

SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *S. CHROMOGENES* E *S. HYICUS* ISOLADOS DE LEITE DE BÚFALAS COM MASTITE

Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus*, *S. chromogenes* and *S. hyicus* isolated from buffalo's mastitic milk

Carla Christine Lange¹
Monalisa Azevedo da Silva³
Selda Loase Salustiano Marques³
Isabel Vieira de Assis Lima⁴
Marcos Aurélio Souto e Silva²
Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito¹
José Renaldi Feitosa Brito⁵

RESUMO

O perfil de susceptibilidade a treze antimicrobianos foi investigado em 80 isolados do gênero *Staphylococcus* (33 *S. aureus*, 46 *S. chromogenes* e 1 *S. hyicus*) de leite de búfalas da Região do Alto São Francisco, Minas Gerais, em 2003. Os testes de susceptibilidade foram realizados pelo método de difusão em ágar. Todos os isolados foram sensíveis à cefalotina, cefotaxima, gentamicina, neomicina, oxacilina e trimetoprim x sulfametoxazol. A resistência aos outros sete antimicrobianos testados (ampicilina, penicilina, estreptomicina, norfloxacin, enrofloxacin, tetraciclina e sulfonamidas) variou entre as bactérias, sendo mais freqüente em *S. aureus*. O único isolado de *S. hyicus* foi sensível a todos os antimicrobianos testados. Entre os isolados de *S. aureus*, 54% foram resistentes à sulfonamida, 51% resistentes à estreptomicina e 42% resistentes a ampicilina e penicilina. Para os demais antimicrobianos testados, a sensibilidade foi $\geq 85\%$. Entre os isolados de *S. chromogenes*, o fenótipo de resistência mais comum foi para sulfonamida, encontrado em 85% das amostras testadas. Para os outros antimicrobianos, encontrou-se sensibilidade $\geq 90\%$. De acordo com os resultados *in vitro*, os antibióticos beta-lactâmicos das classes das penicilinas semi-sintéticas e cefalosporinas são a melhor opção para tratamento de mastite causada por essas espécies de bactérias em bubalinos. A maior sensibilidade das amostras de *S. chromogenes* aos antibióticos testados sugere que esta bactéria está menos sujeita à pressão seletiva dos antibióticos.

1 INTRODUÇÃO

Os bubalinos apresentam problemas sanitários semelhantes aos bovinos e, entre as doenças, a mastite é a que mais afeta a rentabilidade das fazendas leiteiras (MORONI et al., 2006). Na mastite bovina, as perdas não estão ligadas somente ao produtor. Há uma marcada redução em quantidade e mudanças na composição do leite, causando problemas no processamento, redução do rendimento industrial e produtos lácteos com baixa qualidade e estabilidade (HAYES E BOOR, 2001). Redução na produção de leite e no conteúdo de lactose foi encontrada em bubalinos com elevada contagem de células somáticas (CÉRON-MUÑOZ et al., 2002)

1 Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG.

2 Assistente de Pesquisa, Embrapa Gado de Leite.

3 Estudante do Curso de Biologia do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora (CES-JF).

4 Estudante do Curso de Farmácia Bioquímica da UFJF.

5 Assessor do Pólo de Excelência do Leite/SECTES (Secretaria Estadual de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior).

Órgão financiador: Fapemig (CVZ 1816/06) e Embrapa.

O emprego dos antimicrobianos no tratamento e prevenção das infecções da glândula mamária é parte importante dos programas de controle da mastite. Para que a terapia com antimicrobianos tenha bons resultados, o agente causador da infecção deve ser susceptível à droga utilizada (ERSKINE et al., 2003). Como os diferentes microrganismos podem apresentar diferentes perfis de resistência aos antimicrobianos, mesmo em se tratando de espécies pertencentes a um mesmo gênero, como é o caso de espécies do gênero *Staphylococcus*, a correta identificação do microrganismo e a investigação do seu perfil de resistência são procedimentos essenciais para se estabelecer estratégias para o controle da mastite.

Tendo em vista que foram identificadas três espécies de *Staphylococcus* no leite de bubalinos, e pela escassez de informações a respeito dos padrões de susceptibilidade de patógenos isolados desta espécie animal, esse trabalho visou identificar o perfil de susceptibilidade desses isolados aos antimicrobianos disponíveis para tratamento da mastite.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Isolados bacterianos

O trabalho experimental foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Leite da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. Um total de 80 isolados de *S. aureus*, *S. chromogenes* e *S. hyicus* foram utilizados no estudo. As bactérias foram isoladas de oito propriedades produtoras de leite de búfalas localizadas na Região do Alto São Francisco/MG em estudo anterior (CARVALHO et al., 2007). Amostras de leite de cada quarto mamário dos animais foram coletadas assepticamente, congeladas e encaminhadas ao laboratório para a cultura, dentro de uma semana após a coleta. Volumes de 10 microlitros de leite foram inoculados em placas de ágar sangue, seguindo-se incubação por 48 horas a 37°C. O isolamento e identificação dos agentes seguiram as recomendações de National Mastitis Council (NMC) (2004).

