

PERFIS DE RESISTÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA CADEIA EPIDEMIOLÓGICA DA MASTITE BOVINA

Luiz Francisco Zafalon¹ *, Juliana Rodrigues Pozzi Arcaro², Antônio Nader Filho³, Luciano Menezes Ferreira⁴, Livia Castelani⁵, Fabiane Benvenuto⁵

¹ Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luís, Km 234, Caixa Postal 339, São Carlos, SP, Pesquisador, zafalon@cppse.embrapa.br

² Instituto de Zootecnia - Nova Odessa, SP; ³ Unesp/FCAV/Câmpus de Jaboticabal - Jaboticabal, SP; ⁴ Instituto Aequitas - Araraquara, SP; ⁵ Instituto de Zootecnia / Bolsistas Fundap - Nova Odessa, SP.

Introdução

A sensibilidade de *S. aureus* aos diferentes antibióticos usados no tratamento das doenças animais é de grande importância ao médico veterinário, pois fornece subsídios à terapia animal, bem como a todos os animais do rebanho submetidos às mesmas condições de manejo e, portanto, sob os mesmos riscos de infecção. O aumento da prevalência de *S. aureus* multi-resistentes causadores de mastite bovina é grave, com a redução da efetividade de antimicrobianos e o aumento da morbidade e dos custos para combater a doença. *S. aureus* é importante patógeno, responsável por casos de doenças de origem alimentar por meio da ingestão de toxinas, o que constitui um problema de saúde pública (SABOUR et al., 2004; FAGUNDES E OLIVEIRA, 2004).

Objetivou-se estudar a resistência de *S. aureus* isolados dos óstios dos tetos e do leite de vacas em lactação, além das teteiras dos conjuntos de ordenha, a fim de caracterizá-los e analisar o antibiograma como um teste discriminatório para estes microrganismos.

Material e Métodos

Estudou-se vacas lactantes do rebanho do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, São Paulo. A ordenha era mecânica e realizada duas vezes ao dia. As vacas eram das raças holandesa e pardo-suíça, submetidas ao *California Mastitis Test* (CMT) para o diagnóstico de mastite subclínica, de agosto de 2005 a dezembro de 2006. Investigou-se, também, animais com o quadro clínico de mastite. A mediana de vacas em lactação foi 52, mínimo de 40 e máximo de 66 animais em lactação. As amostras de leite foram colhidas de acordo com Harmon et al. (1990) e levadas imediatamente ao laboratório para isolamento e identificação bacterianos, localizado na mesma propriedade onde foram obtidas. Imediatamente após a anti-sepsia efetuada antes da ordenha, colheu-se amostras dos óstios papilares de animais positivos ao CMT, com o auxílio de suabe estéril. Suabes estéreis também foram utilizados na porção final de cada um dos insufladores dos conjuntos de ordenha, antes e durante as ordenhas. Os suabes oriundos de óstios e teteiras foram transportados individualizados em tubos com água peptonada estéril. O leite foi semeado em placas de Petri com ágar sangue de ovino a 5%, com auxílio de alça de platina, enquanto as amostras dos óstios e insufladores foram semeadas com os próprios suabes utilizados nas colheitas. Todas as placas foram incubadas por 18 a 24 horas, a 37°C. As colônias foram submetidas aos testes diagnósticos, de acordo com procedimentos preconizados por Holmberg (1973) e Holt et al. (1993) e submetidas a testes de sensibilidade *in vitro* (BAUER et al., 1966). A aferição dos halos de inibição formados em torno dos princípios ativos foi realizada segundo o preconizado pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2005). A capacidade discriminatória da prova foi determinada segundo

Hunter e Gaston (1988), pelo cálculo do índice numérico de discriminação “D”, baseado na probabilidade de duas amostras não relacionadas e tomadas de uma mesma população, estarem classificadas em diferentes grupos de tipagem, dado pela seguinte equação:

$$D = 1 - 1/N(N-1) \sum_{j=1}^S n_j(n_j-1)$$

Onde “N” é o número total de amostras na população, “S” é o número total de tipos descritos e “n_j” é o número de amostras pertencente a cada tipo.

Resultados e discussão

Na Tabela 1 encontra-se a classificação de sensibilidade/resistência aos princípios ativos, de acordo com a origem dos isolados de *S. aureus*.

Tabela 1 – Resultados do antibiograma (em %) de princípios ativos testados contra *S. aureus* oriundos de leite, óstios e insufladores.

	Sensibilidade			Perfil intermediário			Resistência		
	L ²	O ³	I ⁴	L	O	I	L	O	I
Princípios ativos									
Sulfazotrim (147; 56; 27) ¹	97,3	91,1	88,9	0,0	1,8	3,7	2,7	7,1	7,4
Cloranfenicol (145; 56; 27)	95,2	92,8	88,9	4,1	1,8	7,4	0,7	5,4	3,7
Oxacilina (145; 56; 27)	96,6	67,9	55,6	0,0	0,0	3,7	3,4	32,1	40,7
Gentamicina (146; 56; 27)	91,8	83,9	85,2	2,0	3,6	3,7	6,2	12,5	11,1
Tetraciclina (146; 55; 27)	91,8	80,0	81,5	6,8	1,8	0,0	1,4	18,2	18,5
Rifampicina (146; 55; 27)	84,9	67,3	59,3	12,3	12,7	14,8	2,7	20,0	25,9
Cefepime (145; 56; 27)	77,2	60,7	63,0	16,6	16,1	3,7	6,2	23,2	33,3
Clindamicina (147; 56; 27)	69,4	53,6	33,4	25,8	21,4	25,9	4,8	25,0	40,7
Ciprofloxacina (145; 56; 27)	65,5	71,4	70,4	28,3	23,2	29,6	6,2	5,4	0,0
Eritromicina (147; 55; 27)	38,8	36,4	33,3	60,5	52,7	55,6	0,7	10,9	11,1
Penicilina (147; 56; 27)	36,7	17,9	7,4	0,0	0,0	0,0	63,3	82,1	92,6

