

**SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE ESTIRPES DE *Staphylococcus aureus* ISOLADAS DE LEITE DE VACAS COM MASTITE**

Thais Cristina de Assis Oliveira<sup>(1)</sup>, Isabela Fagundes Evangelista<sup>(1)</sup>, Ketina Andréa Müller<sup>(2)</sup>, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva Brito<sup>(3)</sup>, Renata de Freitas Mendes<sup>(1)</sup>, Carla Christine Lange<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil, thais.cris.ld@gmail.com, isabela\_jfnet@hotmail.com, renatamendes@pucminas.cesjf.br;

<sup>(2)</sup>Universidade de Cruz Alta, Cruz Alta, RS, Brasil, ketina.andrea@hotmail.com;

<sup>(3)</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil, maria.brito@embrapa.br, carla.lange@embrapa.br

**Resumo**

O uso de antimicrobianos em animais de produção é alvo de grande preocupação para a saúde pública por causa da potencial seleção de resistência aos antimicrobianos e a potencial transmissão de determinantes de resistência para a microbiota humana. O objetivo do presente estudo foi estabelecer o fenótipo de resistência de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite de vacas com mastite subclínica. A resistência aos antimicrobianos foi avaliada pelo teste de difusão em ágar com discos de antibióticos. Quarenta e dois por cento das estirpes foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados; 39% foram resistentes somente à penicilina e 12% foram resistentes à penicilina e tetraciclina, concomitantemente. Quatro estirpes apresentaram multirresistência e nenhuma estirpe analisada apresentou resistência à meticilina. O percentual de resistência à penicilina encontrado neste estudo foi semelhante ao relatado em outros estudos conduzidos com *S. aureus* de mastite bovina no Brasil.

**Palavras-chave:** resistência; penicilina; tetraciclina

**Introdução**

O uso de antimicrobianos em animais de produção é um assunto de extrema importância e alvo de grande preocupação para a saúde pública por causa da potencial seleção de resistência aos antimicrobianos e a potencial transmissão de determinantes de resistência para a microbiota humana (Wendlandt et al., 2013).

*Staphylococcus aureus* é um agente etiológico de mastite bovina frequentemente isolado dos rebanhos leiteiros brasileiros (Rabello et al., 2005; Santiago-Neto et al., 2014). É um patógeno responsável por toxi-infecções alimentares e comumente encontrado no leite e seus derivados (Spanu et al., 2014;

Jamali et al., 2015). A origem da contaminação dos produtos lácteos com *S. aureus* pode ser o leite do animal com mastite causada pelo patógeno, o ambiente ou os manipuladores. Além do risco de causarem toxi-infecções alimentares, quando os patógenos apresentam resistência aos antimicrobianos, as infecções podem ter o seu tratamento dificultado (CDC, 2017). O objetivo do presente estudo foi estabelecer o fenótipo de resistência de estirpes de *S. aureus* isoladas de leite de vacas com mastite subclínica.

### **Material e Métodos**

O estudo foi conduzido com 134 estirpes de *S. aureus* isoladas de leite de vacas com mastite de rebanhos leiteiros das regiões Sul e Sudeste do Brasil. A resistência aos antimicrobianos foi avaliada pelo teste de difusão em ágar com discos de antibióticos, de acordo com as recomendações do CLSI (2013a). As bactérias foram testadas com os seguintes antimicrobianos (Oxoid, Hampshire, UK): penicilina G (10 UI), ceftiofur (30 µg), cefalotina (30 µg), cefoxitina (30 µg), tetraciclina (30 µg), gentamicina (10 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), sulfonamidas (300 µg) e trimetoprim/sulfametoxazol (25 µg). A estirpe *S. aureus* ATCC 25923 foi utilizada como controle de qualidade do teste.

Foi também determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) das estirpes resistentes à tetraciclina utilizando tiras de Etest® (Biomérieux, Hazelwood, MO, USA), de acordo com as recomendações do fabricante. A estirpe *S. aureus* ATCC 29213 foi utilizada como controle do teste. Os resultados dos testes de susceptibilidade foram comparados com os pontos de corte descritos no documento VET01-S2 (CLSI, 2013b).

### **Resultados e Discussão**

Foi pesquisada a susceptibilidade de 134 estirpes de *S. aureus* a dez antimicrobianos (Tabela 1). Cinquenta e sete estirpes (42,5%) foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados. Cinquenta e duas estirpes (39%) foram resistentes somente à penicilina. Dezesesseis estirpes (12%) foram resistentes à penicilina e tetraciclina, concomitantemente. Quatro estirpes apresentaram



multirresistência, que é a resistência a três ou mais classes de antimicrobianos. Nenhuma estirpe analisada apresentou resistência à metilina (cefotaxima).

