

**Análise microbiológica e perfil de sensibilidade do *Staphylococcus* spp. em mastite subclínica de caprinos leiteiros**

[*Microbiological analysis and sensitivity profile of Staphylococcus spp. in subclinical mastitis of dairy goats*]

S.R.S. Salaberry, A.B.S. Saidenberg, E.Zuniga, F.F. Gonsales,  
P.A. Melville, N.R.Benites

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo – FMVZ-USP – São Paulo, SP

**RESUMO**

A mastite subclínica em caprinos acarreta prejuízos econômicos e riscos à saúde pública. Tendo em vista a necessidade de pesquisas que demonstrem as espécies de estafilococos mais isoladas e os testes de sensibilidade que comparem a resistência entre *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) e positiva (SCP) de cabras com mastite subclínica, os objetivos do presente estudo foram identificar os microrganismos isolados de amostras de leite de cabras com mastite subclínica, bem como definir as espécies de estafilococos e determinar o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. aos antimicrobianos. Para realizar a coleta das amostras, foram executados os testes da caneca de fundo preto e *California mastitis test* (CMT) com o leite dos animais reagentes ao CMT. Coletaram-se 226 amostras provenientes de sete rebanhos de caprinos leiteiros, as quais foram encaminhadas para o laboratório, onde foram semeadas para o isolamento do microrganismo e a realização do teste de antibiograma. Dessas amostras, 122 tiveram crescimento bacteriano e as espécies mais isoladas de estafilococos foram: *S. epidermidis* (24,55%), *S. lugdunensis* (15,40%) e *S. intermedius* (13,64%). As amostras apresentaram maior resistência aos antimicrobianos penicilina (81,8%), oxacilina (60,0%) e ampicilina (55,5%). Observou-se maior sensibilidade para enrofloxacin (99,1%), eritromicina (98,2%), gentamicina (98,2%) e vancomicina (98,2%). O *S. epidermidis* apresentou maior resistência antimicrobiana para a amoxicilina e a penicilina do que o *S. lugdunensis* e o *S. intermedius*. Foi verificada uma resistência *in vitro* semelhante entre os estafilococos coagulase negativa e positiva para a maioria dos antimicrobianos testados. É importante o controle do uso abusivo de antimicrobianos para evitar o surgimento de cepas resistentes.

Palavras-chave: antibiograma, estafilococos, leite, teste de sensibilidade

**ABSTRACT**

*Subclinical mastitis in goats causes economic losses and risks to public health. Given the need for research that shows the most isolated staphylococci species and sensibility tests comparing the resistance between coagulase-negative (CNS) and positive Staphylococcus (CPS) goats with subclinical mastitis, the aim of this study was to identify the microorganisms isolated from milk samples of goats with subclinical mastitis, as well as define the staphylococci species and determine the sensitivity profile of Staphylococcus spp. to antimicrobials. To collect samples, tests were performed for mug of black background and California mastitis test (CMT), collecting milk from CMT positive animals. A total of 226 samples from seven herds of dairy goats was collected and forwarded to the laboratory, where they were seeded for the isolation of the microorganism and implementing the antibiotic sensibility test. Of these, 122 samples had bacterial growth and the most isolated staphylococci species were: S. epidermidis (24.55%), S. lugdunensis (15.40%) and S. intermedius (13.64%). Samples showed increased resistance to antimicrobials: penicillin (81.8%), oxacillin (60.0%) and ampicillin (55.5%). Greater sensitivity to: enrofloxacin (99.1%), erythromycin (98.2%), gentamicin (98.2%) and vancomycin (98.2%) were*

observed. The *S. epidermidis* showed higher antimicrobial resistance to amoxicillin and penicillin than *S. lugdunensis* and *S. intermedius*. Similar resistance in vitro between CNS and CPS was observed to most antimicrobials. It is important to control the overuse of antibiotics to prevent the emergence of resistant strains.

