
SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLADOS DE AMOSTRAS DE LEITE DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA

MARIA AUXILIADORA ANDRADE¹, FRANCISCO DE CARVALHO DIAS FILHO¹, ALBENONES JOSÉ DE MESQUITA¹ E PATRÍCIA TIRONI ROCHA²

1. Professores do Depto. de Medicina Veterinária da EV/UFG. – 2. Aluna do curso de Mestrado em Medicina Veterinária da EV/UFG.
Departamento de Medicina Veterinária da EV/UFG – Caixa Postal 131 – 74001-970 – Goiânia – Goiás

RESUMO

Foram submetidas a teste de sensibilidade *in vitro* a cinco antibióticos e quimioterápicos, 291 cepas de *Staphylococcus aureus* isolados de 667 amostras de leite procedentes de 375 vacas reagentes ao California Mastitis Test (CMT). Verificaram-se os seguintes percentuais de

sensibilidade aos antimicrobianos: gentamicina, 90,72% (264/291); enrofloxacina, 89,35% (260/291); cefaperazona, 88,66% (258/291); kanamicina, 87,63% (255/291) e penicilina, 23,71% (69/291).

PALAVRAS-CHAVE: Leite bovino, mastite subclínica, antimicrobianos.

SUMMARY

IN VITRO SENSITIVITY TEST OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS, ISOLATED FROM MILK SAMPLES OF CATTLE SUBCLINICAL MASTITIS.

291 *Staphylococcus aureus* strains, isolated on 667 milk samples from 375 cows positive to the California Mastitis Test- CMT were checked for *in vitro* sensitivity study against five antimicrobials. The sensibility rate for *S.*

aureus was of 90,72% to gentamicin; 89,35% to enrofloxacin; 88,66% to cephaloperazone; 87,63% to kanamycin and 23,71% to penicillin.

KEY WORDS: Cattle milk, subclinical mastitis, antimicrobial.

INTRODUÇÃO

Mundialmente a mastite é reconhecida como a doença mais dispendiosa das propriedades leiteiras. Philpot (1984) calculou que 70 % das perdas econômicas, devido à mastite subclínica, podem ser atribuídas à queda de

produção, 8 % ao descarte de leite contaminado, 8% à assistência veterinária e os restantes 14 % a gastos com medicamentos e mão-de-obra, à diminuição do valor comercial e à reposição do plantel. DeGraves & Fetrow (1993) acrescentaram que um aspecto frustrante é que 75 % das perdas são percebidas pelo produtor.

A etiologia é bastante variável, entretanto o *Staphylococcus aureus* tem sido o agente mais isolado dos casos de mastites (Kinabo & Assey, 1993; Nader Filho et al., 1985; Bramley et al., 1987; Saperstein, 1990; Langoni et al., 1991; Baselga et al., 1994; Fox, 1994; Vargas et al., 1996).

Ferreiro (1980), avaliando os padrões de sensibilidade de *S. aureus* isolados de leite provenientes de rebanhos da Califórnia e do Rio Grande do Sul, encontrou 100% de eficácia para gentamicina e kanamicina; 64 % para a penicilina nas cepas californianas; 100% de eficácia para a gentamicina; 97,2% para a kanamicina; e 69% para a penicilina nas cepas brasileiras.

Costa et al. (1984/85/86) submeteram 427 cepas de *S. aureus* ao teste de sensibilidade *in vitro* à penicilina e à gentamicina, entre outros antimicrobianos, e detectaram 27,87% e 52,46% de sensibilidade para a penicilina e gentamicina, respectivamente.

Os estudos realizados por Nader Filho et al. (1986) com 37 cepas de *S. aureus* perante 15 drogas antimicrobianas mostraram que a gentamicina e a amicacina foram as drogas que apresentaram maior eficiência, 94,6%, enquanto a kanamicina apresentou 81,1% e a penicilina, 13,5%.

Langoni et al. (1991), pesquisando a ação *in vitro* da gentamicina, da penicilina e outros antimicrobianos, observaram que a sensibilidade das cepas de *S. aureus* a essas drogas foi de 72,1% e 13,7% respectivamente.

Domingues et al. (1994), analisando 1.952 cepas de *S. aureus*, verificaram que a sensibilidade à penicilina foi de 10%, à gentamicina, 54% e à kanamicina, 15%.

Vargas et al. (1996), pesquisando a sensibilidade *in vitro* de cepas de *S. coagulase* positiva, no período de 1988 a 1994, detectaram níveis de sensibilidade à gentamicina de 95,09%

(155/163); à cefaperazona, 65,38% (85/130) e à penicilina, 18,12% (27/96).

Ainda que o controle da mastite fundamente-se principalmente nas medidas higiênicossanitárias, a antibioticoterapia exerce um papel importante no caso de infecções por patógenos contagiosos, tendo em vista a possibilidade de eliminar as infecções intramamárias e de reduzir, assim, prováveis fontes de infecção (Erskine et al., 1993).

