

039 - PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *STAPHYLOCOCCUS* SPP. RESISTENTES A OXACILINA ISOLADOS DE LEITE BOVINO¹**ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILE OF *STAPHYLOCOCCUS* SPP. OXACILLIN RESISTANT ISOLATED FROM BOVINE MILK**Fernanda Fernandes dos Santos²Letícia Caldas Mendonça³Alessandro de Sá Guimarães⁴João Batista Ribeiro⁴Carla Christine Lange⁴Marcos Aurélio Souto e Silva⁵Bianca Larcher Oliveira⁶Rafaela Soares de Mendonça⁶Marco Antonio Machado⁴Maria Aparecida Vasconcelos Paiva Brito^{4*}

Introdução: Entre os principais patógenos causadores de mastite bovina estão as bactérias do gênero *Staphylococcus*. Nas últimas décadas, a resistência aos antimicrobianos neste gênero tem sido motivo de preocupação, pela possibilidade de redução da efetividade dos tratamentos de casos clínicos e da terapia da vaca seca. Entre os antimicrobianos, a resistência a oxacilina (meticilina) tem recebido atenção especial, por ser também um problema para a saúde pública. A resistência a oxacilina é mediada pela proteína PBP-2a, codificada pelo gene *mecA*, que confere resistência a todos antibióticos beta-lactâmicos, inclusive cefalosporinas e carbapenemas. O gene *mecA* faz parte de uma ilha genômica de resistência chamada *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec), que pode incluir também outros genes de resistência. Esse trabalho teve como objetivo verificar a presença do gene *mecA* em amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de leite bovino, determinar a concentração inibitória mínima (CIM) a oxacilina e a multirresistência das amostras *mecA* positivas (resistência a três ou mais classes de antimicrobianos).

Material e Métodos: Foram estudadas 181 amostras de *Staphylococcus* spp. fenotipicamente resistentes à oxacilina pelo teste de difusão em ágar, provenientes dos Estados de Minas Gerais (04), Paraná (27), São Paulo (76), Santa Catarina (60), Rio Grande do Sul (11) e Pernambuco (03). As bactérias foram isoladas de amostras de leite coletadas assepticamente e identificadas de acordo com National Mastitis Council (1). Para detecção do gene *mecA* foi empregada a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), com a amplificação de um produto de 533 pb (2). A determinação da CIM para bactérias *mecA* positivas foi feita pelo método da diluição da oxacilina em ágar Mueller-Hinton, de acordo com CLSI (3), avaliando-se concentrações de 0,0625 a 2 µg mL⁻¹. O perfil da susceptibilidade antimicrobiana das amostras *mecA* positivas foi determinado pelo método de disco difusão para: ampicilina 10 µg, penicilina 10 unidades, oxacilina 1 µg, cefalotina 30 µg, ceftiofur 30 µg, gentamicina 10

¹ Auxílio Pesquisa CNPq (P578430/2008-8) e CAPES (Bolsa de pós-graduação CAPES/REUNI)

² Mestranda em Ciências Biológicas, Área de Genética e Biotecnologia - ICB - UFJF, MG.

³ Analista. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Gado de Leite, Laboratório de Microbiologia do Leite. Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco 36038-330 - Juiz de Fora - MG.

⁴ Pesquisador. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Gado de Leite, Laboratório de Microbiologia do Leite. Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco 36038-330 - Juiz de Fora - MG * Autor para correspondência: maria.brito@embrapa.br; Tel: 32-3311-7452.

⁵ Assistente de Laboratório. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Gado de Leite, Laboratório de Microbiologia do Leite.

⁶ Bolsista de Iniciação Científica CNPq

SP 6102 P. 201
2013
SP-PP-6102SP 6102
P. 201

µg, clindamicina 2 µg, eritromicina 15 µg, enrofloxacina 5 µg, sulfonamida 300 µg, sulfametoxazol-trimetoprima 25 µg e tetraciclina 30 µg (Oxoid).

