



ANAIS da IX Semana Científica da UPIS 2026 XXII SIMCIAGRI / VII SIMVET on-line

***Staphylococcus* spp. de Origem Animal: Pesquisa da Produção de Biofilme por Método Fenotípico e a sua Relação com a Suscetibilidade aos Beta-lactâmicos**

Staphylococcus spp. of Animal Origin: Research on Biofilm Production by Phenotypic Method and its Relationship with Susceptibility to Beta-lactams

Carlos Eduardo MENEZES¹, Gabriela SIQUEIRA¹, Gislaine Gomes GONÇALVES²,
Andrea Maria LAZZARI^{3*}.

¹Acadêmicos de Graduação do curso de Medicina Veterinária – UPIS.

²Médica Veterinária.

³Professora e Responsável pelo Laboratório de Diagnóstico de Doenças Bacterianas dos Animais – UPIS. Doutora em Ciência Animal pela UnB – Brasília.

lazzariandreamaria@gmail.com

RESUMO

A presença de biofilme em infecções por *Staphylococcus* spp. compromete a eficácia do tratamento antimicrobiano. Este estudo avaliou 72 isolados clínicos, obtidos de amostras oriundas de *pets* e animais de produção, quanto à produção de biofilme e resistência aos Beta-lactâmicos. Biofilme foi detectado em 9,72% das amostras, sem diferença estatística significativa entre os grupos (*pets* e animais de produção). Na comparação entre biofilme e resistência, observou-se uma maior frequência de sensibilidade aos Beta-lactâmicos na ausência do biofilme.

PALAVRAS-CHAVE: Ágar vermelho congo; fenótipo; oxacilina; resistência bacteriana.

ABSTRACT

The presence of biofilm in *Staphylococcus* spp. infections compromises the effectiveness of antimicrobial therapy. This study evaluated 72 clinical isolates from companion and production animals regarding biofilm formation and resistance to beta-lactam antibiotics. Biofilm was detected in 9.72% of the isolates, with no statistically significant difference between animal groups (companion animals and production animals). A higher frequency of beta-lactam susceptibility was observed among biofilm-negative isolates, highlighting the relevance of biofilm detection for the interpretation of antimicrobial susceptibility profiles.

KEYWORDS: Bacterial resistance; Congo red agar; oxacillin; phenotype.

INTRODUÇÃO

O biofilme bacteriano é uma estrutura organizada composta por células envoltas por matriz extracelular, que aumenta a tolerância antimicrobiana e dificulta o tratamento (1). A



ANAIS da IX Semana Científica da UPIS 2026 XXII SIMCIAGRI / VII SIMVET on-line

relação entre biofilme e tolerância já foi descrita para aminoglicosídeos, macrolídeos, fluoroquinolonas e beta-lactâmicos, devido à menor penetração dos fármacos através da matriz (2,3). Em *Staphylococcus* spp., a resistência à oxacilina, demonstra resistência a todos os beta-lactâmicos, pois indica a presença do gene *mecA* e da PBP2a (4). Clinicamente, esses agentes estão envolvidos em infecções de pele, conduto auditivo, das vias urinárias e glândula mamária, sendo importantes em animais de companhia e de produção (5). Os beta-lactâmicos permanecem entre os antimicrobianos mais utilizados na rotina veterinária, sobretudo em afecções cutâneas e mamárias, reforçando a necessidade de monitorar resistência e investigar a formação de biofilme (6). O objetivo deste estudo foi avaliar a produção de biofilme e a sua relação com a susceptibilidade aos beta-lactâmicos em isolados clínicos de *Staphylococcus* spp. de origem animal (*pets* e animais de produção).

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido no primeiro semestre de 2025, a partir de 72 isolados clínicos de *Staphylococcus* spp. provenientes de diferentes espécies animais (*pets* e animais de produção). Todas as amostras foram obtidas do Laboratório de Diagnóstico de Doenças Bacterianas da UPIS, oriundas de casos clínicos de animais atendidos no Hospital Veterinário da instituição ou amostras externas. Para a avaliação da produção de biofilme, os isolados foram inicialmente semeados em Ágar Sangue 4% (AS) para identificação preliminar, com base no morfo-tintorial e bioquimismo. Posteriormente, foram cultivados em Ágar Vermelho Congo (AVC), técnica baseada na metodologia de Freeman (7), com leitura visual das colônias após 24 e 48 horas de incubação a 37°C. Colônias produtoras de biofilme apresentaram coloração preta com bordas secas e rugosas, enquanto as não produtoras apresentaram coloração vermelha ou vinho. Os resultados foram classificados em graus de produção, segundo a pesquisadora KIM e colaboradores (8): grau 3 (alta positividade), grau 2 (positividade moderada), grau 1 (baixa positividade); grau -1 (negatividade leve), grau -2 (negatividade moderada), e grau -3 (alta negatividade) (Figura 1). Após a classificação quanto à produção de biofilme e ao perfil de suscetibilidade à



ANAIS da IX Semana Científica da UPIS 2026 XXII SIMCIAGRI / VII SIMVET on-line

oxacilina (método de disco difusão), os isolados foram distribuídos de acordo com a origem animal (*pets* ou produção), possibilitando a comparação entre grupos. Para análise estatística, empregou-se o teste log-linear (χ^2 de Máxima Verossimilhança), com o objetivo de verificar possíveis associações entre a produção de biofilme e origem do isolado bacteriano, e a produção de biofilme e suscetibilidade à oxacilina. Adotou-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para todas as análises.

