

SUSCEPTIBILIDADE DE *STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA* ISOLADOS DURANTE A ORDENHA

JULIANA CAROLINA SIEBEL¹; MILIMANI ANDRETTA²; JULIANA FERNANDES ROSA²; CLÁUDIO DIAS TIMM²; NATACHA DEBONI CERESER²; HELENICE GONZALEZ DE LIMA³

¹: PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE - LABORATÓRIO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
julianasiebel@gmail.com

²: LABORATÓRIO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL – UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

³: LABORATÓRIO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL – UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS helenicegonzalez@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A mastite bovina geralmente é causada pela infecção de diversos tipos de micro-organismos, sendo bactérias os principais agentes podendo ser contagiosos ou ambientais. Entre os contagiosos, os mais frequentes são *Staphylococcus coagulase positiva* (EMBRAPA, 2007; ZSCHÖRCK et al. 2000). Geralmente *Staphylococcus* fazem parte da microbiota da pele humana e fossas nasais, sendo que a espécie de maior interesse na medicina humana é o *Staphylococcus aureus*, que está frequentemente relacionado com diversas infecções e doenças transmitidas por alimentos (CASSETTARI et al, 2005; KONEMAN et al, 2001).

Sua importância na medicina veterinária deve-se às exotoxina hemolisina, enterotoxina e leucocidina que determinam sua patogenicidade (BANDOCH; MELO, 2011). Alguma dessas características de virulência contribuem para a persistência do *S. aureus* no tecido mamário, juntamente com a facilidade de surgimento de cepas resistentes, favorecidos pelo uso indiscriminado de antibióticos (BARBERIO; GIETL; DALVIT, 2002; SANTOS et al, 2003).

A partir da década de 60, o uso frequente das penicilinas no tratamento de infecções estafilocócicas, favoreceu o surgimento de cepas resistentes a todos os β-lactâmicos, sendo denominados *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* – MRSA. A Cefoxitina 30µg (CFO) é o agente antimicrobiano para predição frente as resistências dos *Staphylococcus* MRSA (CLSI 2008; LEONARD; MARKEY, 2008; SOUSA et al, 2011).

Frente a esse panorama, o objetivo do estudo foi testar a susceptibilidade de isolados de *Staphylococcus coagulase positiva*, obtidos em diferentes pontos da ordenha, frente ao antimicrobiano Cefoxitina.

2. METODOLOGIA

Foram realizadas quatro coletas, com intervalo de uma semana, em uma propriedade, com sistema de ordenha mecânica canalizada, localizada na região sul do Rio Grande do Sul. Para coleta foi acompanhado o manejo de ordenha adotado

pela propriedade, sendo coletados, com zaragatoa estéril, diferentes pontos que podem servir como fonte de contaminação e disseminação do *Staphylococcus*. As amostras foram imediatamente enviadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária, para processamento. Após contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, segundo a metodologia proposta pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2003), os isolados foram mantidos em caldo BHI (Brain Heart Infusion) com glicerol 20% a -20°C, para análises posteriores.

O perfil de resistência foi realizado pelo teste de sensibilidade em disco-difusão, conforme Bauer et al. (1966) e Brasil (2003), testando-se o antimicrobiano CFO 30µg. Para realização do teste, todas as amostras foram padronizadas em Absorbância (UA) de 0,500nn, semeadas em ágar Mueller Hinton adicionado de um disco de CFO. As placas foram incubadas invertidas em estufa 36°C ± 1°C durante 24 horas e após esse período foi realizada a leitura dos diâmetros dos halos inibitórios com auxílio de régua graduada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testadas 81 cepas provenientes do leite (três jatos iniciais e leite do conjunto), superfície dos equipamentos da ordenha (teteiras no início e no final da ordenha, tanque de refrigeração e filtro), das mãos do ordenhador e dos tetos antes e após o pré-dipping de 5% do rebanho.

Com a medida dos halos inibitórios em milímetros (mm), foi consultada uma tabela que informa a sensibilidade do respectivo agente, classificando-o como, sensível, intermediária ou resistente ao CFO. Foi utilizada a seguinte classificação para a sensibilidade de *Staphylococcus* à CFO: sensível (> 18mm), intermediário (15-18mm) e resistente (≤ 14mm).

Das 81 cepas testadas, 12 foram resistentes (14,81%), três (3,71%) intermediárias e 66 (81,48%) sensíveis. Os resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1: Resultado da susceptibilidade dos isolados frente à cefoxitina.

Perfil de sensibilidade	Nº de isolados	% de isolados
Resistente	12	14,81%
Intermediário	3	3,71%
Sensível	66	81,48%
Total	81	100%

As amostras que apresentaram resistência são provenientes da mão (1), teteira após ordenha (3), teto antes do pré-dipping (5), teto após pré-dipping (2) e tanque (1).

