

## Perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* de linhagens de *Staphylococcus* spp. isoladas de vacas com mastite subclínica<sup>1</sup>

Elizabeth S. Medeiros<sup>2</sup>, Rinaldo A. Mota<sup>3\*</sup>, Marcos V. Santos<sup>4</sup>, Manuela F.L. Freitas<sup>5</sup>, José W. Pinheiro Júnior<sup>2</sup> e José Andreey A. Teles<sup>6</sup>

**ABSTRACT.-** Medeiros E.S., Mota R.A., Santos M.V., Freitas M.F.L. Pinheiro Jr J.W. & Teles J.A. A. 2009. [*In vitro* antimicrobial sensitivity to *Staphylococcus* spp. isolates from dairy cows with subclinical mastitis.] Sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* spp. isoladas do leite de vacas com mastite subclínica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(7):569-574. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 51171-900, Brazil. E-mail: [rinaldo.mota@hotmail.com](mailto:rinaldo.mota@hotmail.com)

The objective of the investigation was to evaluate the *in vitro* antimicrobial sensibility of 291 isolates of *Staphylococcus* spp., taken from the mammary glands of dairy cows with subclinical mastitis in the regions of Metropolitan Recife (A), Agreste (B) and Zona da Mata (C) in the state of Pernambuco, Brazil. From the 291 isolates, 170 (58.4%) were identified as negative coagulase *Staphylococcus* (SCN), 84 (28.9%) as *Staphylococcus aureus*, and 37 (12.7%) as positive coagulase *Staphylococcus* (SCP). To study sensitivity to antimicrobials, the diffusion in disks method was used with 16 antimicrobial drugs commonly employed in the treatment of mastitis. The most efficient antibiotic *in vitro* was the combination of neomicine + bacitracine + tetracycline with percentages of 98.4%, 99.3%, and 89.7% for the A, B, and C regions, respectively. The least efficient was ampicillin, which was resistant to 56.5% of the isolates taken from region A, 72.8% from region B, and 71.8% from region C. These results indicate the need for periodic testing of sensitivity *in vitro*, as these variations can compromise the treatment of animals as well as control programs for bovine mastitis caused by *Staphylococcus* spp.

INDEX TERMS: Milk, mastitis, antimicrobial sensitivity, *Staphylococcus* spp.

**RESUMO.-** Objetivou-se com este estudo avaliar a sensibilidade antimicrobiana “*in vitro*” de 291 isolados de *Staphylococcus* spp. recuperados de amostras de leite de

vacas com mastite subclínica, em 15 propriedades rurais localizadas na Região Metropolitana do Recife (A), Agreste (B) e Zona da Mata (C) do estado de Pernambuco. Dos 291 isolados, 170(58,4%) foram classificados como *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN), 84(28,9%) como *Staphylococcus aureus* e 37(12,7%) como *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP). Para o estudo do perfil de sensibilidade a antimicrobianos empregou-se a técnica de difusão em discos, foram avaliadas 16 drogas antimicrobianas utilizadas no tratamento das mastites. O antibiótico que apresentou melhor eficácia *in vitro* foi a associação entre neomicina + bacitracina + tetraciclina com percentuais de 98,4%, 99,3%, 89,7% para as regiões A, B e C, respectivamente. O antibiótico menos eficaz foi a ampicilina que apresentou 56,5% de resistência para as amostras da região A, 72,8% para a região B e 71,8% na região C. Os resultados obtidos mostram a necessidade

<sup>1</sup> Recebido em 30 de julho de 2008.

Aceito para publicação em 17 de março de 2009.

Parte da Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária do primeiro autor.

<sup>2</sup> Depto Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 51171-900, Brasil. E-mail: [sampaio.elizabeth@gmail.com](mailto:sampaio.elizabeth@gmail.com)

<sup>3</sup> Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE, Dois Irmãos, Recife, PE. \*Autor para correspondência: [rinaldo.mota@hotmail.com](mailto:rinaldo.mota@hotmail.com)

<sup>4</sup> Departamento de Nutrição e Produção Animal (USP), Campus Pirassununga, Av. Duque de Caxias, Pirassununga, SP 58700-970, Brasil.

<sup>5</sup> Departamento de Anatomia, Faculdade Maurício de Nassau, Rua Guilherme Pinto 114, Graças, Recife, PE 52011-210.

