCTTTAGATAACATTCTTGGAACGATGCCATCTCATA					

1510 1520 1530 1540 1550 1560

mecA CAG - GTTACGGACAAGGTGAAATACGTATTAAACCCAGTACAGATCCTTCATACTATAGC
CP_mecA CAG - GTTACGGACAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATACTATAGC
ECN (1)mecA CAG - GTTACGGACAAGGTGAAATACGTATTAAACCCAGTACAGATCCTTCATACTATAGC
ECN (2)mecA CAG - GTTACGGACAAGGTGAAATACGTATTAAACCCAGTACAGATCCTTCATACTATAGC
mecSsciuri CAG - GTTACGGACAAGGTGAAATACGTATTAAACCCAGTACAGATCCTTCATACTATAGC
S.A (1)mecA CAG - GTTATGGACAAGGCAGAAATTGATTAATCCCTGTTCAAATTCTTCATAATATAGC
S.A (2)mecA CAG - GTTATGGACAAGGCAGAAATTGATTAATCCCTGTTCAAATTCTTCATAATATAGC
S.A (3)mecA CAG - GTTATGGACAAGGCAGAAATTGATTAATCCCTGTTCAAATTCTTCATAATATAGC
LA-MRSA (Humano) TCGTGTCTCTGTATTGCCAACATCCACATTGTTCGGTCTAAAATTACCAACGTTCTG-

1570 1580 1590 1600 1610 1620

mecA GCATTAGAA --- AATAATGGCAATAATTAAACGCCACCTCCTACTATT --- AAAAGACACGAA
CP_mecA GCATTAGAA --- AATAATGGCAATAATTAAACGCCACCTCCTACTATT --- AAAAGACACGAA
ECN (1)mecA GCATTAGAA --- AATAATGGCAATAATTAAACGCCACCTCCTACTATT --- AAAAGACACGAA
ECN (2)mecA GCATTAGAA --- AATAATGGCAATAATTAAACGCCACCTCCTACTATT --- AAAAGACACGAA
mecSsciuri GCATTAGAG --- AATAAAAGGTAAATGTAATGCACCACATGTACT --- CAAGAGTACGAA
S.A (1)mecA GCATTAGAG --- AATAAAAGGTAAATGTAATGCACCACATGTACT --- CAAGAGTACGAA
S.A (2)mecA GCATTAGAG --- AATAAAAGGTAAATGTAATGCACCACATGTACT --- CAAGAGTACGAA
S.A (3)mecA GCATTAGAG --- AATAAAAGGTAAATGTAATGCACCACATGTACT --- CAAGAGTACGAA
LA-MRSA (Humano) ATTTAAATTTCATATGTATGCTTGGCTTTCTGCAATTCTGGAATATGACGCTAT

1630 1640 1650 1660 1670 1680

mecA AACAAAGTTGGAGAAAAATATTATTTCCAAGAAAAATTCATCTATTACTGATGG
CP_mecA AACAAAGTTGGAGAAAAATATTATTTCCAAGAAAAATTCATCTATTACTGATGG
ECN (1)mecA AACAAAGTTGGAGAAAAATATTATTTCCAAGAAAAATTCATCTATTACTGATGG
ECN (2)mecA AACAAAGTTGGAGAAAAATATTATTTCCAAGAAAAATTCATCTATTACTGATGG
mecSsciuri AACAAAGTCTGGAGAAGAACATCATTTCCCAGGAAAATTAAATTGTTAACAGACGG
S.A (1)mecA AACAAAGTCTGGAGAAGAACATCATTTCCCAGGAAAATTAAATTGTTAACAGACGG
S.A (2)mecA AACAAAGTCTGGAGAAGAACATCATTTCCCAGGAAAATTAAATTGTTAACAGACGG
S.A (3)mecA AACAAAGTCTGGAGAAGAACATCATTTCCCAGGAAAATTAAATTGTTAACAGACGG
LA-MRSA (Humano) GATCCCCATCTAACCTCCACATACCCTCTTAAACAAATTAAATTGAAACGTGCGAT