2.2 Teste de susceptibilidade a antimicrobianos

Foi avaliada a susceptibilidade a 13 antimicrobianos pela técnica de difusão em ágar com discos de antibióticos, de acordo com as recomendações do NCCLS (2002). Os antimicrobianos utilizados foram: ampicilina (10 mcg), cefalotina (30 mcg), cefotaxima (30 mcg), estreptomicina (10 mcg), gentamicina (10 mcg), neomicina (30 mcg), enrofloxacin (5 mcg), norfloxacin (10 mcg), oxacilina (1 mcg), penicilina G (10 UI), sulfametoxazol com trimetoprim (23,75/1,25 mcg), sulfonamidas (300 mcg) e tetraciclina (30 mcg). As cepas-padrão utilizadas como controles foram *Escherichia coli* ATCC®25922, *Staphylococcus aureus* ATCC®25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os 80 isolados foram susceptíveis à oxacilina, gentamicina, cefalotina, cefotaxima, neomicina e sulfametoxazol x trimetoprim. Um maior número de isolados de *S. aureus* apresentou resistência a um maior número de antimicrobianos, quando comparado com os isolados de *S. chromogenes*, com exceção da resistência à sulfonamida, que foi superior entre estes últimos (Tabelas 1 e 2). O único isolado de *S. hyicus* foi sensível a todos os antimicrobianos testados.

O fenótipo de resistência mais comum entre os isolados de *S. aureus* foi a resistência concomitante à ampicilina e penicilina (n = 7), seguido pela resistência à estreptomicina e sulfonamida (n = 6). Entre os isolados de *S. chromogenes*, o fenótipo de resistência mais comum foi a resistência isolada à sulfonamida (n = 33).

Em geral os percentuais de susceptibilidade aos antimicrobianos deste estudo foram superiores aos encontrados em outros estudos que envolveram *Staphylococcus* de mastite bubalina no Brasil e na Índia (LANGONI et al., 2001; KUMAR e SHARMA, 2002). Entretanto, a comparação entre os estudos fica prejudicada porque em alguns casos não foi feita a identificação das espécies. Possivelmente, a maior sensibilidade a antimicrobianos observada pode estar relacionada ao menor uso de antimicrobianos nos rebanhos amostrados. Essa observação é uma suposição, considerando o tipo de produção encontrada na região, isto é, extensiva tradicional, com o mínimo de tecnificação.

A susceptibilidade dos isolados de *S. aureus* à penicilina, ampicilina e tetraciclina deste estudo foi semelhante à encontrada em dois estudos anteriores realizados com isolados de mastite bovina no Rio Grande

do Sul e em Minas Gerais (LANGE et al., 1998; BRITO et al., 2001), entretanto diferiu bastante do estudo realizado por NADER FILHO et al. (2007) em rebanhos leiteiros bovinos do Estado de São Paulo, que relatou percentagens de susceptibilidade de apenas 4,2 e 2,8 %, respectivamente para ampicilina e penicilina. A susceptibilidade dos isolados de *S. aureus* à estreptomicina foi inferior neste estudo, quando comparado com os estudos citados acima.

Tabela 1 – Susceptibilidade a antimicrobianos de *S. aureus* e *S. chromogenes* isolados de mastite bubalina na Região do Alto São Francisco, Minas Gerais.

Antibiótico	<i>S. aureus</i> (n = 33)		<i>S. chromogenes</i> (n = 46)	
	n	%	n	%
Ampicilina	19	58	43	94
Penicilina	19	58	43	94
Estreptomicina	16	49	42	91
Norfloxacina	28	85	45	98
Enrofloxacina	30	91	46	100
Sulfonamida	15	46	7	15
Tetraciclina	30	91	46	100
Oxacilina	33	100	46	100
Gentamicina	33	100	46	100
Cefalotina	33	100	46	100
Cefotaxima	33	100	46	100
Neomicina	33	100	46	100
Sulfametoxazol + Trimetoprim	33	100	46	100

Tabela 2 – Fenótipo de resistência a antimicrobianos de *S. aureus* e *S. chromogenes* isolados de mastite bubalina na região do Alto São Francisco, Minas Gerais.

Fenótipo de resistência ^a	<i>S. aureus</i>	<i>S. chromogenes</i>	Total
S	3	33	36
ES	6	2	8
AP	7		7
APES	3	1	4
APS	1	2	3
E	3		3
NorEnST	2		2
ENorS	1	1	2
APE	2		2
APENor	1		1
ENor	1		1
EnS	1		1
ST	1		1
Total	32	39	71

^aA = ampicilina, P = penicilina, E = estreptomicina, S = sulfonamida, Nor = norfloxacina, En = enrofloxacina, T = tetraciclina.