¹ Número de amostras testadas para leite, óstios e insufladores, respectivamente; ² Amostras oriundas do leite; ³ Amostras oriundas de óstios; ⁴ Amostras oriundas de insufladores.

O amplo uso de penicilinas na medicina veterinária pode favorecer o desenvolvimento de resistência e explicar a maior prevalência de amostras resistentes a este princípio ativo. Observou-se ocorrências de uma mesma amostra de *S. aureus* resistentes a mais de um princípio ativo, que é um motivo de preocupação por trazer dificuldades ao tratamento dos animais. O isolamento de *S. aureus* resistentes a diferentes grupos de antibióticos para o combate à mastite pode estar condicionado, entre outros fatores, ao mau uso de produtos por aplicação de subdosagens ou por um período insuficiente de tratamento. Associados às normas higiênicas mal conduzidas de manejo de ordenha, pode-se favorecer a existência de portadores de *S. aureus* resistentes e facilitar a transmissão entre animais em um mesmo ambiente, inclusive por mãos do ordenhador e de utensílios ligados à ordenha (ARAÚJO, 1998).

Vinte e um padrões de resistência foram identificados para *S. aureus* isolados no leite de quartos com mastite (dados não tabelados). A capacidade da técnica do antibiograma em distinguir as amostras de *S. aureus* oriundas do leite de vacas com mastite foi igual a 65,5%, superior à encontrada por Ferreira et al. (2006), mas inferior à obtida por Lange et al. (1999). A capacidade discriminatória do antibiograma para as amostras de óstios foi de 84,5%, enquanto a obtida para os microrganismos isolados de insufladores foi de 93,2%. Os isolados provenientes dos óstios e insufladores apresentaram maior amplitude de resistência aos antimicrobianos, quando comparados

aos oriundos do leite, o que não significa, necessariamente, que os microrganismos responsáveis pela mastite bovina não apresentem um maior número de padrões de resistência. Há a possibilidade, nos casos de isolamentos feitos a partir do leite, dos microrganismos não terem sido isolados por se encontrarem no interior de fagócitos.

Ao mesmo tempo das colheitas efetuadas cujos os resultados estão apresentados, pesquisou-se *S. aureus* na água usada para a higienização das teteiras e lavagem dos tetos, onde não houve isolamentos. Apesar de não ser estudada a presença destes microrganismos nas mãos dos funcionários durante a ordenha, estes poderiam carrear as bactérias aos insufladores e óstios, no momento em que as teteiras eram manuseadas antes da ordenha ou mesmo durante o manuseio dos tetos durante a lavagem com água, imediatamente antes da ordenha.

Conclusão

A escolha do medicamento a ser utilizado no tratamento da mastite bovina por *S. aureus* deve ser feita após o conhecimento do seu perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos, o que ajudaria na tomada de decisões e poderia impedir o aparecimento de estirpes resistentes. O perfil de resistência à penicilina foi predominante, o que demonstra a possibilidade de ineficácia deste princípio ativo no tratamento da doença. O isolamento de estirpes resistentes à oxacilina ilustra os possíveis riscos de transmissão destes microrganismos pelo leite.

Agradecimentos

Agradecimentos: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Processo 05/53856-3.

Referências Bibliográficas

- Araújo WP. Fagotipagem de cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos, isoladas de leite. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 35 (4): 161-165, 1998.
- Bauer AW, Kirby WMM, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496, 1966.
- Fagundes, H, Oliveira, CAF. Infecções intramamárias causadas por *S. aureus* e suas implicações em saúde pública. Cien Rural 34 (4): 1315-1320, 2004.
- Ferreira LM et al. Variabilidade fenotípica e genotípica de estirpes de *S. aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. Cien. Rural 36 (4): 1228-1234, 2006.
- Harmon RJ et al. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection. Arlington: National Mastitis Council; 1990.
- Holmberg O. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. Acta Vet. Scand. 45: 1-144, 1973.
- Holt JG et al. *Gram-positive cocci*. In: Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology. 9th ed. Baltimore: Ed. Williams e Wilkins; 1994. p. 544-551.
- Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. J. Clin. Microbiol. 26 (11): 2465-2466, 1988.
- Lange C et al. Molecular subtyping of *S. aureus* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. Vet. Microbiol. 67: 127-141, 1999.
- NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 15th Informational Supplement 2005, 25 (1): 177p.
- Sabour PM et al. Molecular typing and distribution of *S. aureus* isolates in Eastern Canadian Dairy Herds. J. Clin. Microbiol. 42 (8): 3449–3455, 2004.