Keywords: antimicrobial, milk, sensibility test, staphylococci

## INTRODUÇÃO

A mastite é considerada um grave problema em pequenos ruminantes; em caprinos leiteiros, além de causar prejuízos econômicos, também pode causar riscos à saúde pública (Silva *et al.*, 2001; Moroni *et al.*, 2005).

*Staphylococcus aureus*, que é *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP), causa principalmente mastite clínica. Já os *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) são considerados menos patogênicos que o SCP e estão relacionados a casos de mastite subclínica persistente e, menos frequentemente, à forma clínica (Contreras *et al.*, 2003).

Contudo, é necessário atentar-se para os casos da mastite subclínica por SCN em caprinos (El-Jakee *et al.*, 2013), pois, além de serem os patógenos de maior prevalência, também podem aumentar significativamente a Contagem de Células Somáticas (CCS) e diminuir a produção de leite (Peixoto *et al.*, 2010b). A identificação das espécies de SCN é essencial para determinar sua patogenicidade e desenvolver práticas de manejo para a prevenção de mastite (Chu *et al.*, 2012).

A utilização do teste de sensibilidade para as estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de cabras com mastite subclínica é relevante para decidir qual antimicrobiano deve ser administrado, bem como para monitorar a quantidade de estirpes que apresentam multiresistência e sua disseminação pelo rebanho (Virdis *et al.*, 2010).

A crescente resistência de microrganismos isolados de infecções intramamárias aos antimicrobianos é preocupante. Pesquisas demonstraram que os SCN podem ser mais resistentes do que o *S. aureus*, como também apresentam resistência a diversos antimicrobianos utilizados na medicina veterinária. Existem relatos de estirpes SCN resistentes isoladas de bovinos submetidos a

tratamentos inadequados com antimicrobianos (Machado *et al.*, 2008; Lucheis, 2011). Em caprinos, entretanto, além de haver poucas pesquisas sobre o perfil de sensibilidade do rebanho nacional, não se faz relação da resistência entre SCN e SCP aos antimicrobianos.

Dessa forma, tendo em vista a necessidade de pesquisas que demonstrem as espécies de estafilococos mais isoladas e de testes de sensibilidade que comparem a resistência entre SCN e SCP, os objetivos do presente estudo foram identificar os microrganismos isolados de amostras leite de cabras com mastite subclínica, bem como definir as espécies de estafilococos encontradas e determinar o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. aos antimicrobianos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 226 amostras de leite provenientes de sete propriedades de caprinos leiteiros, sendo três localizadas no estado de São Paulo e as demais em Minas Gerais. A presente pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, protocolo número 2973/2013.

Primeiramente, realizou-se um exame físico da glândula mamária com inspeção e palpação do úbere e dos tetos, identificando a presença ou não de sinais de inflamação: aumento da temperatura, presença de sensibilidade e aumento de volume da glândula, bem como alterações nos linfonodos supramamários (Pugh, 2004). Para identificar os animais com mastite clínica, efetuou-se o teste da caneca de fundo preto, segundo recomendações feitas por Santos e Fonseca (2007).

A identificação da mastite subclínica foi feita com a utilização do teste de CMT, segundo metodologia estabelecida por Schalm *et al.* (1971). As glândulas mamárias que apresentaram

alterações nesse teste foram classificadas como casos de mastite subclínica, e foram coletadas amostras de leite individuais de cada glândula reagente. A coleta das amostras de leite foi realizada assepticamente, utilizando-se álcool iodado 2% para a higienização das estruturas mamárias e tubos estéreis, e o transporte das amostras para o laboratório foi realizado sob refrigeração, em caixas isotérmicas com gelo reciclável.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Bacteriologia e Micologia do Departamento de Medicina Veterinária e Preventiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VPS/FMVZ/USP).