<sup>6</sup> Médico Veterinário Residente do Laboratório de Bacterioses dos Animais Domésticos da UFRPE, Dois Irmãos, Recife, PE.

da realização periódica de testes de sensibilidade *in vitro*, pois existem variações no perfil de sensibilidade e resistência que podem comprometer o tratamento do animal bem como os programas de controle da mastite bovina causada pelo *Staphylococcus* spp.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Leite, mastite, sensibilidade antimicrobiana, *Staphylococcus* spp.

## INTRODUÇÃO

A mastite bovina continua sendo um grande problema para a indústria leiteira, apesar das inúmeras pesquisas voltadas para o controle desta enfermidade (Freitas et al. 2005). Esta enfermidade da glândula mamária pode ser causada por inúmeros microrganismos, destacando-se *Staphylococcus aureus* que é o patógeno contagioso mais frequentemente isolado do leite mastítico (Langoni et al. 1998, Zschock et al. 2000, Pinheiro de Sá et al. 2004). *S. aureus* é mundialmente reconhecido como causador de várias doenças purulentas (Bean & Griffin 1990), sendo também uma das mais importantes causas de intoxicação alimentar (Omoe et al. 2002).

A mastite causa severas perdas econômicas decorrentes da redução da produção láctea (Costa et al. 2000), perda da qualidade do leite (Reis et al. 2003) e pode ser considerada como sério problema para saúde pública (Tyler et al. 1992, Cardoso et al. 1999). Os programas voltados para o controle das mastites objetivam diminuir a prevalência da doença a níveis aceitáveis, uma vez que sua erradicação não é possível (Silva et al. 1998). Além das medidas higiênicas indicadas durante a ordenha para reduzir os índices de infecção da glândula mamária, a utilização de antibióticos é uma medida importante no controle das infecções intramamárias, além de eliminar prováveis fontes de infecção (Erskine et al. 1993).

Algumas características de virulência do *S. aureus* contribuem para a persistência desta bactéria no tecido mamário (Santos et al. 2003) e o uso inadequado de antibióticos no tratamento da doença pode gerar o aparecimento de cepas resistentes e comprometer a eficiência do tratamento (Barberio et al. 2002). De acordo com Brito et al. (2001), diversos estudos sobre a sensibilidade antimicrobiana realizados no Brasil com patógenos envolvidos na mastite bovina demonstram um aumento crescente no padrão de resistência, principalmente para *S. aureus*.

Tendo em vista a importância do tratamento das mastites como medida de controle da doença e considerando as possíveis variações regionais quanto ao perfil de sensibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus* spp., objetivou-se com este estudo avaliar a sensibilidade dos isolados dos *Staphylococcus* spp. no estado de Pernambuco frente aos antibióticos e quimioterápicos mais utilizados no tratamento das mastites.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 291 amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de leite bovino procedentes de 15 propriedades de

exploração leiteira situadas em 2 municípios da Região Metropolitana do Recife (A), 8 do Agreste (B) e 3 da Zona da Mata (C) do Estado de Pernambuco. Os rebanhos eram constituídos de animais de várias raças, idades e se encontravam em diferentes estágios de lactação, criados em sistema intensivo e semi-intensivo. O sistema de ordenha era mecânico e/ou manual.

As amostras de leite foram coletadas após prévia lavagem do teto com água e sabão, secagem com papel toalha e antiseptia do óstio do teto com álcool a 70%GL. Coletaram-se 5mL de leite, em frascos com tampa rosqueável, esterilizados e previamente identificados com o nome ou número do animal e quarto mamário, sendo devidamente enviadas, em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, ao Laboratório de Doenças Infecto-Contagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

No laboratório, as amostras de leite foram semeadas em ágar base enriquecido com 5% de sangue ovino desfibrinado e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, realizando-se leituras após 24 e 48h, sendo observadas as características morfológicas das colônias como tamanho, tipo, coloração e presença de hemólise. Ao microscópio foram observadas, disposição das células e características morfotintórias ao Teste de Gram (Carter 1988).

Para a identificação dos isolados de *Staphylococcus* spp. foram realizadas provas bioquímicas como produção de coagulase livre, DNase e catalase, segundo Silva et al. (1997). As provas de produção de acetoina, fermentação da glicose (anaerobiose) e do manitol (aerobiose e anaerobiose) foram realizadas de acordo com MacFaddin (1980).

