

# MONITORAMENTO DE SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLADOS EM VACAS DE DIFERENTES LACTAÇÕES\*

Luiz Francisco Zafalon<sup>1</sup>, Juliana Rodrigues Pozzi Arcaro<sup>2</sup>, Antônio Nader Filho<sup>3</sup>, Josir Laine Aparecida Veschi<sup>4</sup>.

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

\*Processo Fapesp nº 05/53856-3

## INTRODUÇÃO

O número de lactações dos animais na linha de ordenha pode estar relacionado com alterações inflamatórias no leite bovino, como a elevação da contagem de células somáticas (CCS), concomitante à presença de infecção da glândula mamária (LAEVENS et al., 1997). Dentre as causas infecciosas de mastite, os *Staphylococcus aureus* são considerados os principais agentes etiológicos, relacionados predominantemente com casos subclínicos com elevada CCS (SALASIA et al., 2004; KIVARIA et al., 2007). Um dos fatores considerados para o controle da mastite bovina é a resistência dos agentes etiológicos infecciosos aos antimicrobianos utilizados para o tratamento da doença. O conhecimento dos perfis de resistência de estirpes de *S. aureus* torna-se necessário para estudos epidemiológicos de casos de infecção hospitalar em humanos (ARAÚJO, 1998) e, na medicina veterinária, a sua importância é justificada pelo uso indiscriminado de medicamentos que pode levar ao aparecimento de resistência aos antimicrobianos, com interferência negativa sobre o tratamento contra a doença devido ao crescente número de estirpes resistentes aos princípios ativos disponíveis no mercado.

O objetivo desse trabalho foi verificar a relação do número de lactações dos animais com os padrões de suscetibilidade bacteriana dos *S. aureus* isolados no leite de vacas com mastite e em óstios de tetos de animais doentes.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os resultados observados foram originados de vacas em lactação de um rebanho experimental localizado em Nova Odessa, São Paulo, ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia. Mensalmente, por um período de 16 meses, foram identificados os casos clínicos e subclínicos de mastite. Os animais foram classificados em três grupos, de acordo com o número de lactações: "Lac1", com vacas na primeira lactação; "Lac 2", com animais entre a segunda e a quarta lactações; e "Lac3", com vacas de mais de quatro lactações (ZAFALON et al., 2005).

As amostras de leite foram colhidas de acordo com os procedimentos recomendados por HARMON et al. (1990) e as amostras dos óstios papilares das vacas com mastite foram colhidas com o auxílio de suabe estéril, com a realização de movimentos circulares sobre o mesmo, após a antisepsia dos tetos. O isolamento e a identificação dos *S. aureus* provenientes das amostras de leite foram realizados após as sementeiras do leite em placas de Petri com ágar sangue ovino a 5%, com auxílio de alça de platina, enquanto as amostras oriundas dos óstios papilares foram sementeiras diretamente com os suabes. As placas foram incubadas por até 24 horas, a 37°C e as colônias identificadas de acordo com as suas características bioquímicas (HOLT et al., 1994). As estirpes isoladas foram submetidas aos testes de sensibilidade *in vitro* a partir da técnica de difusão em disco em placas de ágar Müller-Hinton, frente a 12 princípios

ativos representados pela gentamicina (10 µg), penicilina (10 UI), oxacilina (1 µg), tetraciclina (30 µg), cefepime (30 µg), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 µg), sulfazotrim (25 µg), vancomicina (30 µg), clindamicina (2 µg), ciprofloxacina (5 µg) e rifampicina (5 µg). A aferição dos halos de inibição em torno dos princípios ativos foi realizada de acordo com o *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2005). Utilizou-se o teste exato de Fisher para calcular a probabilidade de associação entre os padrões mais comuns de resistência e o número de lactações (SAMPAIO, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão distribuídos os perfis de resistência aos antimicrobianos de *S. aureus* isolados no leite e nos óstios dos tetos, de animais em diferentes lactações.

TABELA 1- Padrões de resistência “in vitro” a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados em leite e em óstios de tetos em diferentes lactações.