As amostras de leite foram semeadas em placas de Petri contendo ágar-sangue de carneiro (5%) e incubadas a 37°C por 72 horas (Bauer, 1966), sendo realizada a leitura das placas em 24, 48 e 72 horas de incubação. A identificação das cepas isoladas de *Staphylococcus* spp. foi realizada por meio de provas bioquímicas (Lennette et al., 1985), seguida da classificação estabelecida por Murray et al. (1999). Após a coloração pelo método de coloração de Gram e prova da catalase, realizou-se a prova da coagulase, para diferenciar SCN e SCP. O gênero *Staphylococcus* foi diferenciado do *Micrococcus* pela sensibilidade à bacitracina, sendo o *Staphylococcus* spp. resistente. As outras provas bioquímicas realizadas foram: fermentação da lactose, maltose, manitol, sacarose e trealose, urease, produção de acetoina, resistência à novobiocina e polimixina B (Murray et al., 1999; Koneman et al., 2001). Para as cepas em que não foi possível fazer a identificação da espécie de *Staphylococcus* spp. pelas provas bioquímicas, foi utilizado o *RapidStaph* (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos da América). Para avaliação do perfil de sensibilidade das cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas, foi empregado o método descrito por Bauer et al. (1966), difusão em placas de ágar Mueller Hinton, com os seguintes discos antimicrobianos: amoxicilina (10µg), amicacina (30µg), ampicilina (10µg), cefalotina (30µg), cefalexina (30µg), cefoxitina (30µg), ceftiofur (30µg), clindamicina (2µg), cloranfenicol (30µg), enrofloxacina (5µg), eritromicina (15µg), gentamicina (10µg), neomicina (30µg), norfloxacina (10µg), oxacilina (1µg), penicilina

(10µg), sulfametoxazol-trimetropim (25µg), tetraciclina (30µg), vancomicina (30µg). A interpretação dos halos de inibição foi de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute.

A análise estatística utilizada para verificação das espécies de *Staphylococcus* spp. de maior ocorrência foi o teste de comparação múltipla entre proporções, empregando-se o programa R (Foundation for Statistical Computing, Austria), de acordo com Biase e Ferreira (2009). Para associar os antimicrobianos com as espécies de estafilococos, realizou-se o teste de Fisher, adotando-se a significância de referência de 5%.

## RESULTADOS

Do total de amostras coletadas, 122 tiveram crescimento bacteriano, e dessas, 110 (90,2%) foram identificadas como *Staphylococcus* spp., sendo 90 (73,8%) SCN e 20 (16,4%) SCP, nove (7,4%) *Corynebacterium* spp. e três (2,5%) *Streptococcus* spp.

Verificou-se que a frequência de SCN foi: *S. epidermidis* (24,55%), *S. lugdunensis* (15,40%), *S. capitis* (8,18%), *S. chromogenes* (7,27%), *S. hominis* (7,27%), *S. auricularis* (6,36%), *S. saprophyticus* (3,64%), *S. xylosus* (3,64%), *S. cohnii* (2,73%), *S. schleiferi* (0,91%) e *S. warneri* (0,91%). As vinte amostras de SCP foram identificadas como *S. intermedius* e *S. aureus*, correspondendo, respectivamente, a 13,64% e 4,55% do total de *Staphylococcus* spp. isoladas. A ocorrência do *S. epidermidis*, *S. lugdunensis* e *S. intermedius* foi maior que todas as outras espécies ( $P < 0,05$ ), não havendo diferença entre essas.

Avaliou-se perfil de sensibilidade das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas aos diferentes antimicrobianos (Tab. 1). Observou-se maior sensibilidade (acima de 95%) das estirpes de *Staphylococcus* spp. para os seguintes antimicrobianos: enrofloxacina (99,1%), eritromicina (98,2%), gentamicina (98,2%), vancomicina (98,2%), amicacina (97,3%), ceftiofur (97,3%), norfloxacina (96,4%) e neomicina (95,5%). Por outro lado, as estirpes apresentaram maior resistência (acima de 50%) à penicilina (81,8%), oxacilina (60,0%) e ampicilina (55,5%).

Análise microbiológica...