Após a realização dos testes, os isolados foram classificados em *Staphylococcus aureus*, quando positivo em todos os testes, *Staphylococcus* coagulase positivo (SCP), quando positivo para a produção da coagulase, fermentação da glicose em anaerobiose e catalase, mas negativa em algum dos outros testes. Em *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) quando a bactéria não coagulava o plasma de coelho, apresentava características de estafilococos na técnica de coloração de Gram, fermentava a glicose em anaerobiose e produzia a catalase (Baird-Parker 1990).

Os testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* dos isolados foram realizados utilizando-se a técnica de difusão em ágar Mueller Hinton segundo Bauer et al. (1966). Utilizaram-se os seguintes discos impregnados de antibióticos: amoxicilina (10mcg), ampicilina (10mcg), azitromicina (15mcg), cefquinome (30mcg), cephalonium (30mcg), ciprofloxacina (5mcg), cloxacilina (25mcg), danofloxacina (10mcg), enrofloxacina (5mcg), eritromicina (15mcg), florfenicol (30mcg), gentamicina (10mcg), penicilina + novobiocina (10mcg), sulfa (25mcg) + trimetoprim (5mcg), tobramicina (10mcg) e tetraciclina (30mcg) + neomicina (30mcg) + bacitracina (10mcg).

A análise estatística foi do tipo descritiva, calculando-se as frequências absoluta e relativa (Sampaio 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados 291 isolados de *Staphylococcus* spp. recuperados de leite de vacas com mastite subclínica pertencentes à Região Metropolitana do Recife (A), Agreste (B) e Zona da Mata do estado de Pernambuco (C). Dos 291 isolados, 170 (58,4%) foram classificados como SCN, 37 (12,7%) como SCP e 84 (28,9%) como *Staphylococ-*

**Quadro 1. Distribuição dos *Staphylococcus* spp. isolados de casos de mastite subclínica, segundo classificação em SCN, SCP e *S. aureus* e regiões estudadas**

Regiões <sup>a</sup>	SCN	SCP	<i>S. aureus</i>	Total R
A	55/62(88,7%)	6/62(9,7%)	1/62(1,6%)	62/291(21,3%)
B	62/151(41,1%)	19/151(12,6%)	70/151(46,3%)	151/291(51,9%)
C	53/78(67,9%)	12/78(15,4%)	13/78(16,7%)	78/291(26,8%)
Total C	170/291(58,4%)	37/291(12,7%)	84/291(28,9%)	291

<sup>a</sup> A = Região Metropolitana do Recife; B = Agreste; C = Zona da Mata; Total R = Total por região; Total C = Total por classificação.

*cus aureus*. A distribuição dos isolados de acordo com sua classificação e com as regiões estudadas encontra-se no Quadro 1. Freitas et al. (2005) também verificaram que SCN foi o microrganismo mais isolado de leite de vacas com mastite subclínica no Agreste do estado de Pernambuco.

O perfil de sensibilidade, sensibilidade intermediária e resistência dos isolados de *Staphylococcus* spp. frente aos antibióticos testados encontra-se no Quadro 2, onde se observa que a associação neomicina+bacitracina+tetraciclina e a ciprofloxacina foram os antibióticos mais eficazes para os isolados da Região A, com o percentual de (98,4%), seguido dos antibióticos gentamicina e tobramicina (96,8%), danofloxacina e cephalonium (95,2%). Na região B, os antibióticos mais eficazes foram neomicina+bacitracina+tetraciclina com (99,3%), cefalunome (92,7%) e cephalonium (91,4%). Na Região C, neomicina+bacitracina+tetraciclina (89,7%) e cephalonium (69,2%) foram os mais eficazes. Em todas as regiões estudadas a associação neomicina+bacitracina+tetraciclina foi a mais eficaz para os isolados de *Staphylococcus* spp. recuperados de leite de vacas com mastite subclínica.

A associação neomicina+bacitracina+tetraciclina foi eficaz nas três regiões estudadas, pois é um medicamento recente e pouco utilizado. Na região C, no entanto, houve um menor percentual de sensibilidade em relação às regiões A e B, possivelmente devido à recente introdução e maior utilização desta associação no tratamento dos animais.