Considerando as perdas econômicas atribuídas à mastite subclínica, as indicações terapêuticas realizadas, na maioria das vezes, de forma empírica e a possibilidade de contribuição aos profissionais de campo, propôs-se o presente estudo de sensibilidade de antibióticos e quimioterápicos às cepas de *S. aureus* isoladas de amostras de leite provenientes de vacas em lactação reagentes ao CMT.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram submetidos ao California Mastitis Test (CMT) (Schalm & Noorlander, 1957) 942 animais em lactação, de 25 propriedades leiteiras, sorteadas aleatoriamente, localizadas num raio de até 200 km, tendo Goiânia como centro de referência. Todas as propriedades estudadas utilizavam ordenhadeiras mecânicas na obtenção do leite, com rebanhos constituídos de animais da raça Holandesa, variedade preta e branca, primíparas ou pluríparas, de diferentes idades em diferentes estágios de lactação.

Após a lavagem com água e detergente neutro, a glândula mamária foi enxugada com papel-toalha e, posteriormente, submetida à antiseptia empregando-se álcool iodado. Em seguida, foram colhidos, em tubos de ensaio de 16 x 160 mm com tampa de rosca de baquelite, aproximadamente 10 ml de leite dos tetos que apresentaram resultado positivo ao CMT com escores de +, ++ e +++. Após a colheita, os tubos

foram acondicionados em caixas isotérmicas, com gelo, e transportadas ao Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Goiás.

Imediatamente após a chegada ao laboratório, as amostras foram repicadas em ágar-sangue, contendo 7% de sangue desfibrinado de carneiro, e incubadas a 37° C por 24 horas. A identificação do agente foi realizada de acordo com o Laboratory and Field Handbook on Mastitis (1987).

Os antibiogramas foram realizados a partir de culturas puras de *S. aureus* perante os seguintes antimicrobianos: penicilina (10 un), kanamicina (30 mcg), gentamicina (10 mcg), enrofloxacina (5 mcg) e cefaperazona (75 mcg), segundo o método de Kirb-Bauer modificado (Laboratory and Field Handbook on Mastitis, 1987).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 667 amostras de leite positivas ao CMT isolaram-se e identificaram-se 291 cepas de *S. aureus*.

Analisando os resultados apresentados na Tabela 1, observa-se que, das 291 cepas de *S. aureus* isoladas, 264 (90,72%) foram sensíveis à gentamicina, 260 (89,35%) à enrofloxacina, 258 (88,66%) à cefaperazona, 255 (87,63%) à kanamicina e 69 (23,71%) à penicilina.

A gentamicina foi o antibiótico de maior ação sobre o *S. aureus*, dados que se aproximam dos resultados de Ferreiro (1980), 100%; Nader Filho et al. (1986), 94,6% e Vargas et al. (1996), 95,09%. No entanto, outros pesquisadores acharam cifras inferiores, dentre os quais podem ser citados Langoni et al. (1991), 72,1%; Costa et al. (1984/85/86), 52,46% e Domingues et al.

(1994), 54%. Pode-se depreender que há uma grande variação nos percentuais de sensibilidade desse agente e que provavelmente a utilização empírica e indiscriminada deste antibiótico tenha contribuído para o aparecimento de linhagens resistentes.

A ação da kanamicina sobre o *S. aureus*, medida através do teste de sensibilidade, foi de 87,63%, valor bem próximo aos encontrados por Ferreiro (1980), 97,2%, e Nader Filho et al. (1986), 81,1%. Entretanto, Domingues et al. (1984) encontraram 15%.

Quanto à penicilina no presente estudo, verificaram-se apenas 23,7% de sensibilidade, sendo, portanto, o antibiótico de menor ação aos *S. aureus*. A literatura consultada registra os resultados de Domingues et al. (1994), 10%; Nader Filho et al. (1986), 13,5%; Langoni (1991), 13,7%; Vargas et al. (1996), 18,12%; Costa et al. (1984,85,86), 27,87% e Ferreiro (1980), 69%. A variação dos níveis de 10 a 69% talvez possa ser explicada pelo uso indiscriminado e inadequado (subdosagens) da penicilina na medicina veterinária, possibilitando a seleção de cepas resistentes, pela eliminação de cepas sensíveis e, ainda, pela presença da betalactamase em algumas cepas do *S. aureus*. Esta enzima consegue romper o anel betalactâmico, uma estrutura molecular fundamental para a ação deste antibiótico.

Para a cefaperazona detectou-se um percentual de sensibilidade de 88,66%, superior ao encontrado por Vargas et al. (1996), 65,38%. No caso da enrofloxacina, uma quinolona de 3ª geração, o segundo agente de maior eficácia, encontraram-se 89,35%, entretanto a literatura consultada não registrou trabalhos de teste de sensibilidade *in vitro* para este antimicrobiano. Verifica-se, portanto, que a gentamicina, a enrofloxacina, a cefaperazona e a kanamicina apresentam níveis de sensibilidade superiores a 87%.

TABELA 1. Resultados dos testes de sensibilidade *in vitro* de 291 cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de amostras de leite de vacas com mastite subclínica, a cinco antimicrobianos.