Padrões de resistência	Lac 1		Lac 2		Lac 3	
	Leite n / %	Óstios n / %	Leite n / %	Óstios n / %	Leite n / %	Óstios n / %
Apenas à penicilina	16/43,2	6/40,0	39/47,0	7/24,1	15/60,0	6/75,0
Dois a quatro princípios <sup>1</sup>	8/21,6	3/20,0	8/9,6	9/31,0	1/4,0	0/0,0
Multirresistência <sup>2</sup>	1/2,7	3/20,0	3/3,6	8/27,6	1/4,0	0/0,0
Outros <sup>3</sup>	0/0,0	0/0,0	3/3,6	2/6,9	1/4,0	0/0,0
Sensibilidade ampla <sup>4</sup>	12/32,4	3/20,0	30/36,1	3/10,3	7/28,0	2/25,0
Total	37/100	15/100	83/100	29/100	25/100	8/100

<sup>1</sup> Resistência a dois ou até quatro princípios ativos, entre eles a penicilina; <sup>2</sup> Resistência a no mínimo cinco princípios ativos; <sup>3</sup> Resistência a um ou dois princípios ativos diferentes da penicilina; <sup>4</sup> Sensibilidade a todos os princípios ativos testados.

Em microrganismos isolados no leite de vacas com mastite, observou-se em Lac3 um maior percentual de estirpes resistentes à penicilina (60%), assim como para os *S. aureus* isolados nos óstios (75%). Os *S. aureus* obtidos a partir de óstios com sensibilidade a todos os antimicrobianos apresentaram-se em percentual inferior quando comparados com os isolados do leite em todos os grupos (20,0% contra 32,4%; 10,3% contra 36,1%; e 25,0% contra 28,0%, em Lac1, Lac2 e Lac3, respectivamente). Concomitantemente, percentuais mais altos de isolados multirresistentes foram encontrados em óstios de tetos, quando comparados aos isolados do leite de vacas com mastite, exceto em Lac3, porém nenhuma das diferenças foram significativas ( $P \geq 0,05$ ).

O uso inadequado de antibióticos para o tratamento da mastite favorece a pressão seletiva em cepas multirresistentes (VIANNI E LÁZARO, 2003). Em nossos achados, constitui-se motivo de preocupação a ocorrência de *S. aureus* com resistência a mais de um princípio ativo, o que pode dificultar na escolha de um princípio ativo antimicrobiano para o tratamento contra a mastite, quando necessário. Ressalta-se, entretanto, que os percentuais aqui relatados, quando somados os animais independentemente do número de lactações, foram inferiores aos de Nader Filho et al. (2006), que variaram de 85,3% a 100,0%.

## CONCLUSÃO

Antes do tratamento contra a mastite, deve ser conferida atenção especial a vacas com um número mais elevado de lactações, uma vez que o uso indiscriminado de medicamentos durante a vida produtiva do animal pode tornar a cura desses animais

mais difícil de ser alcançada, ainda mais pela crescente exposição a microrganismos contagiosos representados, principalmente, pelos *S. aureus*.

## 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.
- 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.
- KIVARIA, F.M.; NOORDHUIZEN, J.P.T.M.; NIELEN, M. Interpretation of California mastitis test scores using *Staphylococcus aureus* culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. Preventive Veterinary Medicine, v.78, p.274-85, 2007.
- LAEVENS, H.; DELUYKER, H.; SCHUKKEN, Y.H.; DE MEULEMEESTER, L.; VANDERMEERSCH, R.; DE MUELENAERE, L.; DE KRUIF, A. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. Journal of Dairy Science, v.80, p.3219-26, 1997.
- NADER FILHO, A.; FERREIRA, L.M.; AMARAL, L.A.; et al. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE LEITE, 9., 2006, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre, 2006. 1 CD. p.311-315.
- NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 15<sup>o</sup> Informational Supplement, v.25, n.1, 2005. 177p.
- SALASIA, S.I.O.; KHUSNAN, Z.; LAMMLER, C.; ZSCHOCK, M. Comparative studies on pheno- and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Java in Indonesia and Hesse in Germany. Journal of Veterinary Science, v.5, p.103-9, 2004.
- SAMPAIO, I.B.M. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- VIANNI, M.C.E.; LÁZARO, N.S. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativos, isoladas de mastite subclínica bubalina. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.23, n.2, p.47-51, 2003.
- ZAFALON, L.F.; NADER FILHO, A.; AMARAL, L.A.; OLIVEIRA, J.V.; RESENDE, F.D. Alterações da composição e da produção de leite oriundo de quartos mamários de vacas com e sem mastite subclínica de acordo com o estágio e o número de lactações. Arquivos do Instituto Biológico, v.72, n.4, p.419-426, 2005.