As associações entre antimicrobianos visam potencializar a ação dos mesmos, diminuir efeitos indesejáveis e aumentar o espectro de ação sobre os microrganismos. No caso da associação neomicina+bacitracina+tetraciclina, sabe-se que a bacitracina atua sobre bactérias Gram-positivas e pode ser associada à neomicina para aumentar seu espectro de ação, sendo a resistência bacteriana a bacitracina rara, embora possa ocorrer (Spinosa 1996).

A tetraciclina é bastante utilizada nos tratamentos das mastites e apresentou boa eficiência para estafilococos isolados de casos de mastite em São Paulo (Cruz et al. 1998) e em Minas Gerais (Brito et al. 2001). Tem ação sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, porém deve-se ter cautela em seu uso, pois a resistência antimicrobiana é mediada principalmente por plasmídios (Spinosa 1996), os quais podem carrear resistência para outros antibióticos (Prescott 2000). A eficiência da resis-

tência plasmidial e seu possível impacto na saúde humana ficaram evidentes quando se detectou que, além de ser em geral múltipla e altamente transferível, ela pode ocorrer entre bactérias de gêneros diferentes. As ações promovidas por genes de resistência plasmidial são muito efetivas, pois se baseiam quase sempre, na produção de enzimas. No caso da tetraciclina, há a produção da proteína *Tet*, que é responsável pelo transporte deste antibiótico para fora da célula bacteriana (Souza 1998).

A ciprofloxacina na região A foi tão eficiente quanto à associação neomicina+bacitracina+tetraciclina com um percentual de (98,4%). A ciprofloxacina e a danofloxacina são quinolonas de segunda geração e esta última apresentou um percentual de sensibilidade de (95,2%). Cruz et al. (1998) trabalharam com *S. aureus* isolados de mastite bovina em São Paulo e observaram boa eficiência para estes dois antibióticos.

A gentamicina e a tobramicina apresentaram valores de sensibilidade idênticos nas regiões A e B com percentuais de (96,8%) e (76,2%), respectivamente. Na região C, os percentuais de sensibilidade não foram idênticos, mas, foram bem próximos, sendo o da gentamicina de (67,9%) e o da tobramicina de (66,7%) (Quadro 2). Embora a tobramicina não seja muito utilizada no tratamento da mastite, na região C ela não apresentou boa eficiência como observado na região A, provavelmente devido ao uso indiscriminado de antibióticos nas propriedades da região C e sua semelhança com a gentamicina, já que ambas são aminoglicosídeos. Trabalhando com *S. aureus* isolados de tanques de leite em São Paulo, Araújo

**Quadro 2. Perfil de sensibilidade (S), sensibilidade intermediária (I) e resistência (R) dos isolados de *Staphylococcus* spp. recuperados de leite de vacas com mastite subclínica na Região Metropolitana do Recife (A), Agreste (B) e Zona da Mata do estado de Pernambuco (C)**

	A (n= 62)			B (n= 151)			C (n= 78)		
	S	R	I	S	R	I	S	R	I
ENO <sup>a</sup>	92,0%	3,2%	4,8%	55,6%	11,9%	32,5%	50,0%	28,1%	28,2%
SUT	85,5%	14,5%	0,0%	85,4%	9,3%	5,3%	59,0%	25,6%	15,4%
DAN	95,2%	0,0%	48,4%	80,1%	1,3%	18,5%	65,4%	11,5%	23,1%
AMP	43,5%	<b>56,5%</b>	0,0%	27,2%	<b>72,8%</b>	0,0%	28,2%	<b>71,8%</b>	0,0%
AZI	85,5%	6,5%	8,0%	59,6%	17,9%	22,5%	48,7%	30,8%	20,5%
FLF	93,5%	16,1%	48,4%	82,1%	4,6%	13,2%	60,3%	15,4%	24,4%
AMO	80,6%	11,3%	8,1%	60,3%	27,8%	11,9%	57,7%	37,2%	5,1%
NBT	<b>98,4%</b>	1,6%	0,0%	<b>99,3%</b>	0,7%	0,0%	<b>89,7%</b>	10,3%	0,0%
PNM	80,6%	11,3%	8,1%	45,7%	53,6%	0,7%	37,2%	5,9%	3,8%
ERI	61,3%	12,9%	25,8%	21,9%	36,4%	41,7%	17,9%	46,2%	35,9%
GEN	96,8%	1,6%	1,6%	76,2%	13,2%	10,6%	67,9%	23,1%	9,0%
CIP	<b>98,4%</b>	0,0%	1,6%	68,9%	5,3%	25,8%	53,8%	14,1%	32,1%
TOB	96,8%	1,6%	0,0%	76,2%	10,6%	13,2%	66,7%	24,4%	9,0%
CFQUE	90,3%	3,3%	6,4%	<b>92,7%</b>	3,3%	4,0%	64,1%	20,5%	15,4%
CLX	88,7%	11,3%	0,0%	86,6%	13,2%	0,0%	65,4%	34,6%	0,0%
CNM	95,2%	3,2%	1,6%	91,4%	6,6%	2,0%	<b>69,2%</b>	23,1%	7,7%