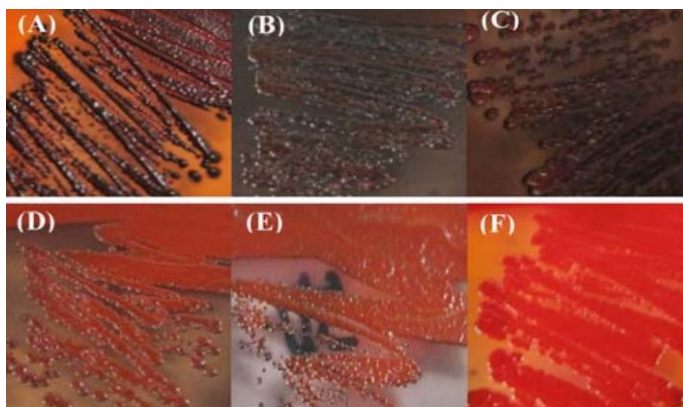


Figura 1 - Padrões morfológicos de produção de biofilme em Ágar Vermelho Congo: (A) grau 3; (B) grau 2; (C) grau 1; (D) grau -1; (E) grau -2; (F) grau -3. Fonte: KIM, Bo-Ram et al. Biofilm formation and cell surface properties of *Staphylococcus aureus* isolates from various sources. *Food Science and Biotechnology*, v. 25, n. 2, p. 643–648, 2016.

RESULTADOS

Das 72 amostras de *Staphylococcus* spp. avaliadas, 7 (9,72%) apresentaram produção de biofilme, enquanto 65 (90,28%) foram classificadas como negativas. Quanto à intensidade de produção, os isolados apresentaram predominância dos graus negativos, com maior frequência do grau -3 ($n = 41$), seguido dos graus -2 ($n = 15$) e -1 ($n = 9$), enquanto os graus positivos 1 ($n = 5$), 2 ($n = 1$) e 3 ($n = 1$) foram menos frequentes. Entre as 68 amostras com registro de espécie animal, 46 (67,65%) foram provenientes de *pets* e 22 (32,35%) de animais de produção. A positividade para biofilme foi observada em 6,52% de isolados de *pets* e 18,18% de isolados de animais de produção (Figura 2). Apesar da diferença biológica, ao aplicar o teste estatístico de log-linear (χ^2 de Máxima



ANAIS da IX Semana Científica da UPIS 2026 XXII SIMCIAGRI / VII SIMVET on-line

Verossimilhança), não foi observada diferença significativa entre a frequência de biofilme positivo em *pets* e animais de produção ($\chi^2 = 2,10$; $p > 0,05$). A alta negatividade (grau -3) foi mais frequentemente observada em isolados de *pets* (38,24%), porém não houve diferença estatística significativa na distribuição dos graus de produção de biofilme entre os grupos animais, conforme análise log-linear. Quanto ao perfil de suscetibilidade à oxacilina, observou-se que, entre os isolados biofilme-positivos, 42,85% foram sensíveis e 57,14%, resistentes. Entre os isolados biofilme-negativos, 76,92% foram sensíveis e 23,07%, resistentes. Foi observada diferença estatística entre a frequência de sensibilidade e resistência à oxacilina de acordo com presença ou ausência de biofilme ($\chi^2 = 3,38$; $p < 0,05$). A presença de biofilme não influenciou a sensibilidade ou resistência à oxacilina. Contudo, quando o biofilme era negativo observou-se uma maior frequência de sensibilidade à oxacilina.

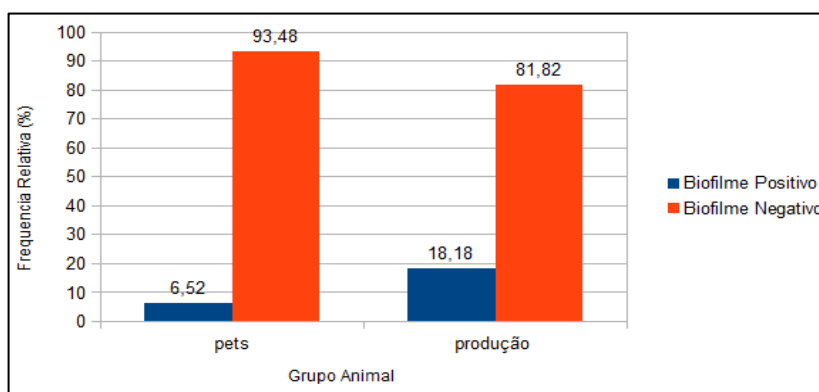


Figura 2 - Frequência Relativa (%) de Biofilme Positivo e Negativo de acordo com o tipo de animal (*pet* ou produção). Fonte: Arquivo pessoal.

