

## RESISTÊNCIA À METICILINA EM *STAPHYLOCOCCUS* NÃO-AUREUS ISOLADOS EM LEITE DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA

TAVARES, A.M.F.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, L.F.<sup>1</sup>; AMORIM, M.J.R.<sup>1</sup>; SANTOS, F.G.<sup>2</sup>; MATOS, A.F.<sup>3</sup>;  
ALMEIDA, A.C.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestrando(a) do Programa de Pós Graduação em Produção Animal da UFMG – *Campus* Montes Claros; <sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal da UFMG – *Campus* Montes Claros; <sup>3</sup>Zootecnista graduado pela UFMG – *Campus* Montes Claros; <sup>4</sup>Docente da UFMG – *Campus* Montes Claros.

### Introdução

O gênero *Staphylococcus* reúne diversas espécies, muitas das quais são importantes patógenos em animais, especialmente em rebanhos leiteiros. Entre elas, destaca-se *S. aureus*, amplamente reconhecida como uma das principais causas de mastite bovina, doença comum e de grande impacto econômico na produção de leite. No entanto, os *Staphylococcus* não-aureus (NAS) vêm ganhando relevância por seu papel nas infecções intramamárias, sendo espécies como *S. chromogenes* e *S. epidermidis* frequentemente isoladas de amostras de leite mastítico (De Buck *et al.*, 2021).

Antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, como penicilinas e cefalosporinas, são amplamente utilizados no tratamento dessas infecções. No entanto, a resistência mediada pelos genes, especialmente *mecA* e *mecC*, representa um desafio crescente. Cepas de *Staphylococcus* resistentes à meticilina, que demonstram resistência ampla aos  $\beta$ -lactâmicos, são motivo de preocupação tanto na medicina veterinária quanto na humana (Abdullahi *et al.*, 2023).

Testes fenotípicos, como a difusão com discos de oxacilina e cefoxitina ou a diluição em ágar, são métodos usuais para a detecção da resistência, embora possam apresentar limitações entre os NAS devido à heterorresistência e à variabilidade entre espécies. Já os métodos moleculares, como a PCR para detecção de genes, permanecem como padrão-ouro, embora seu uso rotineiro ainda seja limitado (Goncalves *et al.*, 2023). Diante da crescente relevância dos NAS na mastite bovina e do risco de disseminação da resistência à meticilina, este estudo propõe avaliar a incidência de cepas meticilina-resistentes entre *Staphylococcus* não-aureus isolados de casos mastite.

### Material e Métodos

#### *Isolados bacterianos*

Foram analisados 15 isolados pertencentes ao grupo *Staphylococcus* não-aureus, previamente caracterizados por espectrometria de massas MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight). Esses isolados foram disponibilizados pelo Laboratório de Saúde Animal do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG e derivam de amostras de leite provenientes de vacas com mastite subclínica, coletadas em trabalhos anteriores. As cepas, previamente mantidas em criopreservação, foram inicialmente reativadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e, em seguida, semeadas em placas de Ágar PCA (Plate Count Agar) utilizando a técnica de estrias. As culturas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, com o objetivo de promover o crescimento e a obter colônias isoladas.

## *Determinação Fenotípica por Disco de Cefoxitina*

A determinação fenotípica da resistência à meticilina foi realizada com base na metodologia preconizada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024), utilizando o disco de cefoxitina como marcador indireto da resistência mediada pelo gene *mecA* - principal mecanismo envolvido na resistência à meticilina. Para isso, foram preparadas placas contendo Ágar Mueller-Hinton, nas quais se inoculou uma suspensão bacteriana ajustada ao padrão 0,5 da escala de McFarland, distribuída uniformemente sobre toda a superfície do meio. Em seguida, um disco de cefoxitina (30 µg) foi colocado na placa, assegurando seu contato uniforme com o ágar. As placas foram então incubadas em atmosfera aeróbica, à temperatura de  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por um período de 18 horas. Após o período de incubação, realizou-se a leitura dos halos de inibição ao redor do disco de cefoxitina, considerando-se isolados como resistentes à meticilina aqueles que apresentaram halo de inibição com diâmetro igual ou inferior a 22 mm, conforme os critérios estabelecidos pelo CLSI.

## Resultados e Discussão

A falha terapêutica em vacas leiteiras tratadas com  $\beta$ -lactâmicos, frequentemente relacionada ao uso inadequado desses. O surgimento de *Staphylococcus* resistente à meticilina e de outras cepas multirresistentes agrava ainda mais esse cenário, resultando em infecções prolongadas, queda na produção de leite e prejuízos econômicos expressivos. Além disso, a disseminação dessas bactérias resistentes para seres humanos levanta sérias preocupações em saúde pública. O uso indiscriminado de antibióticos na pecuária, aliado à escassez de sistemas eficazes de vigilância, contribui para o avanço da resistência, evidenciando a urgência em fortalecer práticas de uso racional de antimicrobianos (Schnitt *et al.*, 2020; Romero; Da Cunha, 2021).

