

DETECÇÃO DE PRODUÇÃO DE BIOFILME E MAPEAMENTO DA DISTRIBUIÇÃO DE STAPHYLOCOCCUS METICILINA RESISTENTE DENTRO DO ESTADO DE SANTA CATARINA

Mariana Mello Tolentino, Luís H. Pompelli, Ricardo A. P. Sfaciote, Sandra Maria Ferraz

INTRODUÇÃO

O biofilme é uma comunidade de microrganismos que se aderem a superfícies sólidas ou líquidas e se envolvem em uma matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. Essa matriz atua como uma barreira protetora, permitindo que as bactérias sobrevivam em condições adversas, como escassez de nutrientes, desidratação e exposição a antimicrobianos.

Dentro dessa comunidade, as bactérias se comunicam por meio do “quorum sensing”, um mecanismo que permite a detecção da densidade populacional e a coordenação de atividades, como produção de toxinas ou secreção de enzimas. Essa comunicação aumenta a resistência coletiva e a adaptação do biofilme ao ambiente.

Clinicamente, essa estrutura é importante porque aumenta a resistência bacteriana a antimicrobianos, dificulta a erradicação das infecções e permite a colonização persistente de tecidos ou superfícies. Por isso, a capacidade de formar biofilme é um fator crítico na persistência de microrganismos multirresistentes, como os *Staphylococcus* meticilina-resistentes (MRS).

A resistência à meticilina representa o principal mecanismo de resistência antimicrobiana identificado em *Staphylococcus*, sendo determinada pela presença dos genes *mecA* e/ou *mecC*, localizados em uma ilha genética móvel denominada Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). Esses elementos genéticos podem incorporar sequências de inserção, plasmídeos e transposons, favorecendo também a resistência a diferentes classes de antimicrobianos. Diante disso, este estudo teve como objetivo investigar a produção de biofilme, a similaridade genética e a distribuição de cepas de MRS em equinos no estado de Santa Catarina.

DESENVOLVIMENTO

No presente estudo, foram recuperadas 56 amostras de MRS da bacterioteca do Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA), os quais foram isolados da mucosa nasal de equinos do estado de Santa Catarina de um estudo prévio. Para revitalização, 100 µL de cada amostra (previamente armazenada em microtubos tipo Eppendorf a -20 °C) foram inoculados em 2 mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubados em estufa a 37 °C por 24 horas.

Em seguida, utilizando uma alça bacteriológica, uma alíquota do BHI foi transferida para o meio de cultura seletivo para *Staphylococcus*, Manitol Salgado, realizando o esgotamento para isolamento de colônias individuais, seguido de incubação a 37 °C por mais 24 horas.

Após as 24hs, as placas foram avaliadas quanto às características típicas de *Staphylococcus*, como colônias pequenas, arredondadas e lisas. Além da observação visual, realizaram-se testes complementares, incluindo o teste da catalase e a coloração de Gram. Colônias que se mostraram catalase positivas e cocos Gram-positivos, foram posteriormente estriadas em placas contendo Ágar Vermelho Congo (AVC), para detecção da produção de biofilme, sendo incubadas a 37 °C por mais 24 horas.

Os isolados de MRS foram classificados de acordo com o padrão de crescimento no AVC: 1) positivo forte, caracterizado pela coloração preta intensa das colônias e do meio de cultura; 2) positivo fraco, coloração preta de menor intensidade nas colônias; 3) negativo, permanência da coloração vermelha das colônias.

Quanto a detecção genotípica da produção de biofilme em cepas de MRS será realizada a técnica de Multiplex-PCR a qual se encontra em processo de padronização. Da mesma forma, a avaliação da similaridade genética entre os isolados, nas quais as amostras recuperadas serão analisadas por eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE).

RESULTADOS

Das 56 amostras analisadas fenotipicamente quanto à capacidade de produção de biofilme, 50 (89,3%) apresentaram resultado positivo. Destas, 50% (25/50) foram classificadas como positivo forte (P+), caracterizadas pela coloração preta mais intensa, indicando possível capacidade de formação de biofilme e, consequentemente, maior potencial de resistência a condições adversas e antimicrobianos. Outras 50% (25/50) das amostras foram classificadas como positivas fracas (P-), apresentando coloração preta menos intensa, o que sugere uma capacidade moderada de formação de biofilme. Por fim, 6 (10,7%) amostras não apresentaram produção detectável de biofilme no AVC, indicando ausência dessa característica.

