

MALDI-TOF MS para triagem de biomarcadores de resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de casos de mastite subclínica em vacas primíparas

Thainara Lopes¹, Marcos Veiga dos Santos², Juliano Leonel Gonçalves³

¹ Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/Universidade de São Paulo; ² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Universidade de São Paulo

thainara.l@usp.br

Objetivos

O presente estudo tem como objetivo detectar biomarcadores de resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* causadores de mastite em vacas primíparas por meio da espectrometria de massa.

Métodos e Procedimentos

Um total de 38 isolados de *S. aureus* oriundos de vacas primíparas de 9 rebanhos, com histórico prévio de mastite subclínica, foram selecionados para cultura, ensaios de genotipagem e MALDI-TOF MS. Do total, 27 foram oriundos de amostras de leite de quartos mamários, 6 de amostras de swab de tetos, 4 de amostras de swab das mãos, e 1 isolado obtido via swab de utensílios. Brevemente, os isolados de *S. aureus* foram reinoculados em TSA, seguido de incubação por 24 h. As análises de MALDI-TOF MS foram realizadas de acordo com o protocolo de extração das proteínas ribossomais em placa. Para a confirmação da espécie *S. aureus* foi realizada a amplificação da região específica do gene *nuc* utilizando a técnica conforme Brakstad et al. (1992). Para detecção dos genes responsáveis pela resistência à metilicina foi realizada PCR-Multiplex seguindo a metodologia descrita por Paterson et al. (2012). CEUA UFRPE (nº 037/2018).

Resultados

Todos os isolados, oriundos da cultura, apresentaram escore > 2.0 pela confirmação via MALDI-TOF MS, o que possibilitou a identificação de *S. aureus* em nível de espécie (Figura 1). Do total de isolados, 38 foram

positivos para a detecção de gene *nuc* (100%), 26 apresentaram detecção de gene *blaZ* (68,4%) e nenhum dos isolados apresentaram detecção para o gene *mecA* nem *mecC*.

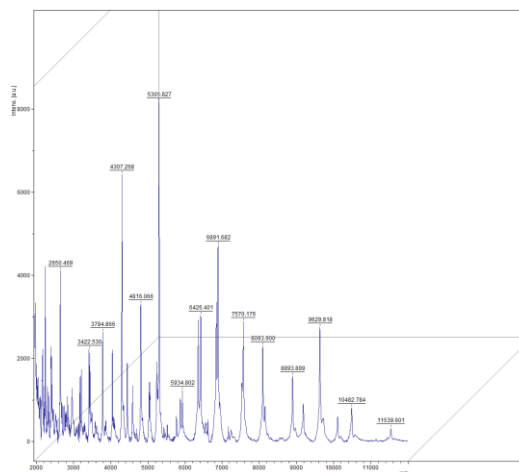


Figura 1: Identificação de *S. aureus* através de MALDI-TOF MS com escore 2,45.

Conclusões

Ao final deste estudo espera-se detectar biomarcadores de resistência antimicrobiana de *S. aureus* causadores de mastite em vacas primíparas por meio da espectrometria de massa. A pesquisa vai auxiliar na avaliação do risco de transmissão deste patógeno e a persistência do mesmo no rebanho.

Referências Bibliográficas

- BRAKSTAD, O. et al., 1992. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1629319/>
- PATERSON, G.K. et al., 2012. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22941897/>

MALDI-TOF mass spectrometry for biomarker screening of antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from primiparous cows with subclinical mastitis

Thainara Lopes¹, Marcos Veiga dos Santos², Juliano Leonel Gonçalves³

¹ Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/Universidade de São Paulo; ² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Universidade de São Paulo

thainara.l@usp.br

Objectives

The present study aimed to detect antimicrobial resistance (AMR) biomarkers associated with *S. aureus* causing mastitis in primiparous cows using MALDI-TOF MS.

Materials and Methods

A total of 38 *S. aureus* isolates from primiparous cows from 9 herds, with a previous history of subclinical mastitis, were selected for microbiological culture, genotyping and MALDI-TOF MS assays. Of the total, 27 came from mammary quarters milk samples; and the rest of the isolates were obtained via swab, 6 from teat skin, 4 from milkers' hands, and 1 from milking equipment. Briefly, *S. aureus* isolates were re-inoculated in TSA, followed by incubation of 24 h. The MALDI-TOF MS analyzes were performed according to the ribosomal protein extraction protocol direct in plate. To confirm the species *S. aureus*, the specific region of the *nuc* gene was amplified using the technique according to Brakstad et al. (1992). PCR-Multiplex was performed to detect the genes responsible for methicillin resistance, following the methodology described by Paterson et al. (2012). CEUA/UFRPE (n°37/2018).

Results

All isolates growth by culture had a score > 2.0, confirmed via MALDI-TOF MS, which enabled the identification of *S. aureus* at the species level (Figure 1). Out of all isolates, 38 were positive for the detection of the *nuc* gene (100%), 26 showed detection of the *blaZ* gene

(68.4%) and none of them showed detection for the *mecA* or *mecC* genes.

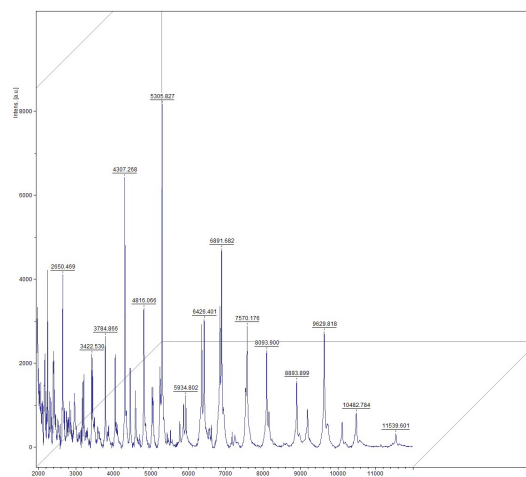


Figure 1: Identification of *S. aureus* using MALDI-TOF MS with score 2.45.

Conclusions

Partial results were obtained and it is expected to detect AMR biomarkers associated with *S. aureus* causing mastitis using MALDI-TOF MS. The research will assist in the evaluation of *S. aureus* transmission risk and its persistence in the herd.

References

- BRAKSTAD, O. et al., 1992. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1629319/>
- PATERSON, G.K. et al., 2012. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22941897/>