Resultados e Discussão: Das 181 bactérias isoladas, 10 (5,5%) foram positivas para o gene *mecA*, apresentando produto de amplificação, sendo duas de MG, quatro do PR e quatro de SC. Os isolados *mecA* positivos foram identificados como *Staphylococcus coagulase* negativos por meio de testes bioquímicos (1). A CIM para oxacilina foi de 0,5 µgml⁻¹ para todas as bactérias *mecA* positivas, indicando a resistência. O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos é apresentado na Tabela 1. Das dez amostras *mecA* positivas, cinco apresentaram multirresistência.

Tabela 1: Resultado do antibiograma das amostras (n=10) de *Staphylococcus coagulase* negativos resistentes a oxacilina e portadores do gene *mecA*.

| Antibióticos | Sensível | Intermediário | Resistente |
|-----------------------------|-----------|---------------|------------|
| Ampicilina | 1 (10%) | — | 9 (90%) |
| Penicilina | 1 (10%) | — | 9 (90%) |
| Oxacilina | — | — | 10 (100%) |
| Cefalotina | 10 (100%) | — | — |
| Ceftiofur | 8 (80%) | 2 (20%) | — |
| Gentamicina | 8 (80%) | 2 (20%) | — |
| Clindamicina | 10 (100%) | — | — |
| Eritromicina | 6 (60%) | 4 (40%) | — |
| Enrofloxacina | 10 (100%) | — | — |
| Sulfonamida | 4 (40%) | 2 (20%) | 4 (40%) |
| Sulfametaxazol+Trimetropina | 9 (90%) | — | 1 (10%) |
| Tetraciclina | 1 (10%) | — | 9 (90%) |

Conclusões: Os resultados mostraram que houve divergência entre a detecção da resistência a oxacilina *in vitro* pelo método de disco difusão e a presença do gene *mecA* pela técnica de PCR. Por essa razão, é recomendada a pesquisa do gene *mecA* quando se detecta a resistência fenotípica à oxacilina. Considerando a importância da disseminação de espécies resistentes, ressalta-se a necessidade de monitorar os perfis genotípicos e fenotípicos de resistência a antimicrobianos na prática veterinária. Os estudos estão sendo continuados para caracterização molecular das bactérias resistentes.

Agradecimentos: Embrapa, CAPES e CNPq Processo 578430/2008-8.

Referências :

1. NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. 4. ed. Verona: NMC, 2004. 47 p.
2. MURAKAMI, K., et al. Identification of methicilin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, v. 29, n. 10, p. 2240-2244, 1991.
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard – Third Edition. CLSI document M31-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.

Veterinária e Zootecnia

**Suplemento: Anais do V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL
10 a 12 de Junho de 2013.**

**Vet e Zootec.
2013 junho; 20(2 Supl 1): 001-460
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
ISSN Impresso 0102 -5716
ISSN Eletrônico 2178-3764
Botucatu - SP – Brasil**

Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102 -5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

VETERINÁRIA E ZOOTECCIA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
UNESP – Campus de Botucatu
18618-970 – Dist. Rubião Jr. – Botucatu – SP – Brasil
Portal: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>
E-mail: vetzootecnia@fmvz.unesp.br
Tel. 55 14 3880 2094

Publicação trimestral
Solicita-se permuta / *Exchange desired*
Biblioteca do Campus de Botucatu
18618-970 – Dist. Rubião Júnior – Botucatu – SP - Brasil

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Veterinária e Zootecnia / Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. – Vol. 1, n. 1(1985)- . – Botucatu, SP : FMVZ, 1985

Trimestral
Texto em português/inglês/espanhol
Descrição baseada em: Vol. 20, n.1, mar. (2013)
ISSN Impresso 0102 -5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

1. Medicina veterinária. 2. Zootecnia. I. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia de Botucatu.

Os artigos publicados na *Revista VETERINÁRIA E ZOOTECCIA* são indexados por:
Lilacs, PERIÓDICA – Índice de Revistas Latinoamericanas em Ciências, Cambridge
Scientific Abstracts, e CAB Abstracts.