A análise descritiva da Tabela 1, que apresenta o perfil de sensibilidade à meticilina em cepas de *Staphylococcus* não-aureus, revela uma predominância de cepas sensíveis ao antibiótico. Em relação à distribuição das espécies de *Staphylococcus*, 80% (12/15) das amostras pertenciam a *S. chromogenes*, enquanto *S. xylosus*, *S. warneri* e *S. epidermidis* representaram 6,7% (1/15) cada. Das 15 cepas analisadas, 13 (86,7%) foram classificadas como sensíveis e apenas 2 (13,3%) demonstraram resistência. A resistência à meticilina foi observada nas cepas C8 e BR10, que apresentaram halos de inibição de 20 mm e 18 mm, respectivamente. Esses valores indicam possível presença de mecanismos de resistência, o que pode representar risco terapêutico, sobretudo em infecções clínicas. Por outro lado, cepas como CN39a, MF9, CN45d e CN47b apresentaram halos  $\geq 32$  mm, evidenciando elevada sensibilidade à meticilina e reforçando sua eficácia frente à maioria dos isolados.

A variação nos halos de inibição, mesmo entre cepas sensíveis (com halos entre 23 mm e 32 mm), sugere diferenças graduais na susceptibilidade, possivelmente associadas à origem clínica dos isolados, à espécie envolvida ou à exposição prévia a antimicrobianos. Embora os dados indiquem alta eficácia da meticilina frente às cepas analisadas, a presença de resistência em 13,3% das amostras reforça a importância do monitoramento contínuo da sensibilidade aos antimicrobianos e da adoção de práticas de uso racional, visando conter a disseminação de cepas resistentes.

## Considerações finais

Os resultados deste estudo evidenciam a predominância de cepas sensíveis à meticilina entre os *Staphylococcus* não-aureus analisados, com baixa taxa de resistência (13,3%). A variação nos halos de inibição, mesmo entre amostras sensíveis, ressalta a importância do monitoramento contínuo da susceptibilidade antimicrobiana. A detecção de cepas resistentes reforça a necessidade

de vigilância epidemiológica e do uso criterioso de antibióticos para preservar sua eficácia terapêutica.

### Agradecimentos

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Federal de Minas Gerais pelo apoio e incentivo à realização deste trabalho.

### Referências

- ABDULLAHI, I. N.; *et al.* Beyond the Wild MRSA: Genetic Features and Phylogenomic Review of *mecC* - Mediated Methicillin Resistance in Non-aureus Staphylococci and Mammaliicocci. **Microorganisms**, v. 12, n. 1, dez. 2023.
- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI, 2024.
- DE BUCK, J.; *et al.* Non-aureus Staphylococci and Bovine Udder Health: Current Understanding and Knowledge Gaps. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, abr. 2021.
- GONCALVES, J. L.; *et al.* Apparent prevalence and selected risk factors of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and non-aureus staphylococci and mammaliicocci in bulk tank milk of dairy herds in Indiana, Ohio, and Michigan. **JDS Communications**, v. 4, n. 6, out. 2023.
- ROMERO, L. C.; DA CUNHA, M. L. R. S. Insights into the epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in special populations and at the community-healthcare interface. The **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, n. 6, dez. 2021.
- SCHNITT, A.; *et al.* The occurrence and distribution of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 on German dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 12, dez. 2020.

**Tabela 1.** Perfil de Sensibilidade à Meticilina em cepas de *Staphylococcus* não-aureus

ID	Micorganismo	Cefoxitina (Halo)	Meticilina
CN45b	<i>S. warneri</i>	29 mm	Sensível
CN39a	<i>S. chromogenes</i>	32 mm	Sensível
C4	<i>S. chromogenes</i>	25 mm	Sensível
CN13b	<i>S. chromogenes</i>	29 mm	Sensível
MF2	<i>S. chromogenes</i>	29 mm	Sensível
CN20a	<i>S. xylosus</i>	25 mm	Sensível
MF9	<i>S. chromogenes</i>	32 mm	Sensível
C1	<i>S. chromogenes</i>	23 mm	Sensível
CN48a	<i>S. chromogenes</i>	29 mm	Sensível
C8	<i>S. chromogenes</i>	20 mm	Resistente
BR10	<i>S. chromogenes</i>	18 mm	Resistente
C3	<i>S. chromogenes</i>	25 mm	Sensível
CN45d	<i>S. chromogenes</i>	32 mm	Sensível
MF1	<i>S. chromogenes</i>	31 mm	Sensível
CN47b	<i>S. epidermidis</i>	32 mm	Sensível

Fonte: Autores (2025).