

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DOS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NO AMBIENTE DE ORDENHA SOB DIFERENTES CONDIÇÕES CLIMÁTICAS*

Luiz Francisco Zafalon¹, Juliana Rodrigues Pozzi Arcaro², Antônio Nader Filho³,
Josir Laine Aparecida Veschi⁴.

¹Pesquisador Embrapa Pecuária Sudeste, ²Pesquisadora Instituto de Zootecnia, ³Prof. FCAV/Unesp, ⁴Pesquisadora Embrapa Semiárido. e-mail: zafalon@cppse.embrapa.br

*Processo Fapesp nº 05/53856-3

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus estão entre os principais agentes etiológicos da mastite em vacas leiteiras. As infecções originadas de outras fontes, além da glândula mamária, como a ordenhadeira, o ar e a pele do animal contribuem para a manutenção da doença no rebanho (ZADOKS et al., 2002). O relato dos perfis de resistência dos *S. aureus* aos antimicrobianos é de interesse em estudos epidemiológicos de infecções hospitalares em humanos (ARAÚJO, 1998) e, na mastite bovina, o conhecimento dos padrões de resistência pode ajudar no desenvolvimento de métodos preventivos de controle e no tratamento (SABOUR et al., 2004). O controle da mastite causada por *S. aureus* deve considerar a distribuição do agente no rebanho, nos quartos mamários infectados e no ambiente da ordenha, além da influência de fatores intervenientes na tríade epidemiológica da doença. Períodos com maiores índices de chuvas, por exemplo, podem contribuir com a maior dispersão dos microrganismos, o que pode aumentar a ocorrência da mastite e, conseqüentemente, prejudicar a qualidade do leite nas propriedades rurais, com a elevação do número de células somáticas (FERREIRA et al., 2006). O objetivo desse trabalho foi investigar os perfis de resistência a antimicrobianos dos *S. aureus* isolados em casos de mastite bovina, em óstios de animais doentes e nos insufladores dos conjuntos de ordenha em dois diferentes períodos, classificados de acordo com a ocorrência de chuvas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais faziam parte de rebanho experimental de vacas holandesas e pardo-suíças, pertencente ao Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, São Paulo, com ordenha mecânica realizada duas vezes ao dia. Mensalmente, durante 16 meses, foram identificados os casos clínicos e subclínicos de mastite e os resultados foram classificados de acordo com os índices de chuvas na região (CIIAGRO, 2006) em: “estação seca”, com índice pluviométrico máximo de 56,2 mm e médio de 27,9 mm, no espaço de tempo compreendido entre o dia da colheita de amostras do mês anterior e um dia antes da respectiva colheita; e “estação chuvosa”, quando os índices pluviométricos máximos foram de 76,3 mm a 193,8 mm, com média de 113,6 mm. As amostras de leite foram colhidas de acordo com os procedimentos recomendados por HARMON et al. (1990) e, após a antissepsia dos tetos foram colhidas amostras dos óstios papilares das vacas com mastite com o auxílio de suabe estéril, com a realização de movimentos circulares sobre o mesmo. Suabes estéreis foram friccionados em movimentos circulares na porção final dos insufladores em todos os conjuntos da ordenhadeira, durante e após as ordenhas matinais. O isolamento e a identificação dos *S. aureus* provenientes das amostras de leite foram feitos após semeaduras em placas de Petri com ágar sangue ovino a 5%, com auxílio de alça de platina, enquanto as amostras oriundas dos óstios papilares e dos insufladores foram semeadas diretamente com os suabes. Após prévia incubação por 24 horas a 37°C, identificou-se os microrganismos de acordo com HOLT

et al. (1994). Os antibiogramas foram realizados a partir da técnica de difusão, com a utilização de discos com princípios ativos representados pelo cefepime (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), oxacilina (1 µg), penicilina (10 UI), rifampicina (5 µg), sulfazotrim (25 µg), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg). A aferição dos halos de inibição em torno dos discos com os princípios ativos foi realizada de acordo com o *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os perfis de resistência dos *S. aureus* isolados no leite, em óstios dos tetos e nos insufladores dos conjuntos de ordenha, sob diferentes índices pluviométricos, estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1- Padrões de resistência aos princípios ativos antimicrobianos de estirpes de *Staphylococcus aureus* isolados em diferentes fontes no ambiente de ordenha e distintas condições climáticas.