Tabela 1. Classificação em número absoluto e percentual das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas segundo o perfil de suscetibilidade *in vitro* aos antimicrobianos testados – São Paulo – 2015

Antibiótico	Sensível		Intermediário		Resistente	
	Número	%	Número	%	Número	%
Amoxicilina	78	70,9	5	4,5	27	24,5
Amicacina	107	97,3	3	2,7	-	-
Ampicilina	45	40,9	4	3,6	61	55,5
Cefalotina	82	74,5	11	10,0	17	15,5
Cefalexina	83	75,5	-	-	27	24,5
Cefoxitina	58	52,7	5	4,5	47	42,7
Ceftiofur	107	97,3	1	0,9	2	1,8
Clindamicina	97	88,2	11	10	2	1,8
Cloranfenicol	84	76,3	18	16,4	8	7,3
Enrofloxacina	109	99,1	-	-	1	0,9
Eritromicina	108	98,2	2	1,8	-	-
Gentamicina	108	98,2	1	0,9	1	0,9
Neomicina	105	95,5	5	4,5	-	-
Norfloxacina	106	96,4	2	1,8	2	1,8
Oxacilina	39	35,5	5	4,5	66	60,0
Penicilina	20	18,2	-	-	90	81,8
Sulfametoxazol+ trimetoprim	103	93,6	4	3,6	3	2,7
Tetraciclina	91	82,7	3	2,7	16	14,5
Vancomicina	108	98,2	1	0,9	1	0,9

Foi realizada uma comparação entre a suscetibilidade de SCN e SCP aos antimicrobianos testados e verificou-se que não houve diferença nos perfis de resistência e sensibilidade, com exceção da tetraciclina, diante da qual as cepas de SCP apresentaram sete (35%) estirpes resistentes, sendo a resistência maior ( $P<0,05$ ) do que SCN, que apresentaram nove (10,3%).

As estirpes, por espécies de estafilococos, resistentes aos antimicrobianos testados estão

quantificadas e demonstradas na Tab. 2. Ressalta-se que *S. epidermidis* apresentou maior resistência para a amoxicilina e ampicilina, seguida da penicilina e oxacilina, em relação aos demais antimicrobianos ( $P<0,05$ ). *S. lugdunensis* apresentou resistência semelhante a todos os antimicrobianos, com exceção da amoxicilina e penicilina, que foram mais resistentes do que norfloxacina ( $P<0,05$ ). Já com relação ao *S. intermedius*, a resistência da penicilina foi semelhante aos outros antimicrobianos e maior que a vancomicina ( $P<0,05$ ).

Tabela 2. Número de estirpes de acordo com as espécies de *Staphylococcus* spp. isoladas de cabras com mastite subclínica, em relação à resistência aos antimicrobianos testados – São Paulo – 2015

Categorias	Espécies	Isolados	Antimicrobianos																		
			AMO	AMI	AMP	CFL	CFX	CFO	CFT	CLI	CLO	ENO	ERI	GEN	NEO	NOR	OXA	PEN	SUT	TET	VAN
SCN	<i>S. auricularis</i>	7	3	-	2	-	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4	-	-	-
	<i>S. capitis ss capitis</i>	9	7	-	5	1	5	4	1	-	1	1	-	1	-	-	5	7	1	-	-
	<i>S. chromogenes</i>	8	3	-	4	2	-	1	-	-	1	-	-	-	-	1	4	7	-	4	-
	<i>S. cohnii ss cohnii</i>	3	2	-	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3	-	1	-
	<i>S. epidermidis</i>	27	27	-	21	6	5	12	1	1	5	-	-	-	-	-	20	27	1	2	-
	<i>S. haemolyticus</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. hominis ss hominis</i>	8	5	-	5	1	-	3	-	-	1	-	-	-	-	-	6	6	-	1	-
	<i>S. lugdunensis</i>	17	11	-	7	-	5	9	-	-	-	-	-	-	-	1	9	13	-	-	-
	<i>S. saprophyticus</i>	4	4	-	3	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4	-	1	-
	<i>S. schleiferi</i>	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. warneri</i>	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-
	<i>S. xylosus</i>	4	2	-	2	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	-	-	-
	SCP	<i>S. aureus</i>	5	2	-	2	-	1	3	-	-	-	-	-	-	-	3	4	-	2	-
<i>S. intermedius</i>		15	11	-	8	5	2	9	-	-	-	-	-	-	-	9	12	-	5	1	
Total		110	79	-	61	17	27	47	2	1	8	1	-	1	-	2	66	91	3	16	1