Neves et al. (2007) detectou uma alta susceptibilidade das cepas testadas em estudo realizado no interior de São Paulo, corroborando com os resultados encontrados neste estudo. Já Piccoli (2014) em estudo realizado na Serra Gaúcha,

relatou que todas as amostras foram sensíveis ao CFO, indicando que não havia cepas MRSA entre os isolados.

Micro-organismos com resistência às penicilinas, resistentes à penicilinase e classificados como *S. aureus* MRSA, são frequentemente resistentes à maioria dos agentes antimicrobianos, incluindo os aminoglicosídeos, macrolídeos, cloranfenicol, tetraciclina e fluorquinolonas (MANDELL et al., 1995; SOL et al., 2002;). Lee et al., (2003), relata que a infecção do homem pelo consumo de produtos como o leite contaminado com linhagens MRSA de origem animal é possível e, uma vez ocorrida a transferência interespécie, estes micro-organismos podem tornar-se disseminados.

4. CONCLUSÕES

Analizando os resultados obtidos é possível concluir que 14% das amostras foram resistentes a cefoxitina. O manejo de ordenha e o controle de mastites se mostra importante para diminuir a contaminação por *Staphylococcus coagulase* positiva, visto que infecções por esse agente pode vir a gerar problemas de saúde pública.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANDOCH, P.; MELO, L. S. Prevalência de Mastite Bovina por *Staphylococcus Aureus*: Uma Revisão Bibliográfica. Publicações UEPG. **Biologicas Sciences** 17.1 (2011): 47-51.
- BARBERIO, A.; GIETL, H.; DALVIT, P. “In vitro” sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* e coliformes isolados de mastite bovina na região de Veneto, Itália, no período de 1996-1999. **Revista Napgama**, v.5, n.1, p.10, 2002.
- BAUER, A.W.; KIRBY W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am J Clin Pathol** 1966; 45: 493-6.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada. 8ª Edição, Janeiro de 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2003. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003.
- CASSETTARI, V. C.; STRABELLI, T.; MEDEIROS, E. A. S. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? **Braz J Infect Dis**, v. 9, n. 1, p. 70-6, 2005.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement, document M100S18. Wayne, PA, USA: CLSI, 2008
- EMBRAPA. 2007. **Mastite: esclareça suas dúvidas**. Acessado em 29 de junho de 2016. Online. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/>.

KONEMAN, E. et al. Diagnóstico microbiológico. 5ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, cap. 11, 2001.

LEE JH. Methicillin (oxacillin) – resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. **App Environ Microbiol.** 2003, 69 (11): 6489-6494.

LEONARD, F. C.; MARKEY, B. K. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review. **Vet J**, v.175, n. 1, p. 27-36, Jan 2008.

MANDELL G, DOUGLAS J, BENNETT R. Principles and practices of infectious diseases. 4th ed. Edinburgh: **Churchill Livingstone Ltd.**; 1995.

PICCOLI, C. **Bactérias isoladas de amostras de leite colhidas de vacas em lactação da região serrana do Rio Grande do Sul.** 2014. 34f. Dissertação (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

NEVES, M. C., ROSSI JÚNIOR, O. D., ALVES, E. C. C., & LEMOS, M. V. F. (2007). Detecção de genes de resistência antimicrobiana em cromossomos e plasmídeos de *Staphylococcus* spp. **Arq Inst Biol**, 74(3), 207-13.

SANTOS, F.G.B.; MOTA, R.A.; SILVEIRA FILHO, V.M.; SOUZA, H.M.; OLIVEIRA, M.B.M.; JOHNER, J.M.Q.; LEAL, N.A.; ALMEIDA, A.M.P.; LEAL-BALBINO, T.C. Tipagem molecular de *S.aureus* isolados do leite de vacas com mastite subclínica equipamentos de ordenha procedentes do estado de Pernambuco. **Revista Napgama**, v.6, n.1, p.19-23, 2003.

SOL J, SAMPIOMOC OC, NOORDHUIZEN JPTM et al. Sensitivity pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in the Netherlands from 1964 to 2001. In: Anais do 2o Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite. **Ribeirão Preto**, 2002: 116

SOUSA, L. U.; MIELKE, T. P.; HORNER, R.; RODRIGUES, M. A.; SANTOS, S. O.; MARTINI, R.; SALLA, A. Avaliação de metodologias para a detecção de cepas *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) e análise do perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos em um hospital terciário. **Saúde (Santa Maria)**, v.37, n.1, p.20-23, 2011.

ZSCHÖCK, M.; BOTZLER, D.; BLÖCHER, S.; SOMMERHÄUSEN, J.; HAMANN, H. P. Detection of genes for enterotoxins (ent) and toxic shock syndrome toxin-1 (tst) in mammary isolates of *Staphylococcus aureus* by polymerase-chain-reaction. **International Dairy Journal**, v.10, p.569-574, 2000.