4 CONCLUSÕES

Os isolados de *S. chromogenes* foram mais susceptíveis aos antimicrobianos do que os *S. aureus*, com exceção da susceptibilidade às sulfonamidas, que foi inferior à encontrada em *S. aureus*. Os isolados de *S. aureus* apresentaram um perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos semelhante ao encontrado em outros estudos com rebanhos bovinos. Considerando o padrão de susceptibilidade encontrado, observa-se que a melhor opção para tratamento de mastite bubalina causada por bactérias do gênero *Staphylococcus* são os antibióticos beta-lactâmicos da classe das penicilinas semi-sintéticas e cefalosporinas. A maior susceptibilidade

de *S. chromogenes* aos antibióticos testados sugere que esta bactéria está menos sujeita à pressão seletiva dos antibióticos. Esse achado está de acordo com o papel secundário destas bactérias na etiologia da mastite.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pelo apoio financeiro (CVZ 1816/06) e bolsa de iniciação científica para Monalisa Azevedo da Silva. À Embrapa, pela bolsa concedida a Selda Loase Salustiano Marques. José Renaldi Feitosa Brito é bolsista da FAPEMIG (Convênio 10132/07).

SUMMARY

The antimicrobial susceptibility pattern of thirteen antimicrobial agents was investigated in 80 *Staphylococcus* (33 *S. aureus*, 46 *S. chromogenes* e 1 *S. hyicus*) isolates, recovered from buffalo's milk from Alto São Francisco Region, Minas Gerais State, Brazil. All *Staphylococcus* isolates showed sensitivity to oxacillin, gentamicin, cephalothin, cefotaxime, neomycin and trimethoprim-sulfamethoxazole. Resistance to ampicillin, penicillin, streptomycin, norfloxacin, enrofloxacin, tetracycline and sulfonamides varied among the isolates, being higher in *S. aureus*. The *S. hyicus* isolate was sensitive to all drugs tested. The most prevalent resistance phenotypes in *S. aureus* isolates were to sulfonamide (54%), streptomycin (51%), ampicillin (42%) and penicillin (42%). The rate of resistance to the other antimicrobials tested was low ($\leq 15\%$). In *S. chromogenes* the resistance phenotype found more frequently was to sulfonamide (85% of the isolates). Most of the strains were susceptible to the others antimicrobials tested ($\geq 90\%$). According to our *in vitro* results, semi-synthetic penicillin and cephalosporin would be the drugs of choice to treat intramammary infections caused by these species in buffaloes. The higher susceptibility found in *S. chromogenes* isolates to the antimicrobials tested suggests that the isolates were under less selective pressure to antimicrobial drugs.

Index terms: *Staphylococcus aureus*; *S. chromogenes*; *S. hyicus*; milk; buffaloes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; SILVA, M.A.S.; CARMO, R.A. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.531-537, 2001.
- CARVALHO, L.B.; AMARAL, F.R.; BRITO, M.A.V.P.; LANGE, C.C.; BRITO, J.R.F.; LEITE, R.C. Contagem de células somáticas e isolamento de agentes causadores de mastite em búfalas (*Bubalus bubalis*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.242-245, 2007.
- CÉRON-MUÑOZ, M.; TONHATI, H.; DUARTE, J.; OLIVEIRA, J.; MUÑOZ-BERROCAL, M.; JURADO-GÁMEZ, H. Factors affecting somatic cell counts and their relationship with milk and milk constituent yield in buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2885-2889, 2002.
- ERSKINE, R.J.; WAGNER, S.A.; DEGRAVES, F.J. Mastitis therapy and pharmacology. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.19, n.1, p.109-138, 2003.
- HAYES, M.C.; BOOR, K. Raw milk and fluid milk products. In: MARTH, E.H.; STEELE, J.L. **Applied Dairy Microbiology**. 2.ed. New York, Dekker, 2001. p.59-76.
- KUMAR, R.; SHARMA, A. Prevalence, etiology and antibiogram of mastitis in cows and buffaloes in Hisar, Haryana. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.72, n.5, p.361-363, 2002.
- LANGE, C.; CARDOSO, M.; PIANA, C. Suscetibilidade a antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina na Grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Brasil). **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.26, n.1, p.71-81, 1998.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; MOLERO FILHO, J.R.; BALDINI, S. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em búfalos (*Bubalus bubalis*). **Ars Veterinaria**, v.17, n.3, p.213-217, 2001.
- MORONI, P.; SGOIFO ROSSI, C.; PISONI, G.; BRONZO, V.; CASTIGLIONI, B.; BOETTCHER, P.J. Relationships between somatic cell count and intramammary infection in buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.998-1003, 2006.

NADER FILHO, A.; FERREIRA, L.M.; AMARAL, L.A.; ROSSI JUNIOR, O.D.; OLIVEIRA, R.P. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.1, p.1-4, 2007.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**; approved standard. 2. ed. Wayne: NCCLS, 2002. 86 p. Document M31-A2.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality**. 4.ed. Verona: National Mastitis Council. 2004. 47p.

Anais do
26º Congresso Nacional de Laticínios
Instituto de Laticínios Cândido Tostes

13 a 16 de julho de 2009 - Expominas - Juiz de Fora - MG

ISBN 978-85-99764-11-4

Todos os direitos são reservados à EPAMIG.