Tabela 1. Susceptibilidade aos antimicrobianos de 134 estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite de vacas com mastite das regiões Sul e Sudeste do Brasil

RESISTÊNCIA	Nº ESTIRPES (%)
Nenhuma	57 (42,5%)
Pen	52 (39%)
Pen, Tet	16 (12%)
Pen, Eritro	2 (1,5%)
Tet	2 (1,5%)
Eritro	1 (0,7%)
Pen, Tet, Sulfa	1 (0,7%)
Pen, Clinda, Eritro	1 (0,7%)
Clinda, Eritro, Tet	1 (0,7%)
Pen, Tet, Clinda, Eritro	1 (0,7%)
<b>TOTAL:</b>	<b>134</b>

Pen: penicilina; Tet: tetraciclina; Sulfa: sulfonamidas; Eritro: eritromicina; Clinda: clindamicina.

Foi determinada a CIM (Etest) das 21 estirpes que apresentaram resistência à tetraciclina pelo teste de difusão. Destas, 20 estirpes foram resistentes também pelo Etest e os valores da CIM para tetraciclina variaram de 8 a 24 µg/ml. A estirpe sensível no Etest apresentou uma CIM de 0,125 µg/ml.

Totalizando, 73 estirpes (54,5%) deste estudo foram resistentes à penicilina, percentagem semelhante à reportada por Rabello et al. (2005) e Santiago-Neto et al. (2014) em *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de rebanhos leiteiros dos estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul. Dezesesseis por cento das estirpes desse estudo apresentaram resistência à tetraciclina, percentagem superior à reportada nos estudos de Rabello et al. (2005) e Santiago-Neto et al. (2014).

Dezesesseis estirpes (12%) deste estudo foram resistentes à penicilina e tetraciclina, concomitantemente. Martini et al. (2017) também reportaram resistência concomitante à penicilina e tetraciclina em um grande número de estirpes (88%) de *S. aureus* isoladas de leite de vacas na Zona da Mata de Minas Gerais.

Não foi detectada resistência à metilina nas estirpes de *S. aureus* desse estudo, nem tampouco em um estudo anterior realizado por nosso grupo de pesquisa (Santos et al., 2016). Entretanto, resistência à metilina em *S. aureus*

isolados de mastite bovina foi reportada recentemente no Brasil por Guimarães et al. (2017).

### Conclusões

O fenótipo de resistência apresentado com maior frequência pelas estirpes de *S. aureus* estudadas foi o de resistência à penicilina, e o percentual de resistência à penicilina foi semelhante aos relatados em outros estudos conduzidos com *S. aureus* de mastite bovina no Brasil. Nenhuma estirpe analisada apresentou resistência à meticilina; quatro estirpes apresentaram multirresistência, manifestada pela resistência concomitante a três ou mais classes de antimicrobianos.

### Agradecimentos

À Embrapa e ao CNPq, pelo apoio financeiro (Embrapa 02.13.14.001.00.00 e CNPq 403098/2013-0). Ao CNPq e à Fapemig, pelas bolsas de Iniciação Científica de T.C.A. Oliveira e I.F. Evangelista.

### Referências

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, 2017. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/foodsafety/challenges/antibiotic-resistance.html>>. Acesso em: 17 abril 2017.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals**; Approved Standard, 4th ed. CLSI document VET01–A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013a.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals**; Second Informational Supplement. CLSI document VET01–S2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013b.

GUIMARÃES, F.F.; MANZI, M.P.; JOAQUIM, S.F.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; LANGONI, H. Short communication: Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)-associated mastitis in a closed dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 726–730, 2017.

JAMALI, H.; PAYDAR, M.; RADMEHR, B.; ISMAIL, S.; DADRASNIA, A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. **Food Control**, v. 54, p. 383–388, 2015.

MARTINI, C.L.; LANGE, C.C.; BRITO, M.A.V.P.; RIBEIRO, J.B.; MENDONÇA, L.C.; VAZ, E. K. Characterisation of penicillin and tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milks amples in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Dairy Research**, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022029917000061>

RABELLO, R.F.; SOUZA, C.R.V.M.; DUARTE, R.S.; LOPES, R.M.M.; TEIXEIRA, L.M.; CASTRO, A.C.D. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from bovine mastitis in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 3211-3219, 2005.

SANTIAGO-NETO, W.; MACHADO, G.; PAIM, D.S.; CAMPOS, T.; BRITO, M.A.V.P.; CARDOSO, M.R.I.; CORBELLINI, L.G. Relação da idade na presença de bactérias resistentes a antimicrobianos em rebanhos leiteiros no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 613-620, 2014.

SANTOS, F.F.; MENDONÇA, L.C.; REIS, D.R.L.; GUIMARÃES, A.S.; LANGE, C.C.; RIBEIRO, J.B.; MACHADO, M.A.; BRITO, M.A.V.P. Presence of *mecA*-positive multidrug-resistant *Staphylococcus epidermidis* in bovine Milk samples in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 1374–1382, 2016.

SPANU, V.; SCARANO, C.; COSSU, F.; PALA, C.; SPANU, C.; DE SANTIS, E.P.L. Antibiotic resistance traits and molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* isolated from raw sheep milk cheese. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 10, p. M2066-M2071, 2014.

WENDLANDT, S.; FESSLER, A.T.; MONECKE, S.; EHRLICH, R.; SCHWARZ, S.; KADLEC, K. The diversity of antimicrobial resistance genes among staphylococci of animal origin. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, p. 338–349, 2013.