<sup>a</sup> ENO = Enrofloxacin; SUT = Clotrimoxazol; DAN = Danofloxacina; AMP = Ampicilina; AZI = Azitromicina; FLF = Florfenicol; AMO = Amoxicilina; NBT - Neomicina+Bacitracina+Tetraciclina; PNM = Penicilina+Novobiocina; ERI = Eritromicina; GEN = Gentamicina; CIP = Ciprofloxacina; TOB = Tobramicina; CFQUE = Cefquinome; CLX = Cloxacilina; CNM = Cephalonium.

jo (1998) também verificou resultados idênticos para a gentamicina e tobramicina que apresentaram percentual de (99,0%) de sensibilidade.

Vários autores confirmaram a eficácia da gentamicina no tratamento de mastite estafilocócicas (Costa et al. 2000, Brito et al. 2001, Oliveira et al. 2002, Byarugaba et al. 2004), no entanto Freitas et al. (2005) verificaram alto nível de resistência dos estafilococos à gentamicina no município onde este antibiótico era mais utilizado, destacando a importância do uso indiscriminado e a seleção de bactérias resistentes. Deste modo, a semelhança dos resultados de sensibilidade para os dois antibióticos revelada neste estudo, demonstra que não necessariamente o uso da tobramicina possa ocasionar resistência, mas sim, o uso de um antibiótico do mesmo grupo como a gentamicina.

No presente estudo, foram utilizados nos testes de sensibilidade antimicrobiana os antibióticos ampicilina, amoxicilina, cloxacilina, cefquinome e cephalonium que pertencem ao grupo de antibióticos betalactâmicos, sendo os dois últimos classificados como cefalosporinas de quarta geração e que têm seu uso recente no tratamento de mastites bovinas.

Devido a pouca utilização do cephalonium e do cefquinome nas regiões estudadas, estes apresentaram ótimos resultados, sendo o cefquinome o segundo antibiótico mais eficaz na região B e o cephalonium na região C (Quadro 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Moroni et al. (2006) com relação ao cephalonium e sua excelente ação *in vitro* para *S. aureus* isolados de casos de mastite subclínica na Itália.

O antibiótico com menor percentual de sensibilidade nas três regiões estudadas foi a ampicilina com 43,5% de sensibilidade para as amostras da região A, 27,2% para a região B e 28,2% na região C (Quadro 2). Estes resultados podem ser esperados, pois a ampicilina é uma penicilina de amplo espectro (Spinosa, 1996), sendo bastante utilizada no tratamento de mastite por ter ação sobre bactérias Gram positivas e Gram negativas e também para outras doenças bacterianas de bovinos este fato na maioria das vezes resulta no uso indiscriminado do medicamento que pode causar a resistência do microrganismo ao antibiótico.

Do total de 291 isolados de *Staphylococcus* spp. utilizados nos testes de sensibilidade antimicrobiana, 181 foram multirresistentes, sendo os demais (110), sensíveis a todos antibióticos ou resistentes a apenas um deles (Quadro 3). Os isolados foram agrupados em três perfis de multirresistência. Perfil (2-4), resistentes a 2, 3 e 4 antibióticos simultaneamente; perfil (5-7), resistente a 5, 6 e 7 antibióticos e perfil (=ou>8), resistente a oito ou mais de 8 antibióticos simultaneamente.