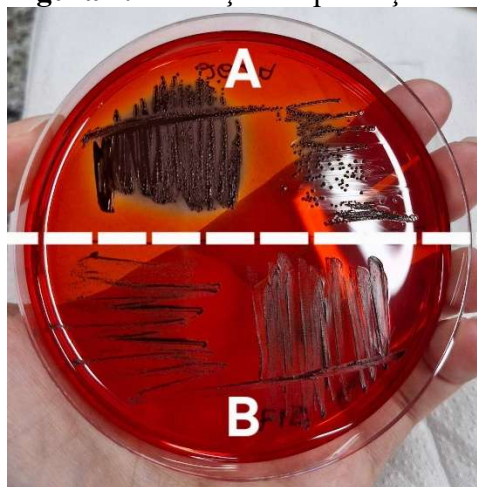
CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo evidenciou que cepas de *Staphylococcus* meticilina-resistentes (MRS) isoladas de equinos em Santa Catarina apresentam capacidade variável de formação de biofilme, característica que aumenta a resistência bacteriana e dificulta o tratamento de diversas infecções. Ressalta-se a importância do monitoramento contínuo e do uso criterioso de antimicrobianos, visto que a utilização indiscriminada favorece a disseminação e manutenção desses microrganismos, representando risco à saúde animal e humana.

Palavras-chave: *Staphylococcus* meticilina-resistentes; biofilme; resistência antimicrobiana.

ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Detecção da produção de biofilme em Ágar Vermelho Congo.



A: Positivo forte, coloração preta intensa (P+)

B: Positivo fraco, coloração preta de menor intensidade (P-)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAZÍLIO, Lucas Emanuel Pereira et al. Detecção de *Staphylococcus* spp. metilina resistente em centro cirúrgico de grandes animais. *Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública*, v. 3, n. 1, p. 88-94, 2016. DOI: 10.4025/revcivet.v3i1.32825.

CUNY, C.; FRIEDRICH, A.; WENZEL, N.; WITTE, W. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. *International Journal of Medical Microbiology*, v. 296, n. 2-3, p. 133-138, 2006.

FERRARI, R. G.; FERNANDES, S. A.; PANDEY, P.; et al. Biofilm: uma visão geral sobre a formação, resistência e controle. *Revista Brasileira de Microbiologia*, v. 52, n. 1, p. 1-17, 2021.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. *The biofilm matrix*. 2. ed. Heidelberg: Springer, 2010.

KOLTER, R.; GREENBERG, E. P. *Microbial biofilms*. Washington: ASM Press, 2006.

MCVEY, S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. *Microbiologia veterinária*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

OLIVO, Giovane. Prevalência de *Staphylococcus* spp. resistente a metilina (MRS) em equinos no ambiente hospitalar e humanos contactantes. 2016. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

PARUSSOLO, Leandro. Detecção de fatores de virulência e determinação do perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* isoladas de queijo artesanal serrano. 2018. 102 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2018.

ROY, R.; TIWARI, M.; DONELLI, G.; TIWARI, V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*, v. 9, n. 1, p. 522-554, 2018.

DADOS CADASTRAIS

BOLSISTA: Mariana Mello Tolentino

MODALIDADE DE BOLSA: PROBIC/UDESC

VIGÊNCIA: fevereiro/2025 a agosto/2025 – Total: 7 meses

ORIENTADOR(A): Sandra Maria Ferraz

CENTRO DE ENSINO: CAV

DEPARTAMENTO: Medicina Veterinária

ÁREAS DE CONHECIMENTO: Ciências Agrárias

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Tipagem molecular e detecção da produção de biofilme de *Staphylococcus* Metilina Resistente isolados de equinos sadios no estado de Santa Catarina, Brasil.

Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA: PVAV144-2024