

SUSCETIBILIDADE *IN VITRO* AOS ANTIMICROBIANOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ORIUNDOS DE MASTITES NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL

LUCAS SCHAEFER BATISTA¹; LARISSA JORDÃO DE ARRUDA CÂMARA²;
KELLY GUEDES³; RITA DE CÁSSIA DOS SANTOS DA CONCEIÇÃO⁴;
HELENICE GONZALEZ DE LIMA⁵; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE⁶;

¹*Universidade Federal de Pelotas – lbatistasul@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – larissajordaoeu@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – kellyquedes99@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – ritinhaconceicao@hotmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – helenicegonzalez@hotmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – patsn@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

Mastite é a inflamação da glândula mamária. Essa patologia possui etiologia diversificada, sendo a imensa maioria dos casos decorrentes bactérias. É uma doença de grande importância nos rebanhos leiteiros, pois compromete a qualidade do leite, reduz a produtividade dos animais, além de causar prejuízos econômicos, pelos custos de tratamento, descarte da produção de animais em tratamento e/ou em período de carência dos fármacos (SANTOS e FONSECA, 2019).

Segundo DAL VESCO *et al* (2017) o principal gênero bacteriano associado com mastites na região sul do Rio Grande do Sul (RS) é o gênero *Staphylococcus* spp. Dentro desse gênero, espécie *Staphylococcus aureus* é classificada pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2024) como uma bactéria de preocupação para multirresistência, se for resistente à meticilina. No conceito da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2020) é considerado multirresistente o isolado resistente a pelo menos três classes distintas de fármacos.

S. aureus além de ser potencial portador de genes de resistência aos antimicrobianos, é pertencente ao grupo dos estafilococos coagulase positiva, ou seja, produtor da enzima coagulase. A enzima coagulase leva a ativação do fibrinogênio e produção de uma rede de fibrina, que protege a bactéria de mecanismos imunológicos, bem como da ação de antimicrobianos (MACVALEY, 2016). Dessa forma, *S. aureus* se torna uma bactéria de difícil tratamento em mastites, culminando com a cronificação, o que leva ao descarte precoce de animais.

O objetivo desse trabalho é demonstrar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *S. aureus* isolados de mastites de rebanhos da região sul do RS. Esse estudo faz parte de um estudo maior ainda em curso, que busca conhecer melhor aspectos relacionados à ocorrência de multirresistência em rebanhos leiteiros.

2. METODOLOGIA

Inicialmente foram visitadas 20 propriedades com rebanho leiteiro, em sete municípios da região sul do RS. Nessas propriedades foram examinados todos os animais em ordenha, buscando diagnosticar através do teste da caneca de fundo escuro mastites clínicas, e através do *Californian Mastit Test* mastites subclínicas,

conforme recomenda SANTOS e FONSECA (2019). Ao todo foram examinados 620 animais, em um total de 2480 quartos mamários.

Nos quartos mamários positivos para mastite clínica, ou subclínica, foram coletadas amostras de leite, desde que não estivessem fibrosados, de forma a impedir a coleta. Ao todo foram coletadas 654 amostras de leite mastítico.

Para identificação do agente etiológico, e seu perfil de resistência, realizou-se cultura microbiológica, seguida de antibiograma. Para cultura semeou-se uma alíquota de 10mcl em placas de Ágar Sangue enriquecido com 5% de sangue desfibrinado, e incubaram-se as mesmas por 48h à 37°C, conforme recomenda SANTOS e FONSECA (2019), e como fez DAL VESCO *et al* (2017). A identificação bioquímica de isolados de *S. aureus* se deu por visualização em microscopia óptica de cocos Gram Positivos característicos, seguido de ensaios bioquímicos de catalase, coagulase, e teste de Voges-Proskauer com resultados positivos (ZAFALON, *et al*, 2009)

O antibiograma seguiu a técnica de discos de difusão em ágar de Kirby-Bauer, conforme descrito por RIBEIRO e STELATO (2011). Foram testados ao todo 38 antimicrobianos para cada isolado de *S. aureus*, sendo eles: Penicilina G; Oxacilina; Ampicilina; Amoxicilina com Clavulanato; Ampicilina com Sulbactan; Piperacilina com Trazobactan; Cefalexina; Cefalotina; Cefazolina; Cefuroxima; Cefoxitina; Ceftiaxona; Cefotaxima; Ceftiofur; Cefepima; Imipeném; Meropeném; Ertapeném; Vancomicina; Teicoplanina; Amicacina; Gentamicina; Neomicina; Bacitracina; Eritromicina; Clindamicina; Doxiciclina; Tetraciclina; Linezolida; Cloranfenicol; Rifampicina; Ciprofloxacino; Enrofloxacino; Moxifloxacino; Levofloxacino; Sulfonamidas; Trimetoprima; e associação de sulfas com trimetoprima. A interpretação dos resultados foi baseada nas tabelas do CLSI (2024) e BrCAST (2024). Quando não estivessem disponíveis nesses documentos, seguiu-se a tabela anterior, mais atualizada desses órgãos.