O perfil (2-4) foi o mais freqüente nas três regiões estudadas independente da classificação do *Staphylococcus* spp. (Quadro 3). No entanto, com relação a esta classificação, observou-se que os isolados de *S. aureus* multirresistentes apresentaram a seguinte distribuição dos

**Quadro 3. Perfil geral de multirresistência dos isolados de *Staphylococcus* spp. recuperados de leite de vacas com mastite subclínica na Região Metropolitana do Recife (A), Agreste (B) e Zona da Mata do estado de Pernambuco (C)**

Regiões	NM (0-1) <sup>a</sup>	Quantidade de antibióticos			Total R
		2-4	5-7	=ou > 8	
A	42	17 17/20(85,0%)	1 1/20(5,0%)	2 2/20(10,0%)	62
B	47	69 69/104(66,3%)	26 26/104(25,0%)	9 9/104(8,7%)	151
C	21	23 23/57(40,4%)	12 12/57(21,0%)	22 22/57(38,6%)	78
Total C	110	109 109/181(60,2%)	39 39/181(21,5%)	33 33/181(18,3%)	291

<sup>a</sup> NM (0-1) = Não multirresistente (amostras sensíveis a todos antibióticos ou resistentes a um antibiótico); (2-4) (amostras resistentes a 2, 3 ou 4 antibióticos); (5-7) (amostras resistentes a 5, 6 e 7 antibióticos); (=ou>8) (amostras resistentes a 8 ou mais antibióticos testados). Total R = Total por região; Total C = Total por classificação.

**Quadro 4. Perfil de multirresistência dos isoaldos de *Staphylococcus* spp. de acordo com sua classificação em *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Staphylococcus coagulase negativa* e regiões estudadas**

Regiões <sup>a</sup>	Perfil de multirresistência			
	(0-1)	(2-4)	(5-7)	(=ou>8)
<i>Staphylococcus aureus</i>				
A	1	-	-	-
B	15	<b>39(70,9%)</b>	13(23,6%)	3(5,5%)
C	3	<b>5(70,9%)</b>	4(40,%)	1(10,0%)
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>				
A	2	<b>3 (75,0%)</b>	0 (0,0%)	1 (25,0%)
B	7	<b>5 (41,7%)</b>	<b>5 (41,7%)</b>	2 (16,6%)
C	4	<b>3 (37,5%)</b>	2 (25,0%)	<b>3 (37,5%)</b>
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>				
A	39	<b>14 (87,5%)</b>	1 (6,25%)	1 (6,25%)
B	25	<b>25 (67,6%)</b>	8 (21,6%)	4 (10,8%)
C	14	15 (38,5%)	6 (15,4%)	<b>18 (46,1%)</b>

<sup>a</sup> A = Região Metropolitana do Recife; B = Agreste; C = Zona da Mata.

perfis estabelecidos: 44/65 (67,7%) para o perfil (2-4), 17/65 (26,2%) para o perfil (5-7) e 4/65 (6,1%) para o perfil (=ou>8). Já as amostras de SCP obtiveram a seguinte distribuição: 11/24 (45,8%) para o perfil (2-4), 7/24 (29,2%) para o perfil (5-7) e 6/24 (25,0%) para o perfil (=ou>8) e os SCN 54/92 (58,7%) para o perfil (2-4), 15/92 (16,3%) para o perfil (5-7) e 23/92 (25,0%) para o perfil (=ou>8). Observou-se, desta forma, que o perfil mais freqüente também foi o (2-4) quando se considera a classificação do *Staphylococcus* spp.

No Quadro 3, percebe-se que na Zona da Mata o perfil de (=ou>8) apresentou um percentual de 38,6%, muito próximo ao de (2-4) com 40,4%. Este fato é preocupante, pois revela que muitos isolados de *Staphylococcus* spp. são resistentes a oito ou mais antibióticos. Este alto percentual ocorreu devido a um elevado percentual de SCN com perfil (=ou>8) (Quadro 4) e talvez pela resistência simultânea a antibióticos pertencentes a um mesmo gru-

po, como por exemplo, gentamicina e tobramicina, enrofloxacina, ciprofloxacina e danofloxacina e, principalmente os betalactâmicos que foram cinco e a associação penicilina+novobiocina.

Em estudo realizado por Schultz (2004), onde foram analisadas 202 bactérias, 78,0% eram *Staphylococcus* coagulase negativa e 44,0% destes foram resistentes a mais de um antibiótico. Destaca-se então a importância dos SCN na participação do processo infeccioso da glândula mamária, pois a resistência aos tratamentos causa persistência de casos crônicos no rebanho que podem atuar como fontes de infecção para outros animais do rebanho (Archer 1994).