SCN – *Staphylococcus* coagulase negativa, SCP – *Staphylococcus* coagulase positiva, AMO – amoxicilina, AMI – amicacina, AMP – ampicilina, CFL – cefalotina, CFX – cefalexina, CFO – ceftiofina, CFT – ceftiofur, CLI – clindamicina, CLO – cloranfenicol, ENO – enrofloxacina, ERI – eritromicina, GEN – gentamicina, NEO – neomicina, NOR – norfloxacina, OXA – oxacilina, PEN – penicilina, SUT – sulfametoxazol-trimetropim, TET – tetraciclina, VAN – vancomicina.

Ao se associarem as espécies de estafilococos (*S. epidermidis*, *S. intermedius* e *S. lugdunensis*) com os antimicrobianos testados, observou-se diferença estatística significativa entre *S. epidermidis* e *S. lugdunensis* com os antimicrobianos amoxicilina, ampicilina e penicilina ( $P < 0,05$ ), o que demonstra que as estirpes de *S. epidermidis* apresentaram maior resistência a esses antimicrobianos do que *S. lugdunensis*. Em relação à associação *S.*

*epidermidis* e *S. intermedius*, observou-se diferença estatística significativa para a amoxicilina e a penicilina ( $P < 0,05$ ), sendo as estirpes de *S. epidermidis* mais resistentes a esses antimicrobianos que *S. intermedius*. Não foi verificada diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) ao se associar *S. lugdunensis* e *S. intermedius* com os antimicrobianos testados (Tab. 3).

Tabela 3. Número e percentual de *S. epidermidis*, *S. intermedius* e *S. lugdunensis* segundo a resistência aos antimicrobianos e a análise estatística – São Paulo – 2015

Espécie de estafilococos	Antimicrobiano			P*		
	AMO	AMP	PEN	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. lugdunensis</i>
<i>S. epidermidis</i>	27 (100%)	21 (77,8%)	27 (100%)	-	-	-
<i>S. intermedius</i>	11 (73,3%)	8 (53,3%)	12 (80%)	AMO: 0,01 AMP: 0,16 PEN: 0,03	-	-
<i>S. lugdunensis</i>	11 (64,7%)	7 (41,2%)	13 (76,5%)	AMO: 0,00 AMP: 0,02 PEN: 0,01	AMO: 0,06 AMP: 0,17 PEN: 0,06	-

AMO – amoxicilina, AMP - ampicilina, PEN – penicilina.

\*Teste de Fisher.

Cabe salientar ainda que todas as espécies de *Staphylococcus* spp. apresentaram resistência a um ou mais antimicrobiano, com exceção de uma cepa de *S. haemolyticus*, que apresentou sensibilidade a todos. Dessa forma, oito estirpes de SCN e três de SCP foram resistentes a um antimicrobiano, e o restante das estirpes de SCN e SCP mostraram multirresistência. Não houve diferença estatística significativa ao se comparar a quantidade de estirpes de SCN e SCP multirresistentes ( $P>0,05$ ), demonstrando que ambas apresentaram multirresistência de forma semelhante.

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos exames microbiológicos corroboram outros autores, que também encontraram maior frequência de SCN em mastite subclínica, Moroni *et al.* (2005) relataram que 80,7% de um total de 156 cabras de dois rebanhos localizados na Itália apresentaram mastite subclínica por SCN, e McDougall *et al.* (2002) identificaram 87,5% de SCN em 40 amostras de leite de cabras com mastite subclínica nos Estados Unidos da América. Já no Brasil, Neves *et al.* (2010) detectaram 83,3% de cabras com mastite subclínica por SCN ao avaliarem um total de 30 cabras, e Silva *et al.* (2005) encontraram 58,3% de SCN ao isolarem 223 amostras de mastite subclínica.