Padrões de resistência	Leite		Óstios		Insufladores	
	Chuva n / %	Seca n / %	Chuva n / %	Seca n / %	Chuva n / %	Seca n / %
Um princípio ativo	43/53,1	30/46,9	7/26,9	15/48,4	2/12,5	5/45,4
Dois princípios ativos	14/17,3	2/3,1	3/11,5	3/9,7	4/25,0	1/9,1
Três ou mais princípios ativos	6/7,4	1/1,6	15/57,7	6/19,3	10/62,5	3/27,3
Sensibilidade a todos os princípios	18/22,2	31/48,4	1/3,8	7/22,6	0/0	2/18,2
Total	81/100	64/100	26/100	31/100	16/100	11/100

Quando apresentada resistência antimicrobiana por parte dos isolados, houve um maior número de microrganismos resistentes a apenas um princípio ativo, em ambos os períodos, exceto para óstios (57,7%) e insufladores (62,5%) no período chuvoso, em que os *S. aureus* apresentaram maiores percentuais de resistência a três ou mais princípios ativos. Quando considerados os períodos de acordo com a quantidade de chuvas, percentuais mais altos de sensibilidade a todos os princípios ativos foram encontrados para todas as origens estudadas no período com menos chuvas (48,4%, 22,6%, 18,2% para leite, óstios e insufladores, respectivamente), quando comparado ao período mais chuvoso (22,2%, 3,8% e nenhum para leite, óstios e insufladores, respectivamente). Por outro lado, durante o período chuvoso, maiores percentuais de resistência a dois ou mais princípios ativos ocorreram no leite, óstios e insufladores (7,4%, 57,7% e 62,5%, respectivamente). Em óstios (57,7% e 19,3%) e insufladores (62,5% e 27,3%) foram encontrados percentuais mais elevados de resistência a três ou mais antimicrobianos, quando se comparou com a resistência apresentada pelos isolados do leite de vacas com mastite (7,4% e 1,6%). Um maior número de padrões de resistência foi encontrado em períodos chuvosos e sugere-se a possibilidade de mutação ou maior dispersão no ambiente de estirpes de outras fontes de contaminação. Como verificado nesse trabalho, parece existir uma maior frequência de isolamentos dos *S. aureus* em períodos com maiores índices de chuva, pela dificuldade em manter condições higiênicas adequadas e pelas condições de umidade e temperatura favoráveis

à sobrevivência e/ou proliferação dos microrganismos (FERREIRA et al., 2006). Além dos dados tabelados, padrões de resistência comuns às três fontes foram encontrados, dentre eles o de resistência à penicilina em 48,3% dos isolados oriundos do leite, 36,8% dos originados de óstios e 25,9% de insufladores. Esse perfil pode ter sido encontrado em maior número em isolados do leite devido ao uso das penicilinas em animais, o que pode ter favorecido o desenvolvimento de resistência antimicrobiana. Apenas dois padrões de resistência foram comuns aos isolados do leite e de óstios e três aos isolados do leite e insufladores, enquanto sete foram comuns a óstios e insufladores. *S. aureus* de carreadores saudáveis podem não ser representativos quando o propósito é comparar a ocorrência de microrganismos. Assim, *S. aureus* oriundos de óstios de quartos mamários sadios, como alguns do presente trabalho, podem não ter relação com microrganismos isolados no leite de quartos mamários com mastite. Além disso, outras condições fisiológicas inflamatórias da glândula mamária podem influenciar no isolamento dos microrganismos. *

CONCLUSÃO

A ocorrência de *S. aureus* com resistência a mais de um princípio ativo no ambiente de ordenha é preocupante, o que pode trazer dificuldades no tratamento de animais contra a mastite. Sugere-se, principalmente em períodos mais chuvosos, que medidas de controle sejam preconizadas contra a transmissão da mastite por fômites e fontes de contaminação, como os insufladores e óstios papilares, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, W.P. Fagotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos de leite. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.35, n.4, p.161-165, 1998.
- CIAGRO. Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, Disponível em: <<http://ciiagro.iac.sp.gov.br/ciiagroonline/>. Acesso em 2006.
- FERREIRA, L.M.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, E.; ZAFALON, L.F.; SOUZA, V. Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. Ciência Rural, v.36, n.4, p.1228-1234, 2006.
- HARMON, R.J.; EBERHART, R.J.; JASPER, D.E.; LANGLOIS, B.E.; WILSON, R.A. *Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection*. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34p.
- HOLT, J. G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. Gram-positive cocci. In: BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY. 9. ed. Baltimore: Williams e Wilkins, p. 544-551, 1994.
- NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 15^o Informational Supplement, v.25, n.1, 2005. 177p.
- SABOUR, P.M.; GILL, J.J.; LEPP, D.; PACAN, J.C.; AHMED, R.; DINGWELL, R.; LESLIE, K. Molecular typing and distribution of *Staphylococcus aureus* isolates in eastern Canadian dairy herds. Journal of Clinical Microbiology, v.42, n.8, p.3449-3455, 2004.
- ZADOKS, R.N.; VAN LEEUWEN, W.B.; KREFT, D.; FOX, L.K.; BARKEMA, H.W.; SCHUKKEN, Y.H.; VAN BELKUM, A. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine and human skin, milking equipment, and bovine milk by phage typing, pulsed-field gel electrophoresis, and binary typing. Journal of Clinical Microbiology, v.40, n.11, p.3894-3902, 2002.