Antimicrobianos	<i>Staphylococcus aureus</i>					
	Sensível		Intermediário		Resistente	
	Total	%	Total	%	Total	%
Gentamicina	264	90,72	9	3,09	18	6,19
Enrofloxacina	260	89,35	10	3,44	21	7,21
Cefaperazona	258	88,66	9	3,09	24	8,25
Kanamicina	255	87,63	11	3,78	25	8,59
Penicilina	69	23,71	-	-	222	76,29

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho evidenciaram a possibilidade de tratamento de infecções subclínicas por *S. aureus* com um dos quatro princípios ativos ensaiados: gentamicina, enrofloxacina, cefaperazona e kanamicina, destacando-se a gentamicina como o antibiótico de maior eficácia. Entretanto nenhum deles apresentou uma eficácia de 100%, o que evidencia a necessidade de determinar o padrão de sensibilidade deste agente nos casos de recomendar a antibioticoterapia em mastite subclínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASELGA, R., ALBIZU, I., AMORENA, B. *Staphylococcus aureus* capsule and slime as virulence factors in ruminants mastitis. A review. *Vet. Microb.*, v.39, n.3-4, p. 1595, 1994.
- BRAMLEY, A. J., GRIFFIN, T. K., GRINDAL, R. J. Some investigations on the effect of continuous vacuum milking on new infection of the udder. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 17th Meeting Annual, 1987, Arlington. *Proceedings...* Arlington, 1987. p. 291-300.
- COSTA, R. R., CARVALHO FILHO, F. D., ANDRADE, M. A. Mastite bovina: sensibilidade de agentes etiológicos a antibióticos e quimioterápicos. *Anais da Esc. Agron. Vet.*, n. 1, p. 79-85, 1984/85/86.
- DeGRAVES, F. J., FETROW, J. F. Economics of mastitis and mastitis control. *Vet. Clin. N. Amer.: Food Animal Practice*, v.9, n.3, p. 421-433, 1993.
- DOMINGUES, P. F., PADOVANI, C. R., DOMINGUES, L. R. Estudo da eficácia *in vitro* dos antibióticos e quimioterápicos usados no tratamento da mastite bovina por *Staphylococcus sp.* *Hora Vet.*, n. 82, p. 27-29, 1994.
- ERSKINE, R. J., KIRK, J. H., TYLER, J. W., DeGRAVES, F. J. Advances in the therapy for mastitis. *Vet. Clin. N. Amer.: Food Animal Practice*. v. 9, n. 3, p. 499-513, 1993.
- FERREIRO, L. Susceptibility patterns of bovine milk strains of *Staphylococcus aureus* originated from herds in USA (CA) and Brazil (R.G.). *Arq. Esc. Vet. UFMG*, Belo Horizonte, v. 32, n. 3, p. 393-406, 1980.
- FOX, L. K. *Staphylococcus aureus* mastitis in heifers and cows. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1994, Regional meeting. Arlington. *Proceedings ... Arlington*. 1994, p.39-43.
- KINABO, L. D. B., ASSEY, R. J. Bovine mastitis in selected dairy farms in Morogoro District, Tanzania, *Beiträge Trop., Landwirtsch. Veterinarmed*, n.1, p. 65-71, 1983.

- LABORATORY AND FIELD HANDBOOK ON BOVINE MASTITIS. Arlington VA: National Mastitis Council, 1987. 208p.
- LANGONI, H., DOMINGUES, P. F., PINTO, M. P., LISTONI, F. J. P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. *Arq. Bras. Med. Zoot.*, v. 43, n. 6, p. 507-515, 1991.
- NADER FILHO, A., SCHOCKEN-ITURRINO, R. P., ROSSI JÚNIOR, O. D., AMARAL, L. A. Sensibilidade dos *Staphylococcus aureus*, isolados em casos de mastite bovina, à ação de antibióticos e quimioterápicos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v. 38, n.4, p. 581-588, 1986.
- NADER FILHO, A., SCHOCKENITURRINO, R. P., ROSSI JÚNIOR, O. D., CEMBRANELLI, E. M. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 5, n. 2, p. 53-56, 1985.
- PHILPOT, W. N. Economics of mastitis control. Symposium on mastitis. *Vet. Clin. N. Amer.:* *Large Animal Practice*, v. 6, n. 2, p. 233-245, 1984.
- SAPERSTEIN, G. Detecting and elimination the reservoirs for *Staphylococcus aureus* before attempting eradication of Staphylococcal mastitis. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 29th Annual Meeting, 1990, Kentucky. *Proceedings...*, Kentucky, 1990.
- SCHALM, O. M., NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 130, n. 5, p. 199-204, 1957.
- VARGAS, A. C., LAZZARI, A., DUTRA, V., WEISS, L. H. N., FERREIRA, G. L., FLORES, L. A. S. Agentes infecciosos mais prevalentes em mastite bovina na região de Santa Maria, RS – Perfil de sensibilidade *in vitro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24., 1996, Goiânia: *Anais...* Goiânia: Sociedade Goiana de Medicina Veterinária, 1996. 251 p., p. 119.