*S. epidermidis* é considerado o principal agente causador de mastite subclínica em caprinos (Contreras *et al.*, 2007). Langoni *et al.* (2006) identificaram 55% de *S. epidermidis* de um total de 109 amostras que apresentaram crescimento bacteriano, e Contreras *et al.* (1999) isolaram, de 121 amostras de mastite subclínica de cabras, 66,7% de *S. epidermidis*, sendo a espécie mais frequentemente encontrada. Neste estudo, *S. epidermidis* foi uma das espécies de estafilococos mais detectadas, assim como *S. lugdunensis* e *S. intermedius*.

Além do *S. epidermidis*, outras espécies de maior ocorrência em mastite subclínica caprina são *S. caprae*, *S. chromogenes*, *S. simulans* e *S. xylosus* (Contreras *et al.*, 2007). Observou-se, neste estudo, uma menor ocorrência de *S. chromogenes* (7,27%) e *S. xylosus* (3,64%) em relação à *S. epidermidis*, *S. lugdunensis* e *S. intermedius*, e não foram isolados *S. caprae* e *S.*

*simulans* nas amostras de leite de cabras com mastite subclínica por *Staphylococcus* spp.

Não são frequentes os relatos de identificação de *S. lugdunensis* em mastite subclínica caprina e, quando detectados, a ocorrência é baixa. Contreras *et al.* (1999) encontraram 3,3% de *S. lugdunensis*, assim como *S. hominis* e *S. aureus*, e Deinhofer e Pernthaner (1995) identificaram 2,3% de *S. lugdunensis* em 303 isolados de *Staphylococcus* spp. Em contrapartida, nesta pesquisa, *S. lugdunensis* foi uma das espécies mais encontradas, corroborando o relato de El-Jakee *et al.* (2013), que identificaram a bactéria em 33% dos isolados de um total de 36 amostras de leite de cabras com mastite subclínica.

Silva *et al.* (2005) relataram 28% de identificação *S. capitis* de um total de 223 amostras com mastite subclínica em cabras. Neste estudo, a espécie não foi uma das mais identificadas e apresentou percentual de 8,18%, sendo a quantidade de isolamentos de *S. capitis* semelhante à de *S. chromogenes* e *S. hominis*. O percentual de *S. chromogenes* e *S. hominis* na presente pesquisa foi de 7,27%, e, diferentemente desses resultados, El-Jakee *et al.* (2013) encontraram 11,1% de *S. hominis*, mas não isolaram *S. chromogenes*.

São escassos os relatos que tratam do isolamento de *S. intermedius* em casos de mastite subclínica caprina. Peixoto *et al.* (2010a) encontraram 7,1% de um total de 154 isolados de mastite caprina e, diferentemente desses, no presente estudo, a espécie foi uma das mais detectadas. *S. aureus*, que é responsável por causar tanto mastite clínica como subclínica, é um patógeno de prevalência baixa em caprinos (Contreras *et al.*, 2003; Contreras *et al.*, 2007), o que pode justificar a baixa ocorrência dele neste trabalho. De acordo com Bergonier *et al.* (2003), a ocorrência de infecções intramamárias em caprinos por *S. aureus* representa em torno de 4%, corroborando o que foi verificado nesta pesquisa (4,55%).

As variações referentes tanto à ocorrência de mastite subclínica em caprinos quanto às diferentes espécies de estafilococos isoladas do leite, explanadas nos parágrafos anteriores, podem ser justificadas pelas práticas de manejo realizadas no rebanho, que variam entre as propriedades. As práticas de manejo não

adequadas durante a ordenha aumentam a incidência de mastites. A aquisição de animais de origem desconhecida, sem serem realizados os procedimentos necessários antes de incorporá-los ao rebanho, bem como a falta de higiene das mãos do ordenhador, são também fatores que podem predispor os caprinos a diferentes espécies de estafilococos isoladas na mastite subclínica, como detectado no presente estudo.