DISCUSSÃO

A análise dos 72 isolados de *Staphylococcus* spp. revelou um baixo número de positivos para produção de biofilme (9,72%). Este achado vai ao encontro de trabalhos que



ANAIS da IX Semana Científica da UPIS 2026 XXII SIMCIAGRI / VII SIMVET on-line

apontam que, embora a capacidade de formação de biofilme esteja amplamente disseminada entre membros do gênero *Staphylococcus*, sua expressão depende de múltiplos fatores, como condições ambientais e variações genéticas entre cepas (9). Notavelmente, os isolados oriundos de animais de produção apresentaram proporção numericamente maior de positividade para biofilme do que os de *pets*, entretanto, não houve diferença estatística significativa entre os grupos, conforme demonstrado pela análise log-linear aplicada aos dados. Essa diferença biológica, porém não estatística, pode estar relacionada ao tipo de manejo, pressão seletiva por antimicrobianos e características específicas das espécies hospedeiras (10). Além disso, o predomínio do grau -3 (alta negatividade) em *pets* sugere uma menor prevalência de cepas biofilme-positivas neste grupo animal. Estudos relatam que a presença de biofilme pode atuar como barreira física à penetração de antimicrobianos, contribuindo para resistência terapêutica mesmo em cepas fenotipicamente sensíveis (2). É importante destacar que a detecção fenotípica em Ágar Vermelho Congo apresenta sensibilidade limitada, podendo gerar resultados falso-negativos (3). Métodos moleculares, como a pesquisa dos genes *icaA*, *icaD* e *icaC*, apresentam maior sensibilidade e especificidade para identificar capacidade real de formação de biofilme (11). Assim, a metodologia utilizada pode ter subestimado a verdadeira frequência de biofilme entre os isolados avaliados (12).

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram baixa frequência de produção de biofilme, pelo método fenotípico, em isolados de *Staphylococcus* spp., com distribuição semelhante entre animais de companhia e de produção. Embora tenha sido observada associação estatística, a presença de biofilme não foi determinante para a resistência aos beta-lactâmicos, porém a ausência desse fator de virulência está relacionada a uma maior frequência de sensibilidade a esse grupo de fármacos.



ANAIS da IX Semana Científica da UPIS 2026 XXII SIMCIAGRI / VII SIMVET on-line

REFERÊNCIAS

1. ALMATROUDI, A. Molecular mechanisms of bacterial biofilm resilience: implications for antimicrobial strategies. *Biology*, v. 14, n. 2, p. 165, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology14020165>.
2. CERI, H. et al. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 37, n. 6, p. 1771–1776, 1999.
3. ARCIOLA, C. R. et al. Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections: a review. *Biomaterials*, v. 67, p. 10–26, 2015.
4. KATAYAMA, Y.; ITO, T.; HIRAMATSU, K. A new class of genetic element, SCCmec, responsible for methicillin resistance em *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 44, n. 6, p. 1549–1555, 2000.
5. WEESE, J. S.; VAN DUIJKEREN, E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, v. 140, n. 3-4, p. 418–429, 2010.
6. GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. *Guide to antimicrobial use in animals*. Oxford: Blackwell, 2008.
7. FREEMAN, D. J. et al. A new method for detecting slime production by coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, v. 42, n. 8, p. 872–874, 1989.
8. KIM, B.-R. et al. Biofilm formation and cell surface properties of *Staphylococcus aureus* isolates from various sources. *Food Science and Biotechnology*, v. 25, n. 2, p. 643–648, 2016.
9. OTTO, M. Staphylococcal biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, v. 322, p. 207–228, 2008.
10. KURODA, M. et al. Comprehensive analysis of biofilm-related genes in *Staphylococcus aureus*: evaluation of the ica operon and alternative pathways. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, p. 1–12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.653569>.
11. ARCIOLA, C. R.; CAMPOCCIA, D.; SPEZIALE, P. Biofilm formation in *Staphylococcus* spp.: molecular markers. *Journal of Hospital Infection*, v. 83, n. 3, p. 193–200, 2013.
12. ABDALLAH, M. et al. Methods for studying biofilm formation: a review. *African Journal of Microbiology Research*, v. 8, n. 31, p. 2805–2813, 2014.