Na região A não houve nenhum isolado de *S. aureus* multirresistente e tanto os SCP quanto os SCN apresentaram maior frequência para o perfil (2-4) com 75,0% e 87,5%, respectivamente. Na região B, o perfil (2-4) foi o mais frequente para os isolados de *S. aureus* e para os isolados de SCN com os percentuais de 70,9% e 67,6%, no entanto, para os isolados de SCP a frequência do perfil (2-4) foi idêntica ao perfil (5-7) que foi de 41,7%. Na região C, o perfil (2-4) também foi o mais comum com 70,9% para os isolados de *S. aureus*, já para os isolados de SCP, tanto o perfil (2-4) quanto ( $=ou>8$ ) tiveram o mesmo percentual de 37,5% e o perfil ( $=ou>8$ ) prevaleceu entre os isolados de SCN com (46,1%) (Quadro 4). Destaca-se assim a importância dos SCP e principalmente dos SCN em casos de tratamentos difíceis devido a altas multirresistências.

Recentemente, os SCN têm apresentado grande relevância como agentes patogênicos responsáveis por perdas econômicas substanciais aos produtores de leite (Gentilini 2002). Este fato torna-se ainda mais grave quando essas bactérias apresentam resistência a vários antibióticos disponíveis para o tratamento da mastite.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram a necessidade da realização periódica de testes de sensibilidade *in vitro*, pois existem variações no perfil de sensibilidade e resistência que podem comprometer o tratamento do animal bem como os programas de controle da mastite bovina causada pelo *Staphylococcus* spp.

## REFERÊNCIAS

- Araújo W.P. 1998. Fagotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos, isoladas de leite. *Braz. J. Vet. Res.* 35(4):161-165.
- Archer G.L. & Climo M.W. 1994. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 38:2231-2237.
- Baird-Parker A.C. 1990. The *Staphylococci*: An introduction. *J. Appl. Bacteriol.* 19:15-85.
- Barberio A., Gietl H. & Dalvit P. 2002. "In vitro" sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* e coliformes isolados de mastite bovina na região de Veneto, Itália, no período de 1996-1999. *Revta Napgama, São Paulo*, 5(1):10.
- Bauer M.D, Kirby W.M.M, Sherris J.C. & Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45(4):493-496.
- Bean N.H.G & Riffin P.M.G. 1990. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: Pathogens, vehicles, and trends. *J. Food Protect.* 53(9):804-817.
- Brabes K.C.S., Carvalho E.P., Dionísio F.L., Pereira M.L., Garino F. & Costa E.O. 1999. Participação de espécies coagulase positivas e negativas produtoras de enterotoxinas do gênero *Staphylococcus* na etiologia de casos de mastite bovina em propriedades de produção leiteira dos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Revta Napgama, São Paulo*, 2(3):4-5.
- Brito M.A.V.P., Brito J.R.F., Silva M.A.S. & Carmo R.A. 2001. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53(5):531-537.
- Byarugaba D.K. 2004. A view on antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. *J. Antimicrob. Agents* 24:105-110.
- Cardoso H.F.T., Carmo L.S., Silva N. & Sena M.J. 1999. Production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil. *Letters Appl. Microbiol.*, Oxford, 29:347-349.
- Carter G.R. 1988. Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária. Roca, São Paulo. 250p.
- Costa E.O., Benites N.R., Thiers F.O., Ribeiro A.R., Garino Jr F. & Silva J.A. 2000. Escore de CMT em relação ao nível de células somáticas em leite do tanque de refrigeração e percentual de mastite subclínica em propriedades leiteiras de São Paulo e Minas Gerais. *Revta Napgama, São Paulo*, 3(2):14-18.
- Cruz A.D., Batista G.C.M., Modolo J.R., Gott S.A.F. & Lopes C.A.M. 1998. Atividade *in vitro* do danofloxacina e de sete drogas antimicrobianas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 50(4):369-373.
- Dean A.G., Dean J.A., Coulombier D., Brendel K.A., Smith D.C., Burton A.H., Dicker R.C., Sullivan K., Fagan R.F. & Arner T.G. 1990. Version 6.2. Word Processing, Database and Statistics Program for Epidemiology on Microcomputers. Centers of Disease Control, Atlanta, Georgia, USA.
- Erskine R.J., Kirk J.H., Tyler J.W. & DeGraves F.J. 1993. Advances in the therapy for mastitis. *Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.* 9(3):499-513.
- Fagundes H. & Oliveira C.A.F. 2004. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. *Ciência Rural* 34:1315-1320.
- Freitas M.F.L., Pinheiro Jr J.W., Stamford T.L.M., Rabelo S.S.A., Silva D.R., Silveira Filho V.M.S., Santos F.G.B., Sena M.J. & Mota R.A. 2005. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo*, 72(2):171-177.
- Gentilini E., Denamiel G. & Betancor A. 2002. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *J. Dairy Sci.* 85:1913-1917.
- Langoni H., Silva A.V., Cabral K.G. & Domingues P.F. 1998. Aspectos etiológicos na mastite bovina. *Revta Bras. Med. Vet.* 20:204-210.
- MacFaddin J.F. 1980. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. Williams and Wilkins, Baltimore. 527p.
- Moroni P., Pisoni G., Antoni M., Villa R, Boettcher P. & Carli S. 2006. Curta comunicação: susceptibilidade às drogas antimicrobianas de *Staphylococcus aureus* oriundos de mastites bovinas subclínicas na Itália. *J. Dairy Sci.* 89:2973-2976.
- Oliveira A.A.F., Mota R.A., Souza M.I. & Sá M.E.P. 2002. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* frente a amostras de *Staphylococ-*

