

## SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE ESTIRPES DE *Staphylococcus aureus* ISOLADAS NO LEITE DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA

### SUSCEPTIBILITY ANTIMICROBIAL DRUGS OF *Staphylococcus aureus* STRAINS ISOLATED FROM BOVINE SUBCLINICAL MASTITIS

Flavio Augusto Fogaça Junior<sup>1</sup>; Viviane de Souza<sup>2</sup>; Antonio Nader Filho<sup>1</sup>; Sandra de Oliveira Conde<sup>1</sup>; Poliana de Castro Melo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP

<sup>2</sup> Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE

Palavras-chave: mastite, *Staphylococcus aureus*, antimicrobianos

#### Introdução

A mastite bovina é a principal doença do gado leiteiro em todo o mundo, devido aos prejuízos econômicos que acarreta aos produtores e à perda da qualidade do leite. Dentre os agentes da mastite, *Staphylococcus aureus* é o mais frequentemente isolado e constitui importante problema de saúde pública (BRAMLEY et al., 1996).

O êxito na terapia das mastites vem sendo prejudicado pelo crescente número de estirpes resistentes aos antimicrobianos utilizados indiscriminadamente. Sendo assim, é recomendado que os padrões de sensibilidade antimicrobiana dos patógenos isolados nos casos de mastite sejam determinados, com o intuito de utilizar a droga ideal e específica para cada caso. Diante do exposto, idealizou-se o presente trabalho com o objetivo de conhecer a sensibilidade *in vitro* das estirpes de *S. aureus* isoladas do leite das fêmeas lactantes reagentes ao *California Mastitis Test* (CMT), frente aos antimicrobianos testados.

#### Material e Métodos

Durante o período de Janeiro a Abril de 2009 um total de 222 vacas lactantes, pertencentes a 12 propriedades rurais situadas em Sacramento-MG, foi submetido à prova do *California Mastitis Test* (CMT). Foram colhidas 101 amostras de leite dos quartos reagentes ao CMT, de acordo com os procedimentos recomendados pelo *National Mastitis Council*, em tubos de ensaio esterilizados.

As amostras foram transportadas em caixa de material isotérmico contendo gelo e levadas ao Laboratório de Análises Microbiológicas de Alimentos de Origem Animal e Água, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV, Unesp – Câmpus de Jaboticabal – SP, para isolamento, identificação fenotípica e genotípica e teste de sensibilidade antimicrobiana.

Todas as amostras obtidas foram semeadas em Ágar Baird-Parker e incubadas a 37 °C por 48 horas. Para a identificação bioquímica as colônias que revelassem a presença de cocos G<sup>+</sup> em esfregaços corados pelo método de Gram foram submetidas às provas de catalase, da coagulase livre e de produção de acetoina (VP) (Mac FADDIN, 1976).

Para a extração do DNA bacteriano foi utilizado o Kit Invitek - Uniscience®, que contém o protocolo de extração de DNA para bactérias Gram positivas. Posteriormente, a confirmação molecular dos isolados de *S. aureus*, para a identificação da espécie, foi feita a partir da amplificação de fragmentos de DNA cromossômico específico do *S. aureus* de acordo com o protocolo descrito por Martineau et al. (1998).

As estirpes de *S. aureus* foram submetidas aos testes de sensibilidade *in vitro* a partir da técnica de difusão em disco (BAUER et al., 1966) frente a 12 antimicrobianos 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).

## Resultados e Discussão

Das 101 amostras de leite colhidas das fêmeas reagentes ao CMT, foram isoladas e identificadas 31 estirpes de estafilococos coagulase-positivos. O fragmento de DNA cromossômico específico da espécie de *S. aureus* foi amplificado nas 31 estirpes de estafilococos coagulase-positivos.

Os resultados obtidos por meio do teste de sensibilidade antimicrobiana *in vitro*, revelaram que a maior resistência ocorreu frente à penicilina (93,5%), oxacilina (90,3%) e a vancomicina (87,1%). Houve a ocorrência de 21 estirpes multi-resistentes (resistentes a seis ou mais antimicrobianos – princípio ativo). Observou-se ainda que, duas estirpes isoladas das amostras de uma mesma propriedade, foram resistentes a todos os antimicrobianos testados.

Ferreira (2006) estudou a variabilidade fenotípica e genotípica de 77 estirpes de *S. aureus* isoladas de casos de mastite subclínica bovina. As estirpes foram submetidas à técnica de PCR e ao antibiograma. Os resultados obtidos revelaram diferentes padrões de resistência, sendo que antimicrobiano lincomicina foi predominante (24,7%).

Nader filho et al. (2007), observaram que das 39 amostras positivas para *S. aureus* pesquisadas, nove (23,1%) apresentaram multi-resistência, variando de três a oito antimicrobianos, fator que pode acarretar dificuldade no tratamento dos animais doentes e, conseqüentemente, agravar as perdas econômicas decorrentes dessa enfermidade, pois muitos dos antibióticos disponíveis no mercado não teriam efeito sobre tais microrganismos.

## Conclusão

Os resultados obtidos ressaltam a importância da avaliação da sensibilidade antimicrobiana *in vitro* para estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos de mastite bovina antes da indicação do tratamento para os animais, de modo a impedir o aparecimento de estirpes resistentes e de resíduos desses antimicrobianos no leite.

## Agradecimentos

À **FAPESP** pelo auxílio financeiro disponibilizado durante o experimento.

## Referências Bibliográficas

- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; TRUCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal Clinical Pathology**, Hagerstown, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.
- BRAMLEY, A.J. et al. **Current concepts of bovine mastitis**. 4.ed. Madison: National Mastitis Council, 1996. 64p.
- FERREIRA, L. M. et al. Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1228-1234, 2006.
- Mac FADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: The Williams & Wilkins, 1976. 312 p.
- MARTINEAU, F. et al. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, n. 3, p. 618-623, 1998.
- NADER FILHO, A. et al. 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.

Autor a ser contactado: Flavio Augusto Fogaça Junior  
Endereço: Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n  
Jaboticabal-SP/ Brasil. CEP: 14.884-900.  
E-mail: flavio\_afj@hotmail.com