1690 1700 1710 1720 1730 1740

mecA TA - TGCAACAA - GTCGTAATAAACACATAAAGGAATATTATAGATCTTATGCAAAAC
CP_mecA TA - TGCAACAA - GTCGTAATAAACACATAAAGGAATATTATAGATCTTATGCAAAAC
ECN (1)mecA TA - TGCAACAA - GTCGTAATAAACACATAAAGGAATATTATAGATCTTATGCAAAAC
ECN (2)mecA TA - TGCAACAA - GTCGTAATAAACACATAAAGGAATATTATAGATCTTATGCAAAAC
mecSsciuri CA - TGCAACAA - GTCGTGAACAAAAACACATAGAGAAGATATTATAGATCATATGCCAAC
S.A (1)mecA CA - TGCAACAA - GTCGTGAACAAAAACACATAGAGAAGATATTATAGATCATATGCCAAC
S.A (2)mecA CA - TGCAACAA - GTCGTGAACAAAAACACATAGAGAAGATATTATAGATCATATGCCAAC
S.A (3)mecA CA - TGCAACAA - GTCGTGAACAAAAACACATAGAGAAGATATTATAGATCATATGCCAAC
LA-MRSA (Humano) CAATGTTACCGTAGTTGTTATTGAGCATCTACTGTTTTATTTTAG

1750 1760 1770 1780 1790 1800

mecA TTAATTGGCAAATCCGTACTGCAGAAC - TCAAAATGAAAACAGGGAGAAACTGGCAGACA
CP_mecA TTAATTGGCAAATCCGTACTGCAGAAC - TCAAAATGAAAACAGGGAGAAACTGGCAGACA
ECN (1)mecA TTAATTGGCAAATCCGTACTGCAGAAC - TCAAAATGAAAACAGGGAGAAACTGGCAGACA
ECN (2)mecA TTAATTGGCAAATCCGTACTGCAGAAC - TCAAAATGAAAACAGGGAGAAACTGGCAGACA
mecSsciuri TTAGTTGGTAAATCAGGCCACAGCTGAAC - TCAAGATGAAAACAGGTGAGACAGGACAACA
S.A (1)mecA TTAGTTGGTAAATCAGGCCACAGCTGAAC - TCAAGATGAAAACAGGTGAGACAGGACAACA
S.A (2)mecA TTAGTTGGTAAATCAGGCCACAGCTGAAC - TCAAGATGAAAACAGGTGAGACAGGACAACA
S.A (3)mecA TTAGTTGGTAAATCAGGCCACAGCTGAAC - TCAAGATGAAAACAGGTGAGACAGGACAACA
LA-MRSA (Humano) ATACTTTTTTATTACGATCTGAATGTTATATCTTAAACCTAAATATATA

1810 1820 1830 1840 1850 1860

mecA A --- ATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAG - ATAATC - CAAACATGATGATGGCTAT
CP_mecA A --- ATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAG - ATAATC - CAAACATGATGATGGCTAT
ECN (1)mecA A --- ATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAG - ATAATC - CAAACATGATGATGGCTAT
ECN (2)mecA A --- ATTGGGTGGTTTATCATATGATAAAG - ATAATC - CAAACATGATGATGGCTAT
mecSsciuri A --- ATAGGTTGGTTCATTTCTATAATAAAG - ATAATC - CAAATATGATGATGGCTAT
S.A (1)mecA A --- ATAGGTTGGTTCATTTCTATAATAAAG - ATAATC - CAAATATGATGATGGCTAT
S.A (2)mecA A --- ATAGGTTGGTTCATTTCTATAATAAAG - ATAATC - CAAATATGATGATGGCTAT
S.A (3)mecA A --- ATAGGTTGGTTCATTTCTATAATAAAG - ATAATC - CAAATATGATGATGGCTAT
LA-MRSA (Humano) TTGTTATGCCACCTCAGTCATTCTACTTCAACATTATCGCTTTAGAAAATAACTGCC

	1870	1880
<i>mecA</i>	TAATCTTAAAGATGTACAAAGATAAA	
<i>CP_mecA</i>	TAATGTTAAAGATGTACAAAGATAAA	
<i>ECN (1)mecA</i>	TAATGTTAAAGATGTACAAAGATAAA	
<i>ECN (2)mecA</i>	TAATGTTAAAGATGTACAAAGATAAA	
<i>mecSsciuri</i>	TAATGTTGAAAGATGTACAAAGATAAA	
<i>S.A (1)mecA</i>	TAATGTTGAAAGATGTACAAAGATAAA	
<i>S.A (2)mecA</i>	TAATGTTGAAAGATGTACAAAGATAAA	
<i>S.A (3)mecA</i>	TAATGTTGAAAGATGTACAAAGATAAA	
<i>LA-MRSA (Humano)</i>	TATCTTATAAACCTTGTTTGAATT	

Legenda: *mecA* (HE681097.1); CP- cepa padrão (ATCC43300); ECN(1); ECN (2); *mecSsciuri* ([AY820253.1](#)), S.A (1,2 e 3) e LA-MRSA(CP003808) respectivamente.