- cus* spp isolados de mastite subclínica bovina, no agreste meridional de Pernambuco. *Hora Veterinária*, Porto Alegre, 22(127):8-10.
- Omoie K., Ishikawa M., Shimoda Y., Hu D., Ueda S. & Shinagawa K. 2002. Detection of *seg*, *she*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *Staphylococcus aureus* isolates harborin *seg*, *seh*, or *sei* genes. *J. Clin. Microbiol.* 40(3):857-862.
- Pinheiro de Sá M.E., Cunha M.L.R.S., Elias A.O., Cassiano V. & Langoni H. 2004. Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 41:320-326.
- Prescott J.F. 2002. Antimicrobial drug resistance and its epidemiology, p.27-49. In: Prescott J.F., Baggot J.D. & Walker R.D. (Ed.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Iowa State University Press, Ames.
- Reis S.R., Silva N. & Brescia M.V. 2003. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55(6):651-658.
- Sampaio I.B.M. 1998. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. UFMG, Belo Horizonte. 221p.
- Santos F.G.B., Mota R.A., Silveira V.M., Souza H.M., Oliveira, M.B.M., Johner J.M.Q., Leal N.C., Almeida A.M.P. & Balbino T.C.L. 2003. Tipagem molecular de *Staphylococcus aureus* isolados do leite de vacas com mastite subclínica e equipamentos de ordenha procedentes do estado de Pernambuco. *Revta Nappama*, São Paulo, 6(1):19-23.
- Schultz R.P.J., Smith K.L., Hogan J.S. & Love B.C. 2004. Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. *Vet. Microbiol.* 102:33-42.
- Silva N., Junqueira V.C.A. & Silveira N.F.A. 1997. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. Varela, São Paulo. 295p.
- Silva N., Lobato F.C.F. & Costa G.M. 1998. Mastitis aguda espontânea por *Klebsiella* em bovinos Holstein. 1st Panamerican Congress on Mastitis Control and Milk Quality, Mérida, México, p.144-147.
- Souza E.C. 1998. Bactérias ultra-resistentes. *Ciência Hoje* 23(138):27-35.
- Spinosa H.S. 1996. Antibióticos: tetraciclina e cloranfenicol, p.368-371. In: \_\_\_\_ (Ed.), *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. Guanabara Koogan, São Paulo.
- Tyler J.W., Wilson R.C. & Dowling P. 1992. Treatment of subclinical mastitis. *Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.* 8:17-28.
- Zschöck M., Botzler D., Blöcher S., Sommerhäuser J. & Hamann H.P. 2000. Detection of genes for enterotoxins (ent) and toxic shock syndrome toxin-1 (tst) in mammary isolates of *Staphylococcus aureus* by polymerase-chain-reaction. *Int. Dairy J.* 10:569-574.