O manejo higiênico-sanitário durante a ordenha é fundamental para a prevenção de mastites, como a realização do pré e pós-*dipping*, utilizando-se desinfetantes apropriados, desinfecção e revisão periódica dos equipamentos de ordenha, higiene do ordenhador e limpeza do ambiente (Contreras et al., 2003; Mota, 2008; Peixoto et al., 2010b). Essas medidas irão promover a redução de microrganismos já existentes, bem como a prevenção de uma nova infecção intramamária por estafilococos, favorecendo uma melhor sanidade do rebanho, com produção de leite e derivados de qualidade satisfatória.

Quanto à sensibilidade antimicrobiana apresentada pelas estirpes isoladas, a maior resistência à penicilina e à ampicilina também foi observada por Neves et al. (2010) ao relatarem maior resistência para a penicilina (66,67%) e a ampicilina (63,89%) em 36 estirpes de SCN isoladas de cabras com mastite subclínica no estado da Paraíba. Também foram coincidentes as estirpes com alta sensibilidade (acima de 90%) à gentamicina e enrofloxacina, diferindo, entretanto, para a oxacilina que, no presente estudo, apresentou maior resistência (66%). A oxacilina é derivada da penicilina, sendo considerada um betalactâmico semissintético, e a resistência desse antimicrobiano às estirpes de estafilococos tem sido relatada como um problema de saúde pública, o que prejudica o tratamento em pacientes com infecções hospitalares (Atique et al., 2012). Essa resistência também tem sido encontrada nos isolados de mastite dos animais (Zafalon et al., 2012), por isso é importante o isolamento, a identificação dos microrganismos e a realização de teste de sensibilidade para o conhecimento do perfil de sensibilidade das estirpes de campo, bem como para a obtenção de um tratamento com resultado satisfatório. Além disso, a utilização de uma terapia adequada evita o uso indiscriminado de antibióticos, que pode favorecer a seleção de microrganismos

resistentes e causar prejuízos para a saúde pública.

Ao se comparar o perfil de sensibilidade das espécies de SCN e SCP, observou-se semelhança para todos os antimicrobianos, exceto para a tetraciclina. Essa semelhança de sensibilidade difere da relatada por Silva et al. (2005), que sugeriram maior resistência do SCN em relação ao SCP para a penicilina e que os SCN têm alta capacidade de desenvolver resistência para a oxacilina. No presente estudo, a resistência à penicilina e à oxacilina foi semelhante para os SCN e os SCP, o que possibilita ressaltar a capacidade dos SCN em também desenvolver resistência, como os SCP, e não deve, portanto, ser um fato negligenciado.

As estirpes de *S. epidermidis* apresentaram maior resistência para amoxicilina, ampicilina, penicilina e oxacilina. Ao se associar o *S. epidermidis* com *S. lugdunensis*, o primeiro foi mais resistente à amoxicilina, ampicilina e penicilina, e quando associado ao *S. intermedius*, o *S. epidermidis* apresentou maior resistência para amoxicilina e penicilina. Moroni et al. (2005), ao avaliarem a suscetibilidade antimicrobiana de cabras com mastite subclínica por *S. epidermidis*, verificaram que a amoxicilina obteve menor eficácia para essa espécie de estafilococos, o que corrobora o resultado encontrado neste estudo, já que a amoxicilina foi um dos antimicrobianos ao qual o *S. epidermidis* apresentou resistência. Vale ressaltar que, neste estudo, essa espécie de estafilococos apresentou alta resistência para amoxicilina e penicilina, com todas as estirpes resistentes (100%).

A multirresistência a antimicrobianos das estirpes estudadas ocorreu de forma semelhante, independentemente de ser SCN ou SCP. Mais uma vez, cogita-se a possibilidade do uso abusivo de antimicrobianos na terapêutica animal, fato que já vem sendo descrito em pesquisas sobre mastite subclínica em cabras e outras espécies animais (Machado et al., 2008; Peixoto et al., 2010a; Viridis et al., 2010; Lucheis, 2011).