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA/UFPEL) e foi aprovado. O mesmo encontra-se registrado pelo número 021682/2024-28.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos ao todo 163 isolados de *S. aureus* das 654 amostras de leite submetidas à cultura. Isso representa que em 24,9% dos quartos mamários mastíticos diagnosticados, o agente etiológico era *S. aureus*.

Dos 163 isolados, nove eram multirresistentes, ou seja, 5,5%. Entretanto, foi verificado que em 13 isolados, correspondendo a 7,98% não havia sensibilidade para ao menos um antibiótico de três classes distintas. Nesses isolados o tamanho do halo de inibição enquadrava-se na classificação de “intermediário” pelo CLSI, 2024, não podendo, portanto, ser considerado multirresistente pelo conceito da ANVISA (2021).

Entre os antimicrobianos testados, os que apresentaram menor número de isolados sensíveis foram as Sulfonamidas testadas isoladamente, com apenas 26,67% dos isolados sensíveis, e o Trimetoprima, quando testado isoladamente, com 74,81% dos isolados sensíveis. Quando as sulfas foram testadas associadas ao Trimetoprima a sensibilidade foi de 88,46% dos isolados.

A sensibilidade à Penicilina G foi verificada em 83,21% dos isolados, à Eritromicina em 87,02% e à Clindamicina em 87,79% dos isolados. Os demais antimicrobianos tiveram mais de 92% dos isolados sensíveis.

Apenas o Meropeném e o Imipeném tiveram 100% dos isolados sensíveis, sendo ambos pertencentes a classe dos carbapenêmicos. Os carbapenêmicos são fármacos de última linha de escolha para controle de infecções em pequenos animais, conforme o Guia de Uso Racional de Antimicrobianos para Cães e Gatos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2022), não sendo uma alternativa terapêutica em animais destinados a produção de alimentos para consumo humano. Entretanto foi verificado que ainda assim 2,3% dos isolados manifestaram resistência ao Ertapeném, que pertence à mesma classe.

Os dados demonstram que existem *S. aureus* multirresistentes em mastites nos rebanhos leiteiros do sul do RS, corroborando com os resultados de KRONING, et al. (2018). Os resultados de JARA, et al. (2021) verificou que, em seres humanos, os antimicrobianos com maior ocorrência de isolados resistentes nessa mesma região geográfica foram Clindamicina, Eritromicina e Penicilina G, havendo certa similaridade no perfil de perda de sensibilidade. As sulfas não foram testadas.

4. CONCLUSÕES

Foi verificado que 13,5% dos isolados de *S. aureus* de mastite apresentam redução de sensibilidade a ao menos um fármaco de pelo menos três classes de antimicrobianos, sendo 5,5% classificados como multirresistentes, pelo critério da ANVISA. Apenas dois fármacos de uma mesma classe, de última linha de escolha em seres humanos, tiveram todos os isolados sensíveis.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Guia de Uso Racional de Antimicrobianos para Cães e Gatos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Brasília, 2022;

BRASIL, Microbiologia Clínica para o Controle e Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília: Anvisa, 2020.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING - BrCAST. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Versão de 13/04/2024;

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.

DAL VESCO, J; SIEBEL, J. C.; SUZIN, G. O.; CERESER, N. D.; GONZALEZ, H. L.; Monitoramento dos agentes causadores de mastite e a susceptibilidade aos antimicrobianos. **Expresso Extensão**, v. 22, n.1, p.34-50, 2017.

JARA, M. C.; FREDIANI, A. V.; ZEHETMEYR, F. K.; BRUHN, F. R. P.; MÜLLER, M. R.; MILLER, R. G.; NASCENTE, P. S.; Multidrug-resistant hospital bacteria: Epidemiological factors and susceptibility profile. **Microbial Drug Resistance**, v.27, n.3; p.433-440; 2021;

KRONING, I. S; INGLESIAS, M. A.; MENDONÇA, K. S.; LOPES, G. V.; SILVA, W. P.; Presence of Classical Enterotoxin Genes, *agr* Typing, Antimicrobial Resistance, and Genetic Diversity of *Staphylococcus aureus* from Milk of Cows with Mastitis in Southern Brazil. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 5, p. 738-742, 2018;

McVEY, S. KENNEDY, M. CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 617p.;

RIBEIRO, M. C.; STELATO, M. M.; **Microbiologia Prática - Aplicações de Aprendizagem de Microbiologia Básica - Bactérias, Fungos e Vírus** (2^a Edição). São Paulo: Atheneu, 2011.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L.; **Controle de Mastite e Qualidade do Leite - Desafios e Soluções**. Pirassununga: Edição dos Autores, 2019, 301p.;

WORLD HEALTH ORGANIZATION, **WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024**. Disponível em: https://www-who.int.translate.goog/publications/i/item/9789240093461?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt&_x_tr_pto=tc. Acesso em 18 de agosto de 2025;

ZAFALON, L. F.; ARCARO, J. R. P.; FILHO, A. N.; FERREIRA, L. M.; Utilização do Teste de Voges-Proskauer e da Coagulase para o Diagnóstico Laboratorial de *Staphylococcus aureus* Envolvidos na Epidemiologia da Mastite Bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1285-1293, 2009;