Com base nos resultados observados neste estudo, é possível verificar que há cepas de estafilococos resistentes aos antimicrobianos testados, por isso é importante o controle do uso indiscriminado desses medicamentos. A adoção

de um programa permanente de monitoramento e diagnóstico dos casos de mastite nas propriedades, com identificação bacteriana e teste de sensibilidade aos antimicrobianos, é uma forma de controle e prevenção de infecções intramamárias, além de reduzir o surgimento de resistência aos antibióticos. Esse programa irá promover tanto o conhecimento da situação sanitária do rebanho e, conseqüentemente, das medidas de manejo necessárias para o controle, como também a terapêutica mais adequada para o sucesso do tratamento da mastite.

### CONCLUSÃO

Os resultados identificaram maior ocorrência de *Staphylococcus* spp. em amostras de leite de cabras com mastite subclínica, principalmente *S.epidermidis*, *S. lugdunensis* e *S. intermedius*, bem como uma resistência *in vitro* semelhante entre os estafilococos coagulase negativa e positiva para a maioria dos antimicrobianos testados. Enfatiza-se o controle do uso abusivo de antimicrobianos, evitando-se o surgimento de cepas resistentes que, além de dificultarem a terapêutica animal, também causam prejuízos à saúde pública.

Esta publicação recebeu o apoio financeiro da CAPES.

### REFERÊNCIAS

- ATIQUÊ, T.S.C.; LIMA, T.A.M.; SOUZA, V.A. *et al.* Sensibilidade à metilina/oxacilina de *Staphylococcus aureus* isolados da mucosa nasal de alunos do Centro Universitário de Rio Preto. *Rev. Bras. Farm.*, v.93, p.347-352, 2012.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility tests by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.45, p.493-496, 1966.
- BERGONIER, D.; CRÉMOUX, R.; RUPP, R. *et al.* Mastitis of dairy small ruminants. *J. Vet. Res.*, v.34, p.689-716, 2003.
- BIASE, N.G.; FERREIRA, D.F. Comparações múltiplas e testes simultâneos para parâmetros binomiais de k populações independentes. *Rev. Bras. Biom.*, v.27, p.301-323, 2009.
- CHU, C.; YU, C.; LEE, Y.; SU, Y. Genetically divergent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and sec-dependent mastitis of dairy goats in Taiwan. *BCM Vet. Res.*, v.8, p.39-50, 2012.
- CONTRERAS, A.; LUENGO, C.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J.C. The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livest. Prod. Sci.*, v.79, p.273-283, 2003.
- CONTRERAS, A.; PAAPE, M.J.; MILLER, R.H. Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herd. *Small Rumin. Res.*, v.31, p. 203-208, 1999.
- CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A. *et al.* Mastitis in small ruminants. *Small Rumin. Res.*, v.68, p.145-153, 2007.
- DEINHOFER, M.; PERNTNER, A. *Staphylococcus* spp. as mastitis – related pathogens in goat milk. *Vet. Microbiol.*, v.43, p.161-166, 1995.
- EL-JAKEE, J.K.; AREF, N.E.; GOMAA, A. *et al.* Emerging of coagulase negative staphylococci as a cause of mastitis in dairy animals: an environmental hazard. *Int. J. Vet. Sci. Med.*, v.1, p.74-78, 2013.
- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M. *et al.* *Diagnóstico microbiológico*. 5.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. p.551-588.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; BALDINI, S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Rev. Bras. Cienc. Vet.*, v.13, p.51-54, 2006.
- LENNETTE, E.M.; BALOWS, A.; HANSLER JR., W.J. *Manual of clinical microbiology*. 4.ed. Washington: American Society of Microbiology, 1985. 254p.
- LUCHEIS, S.B. A importância dos estafilococos coagulase negativos na mastite bovina subclínica e resistência antimicrobiana. *Pesqui. Tecnol.*, v.8, 2011. Disponível em: <<http://www.aptaregional.sp.gov.br>>. Acessado em: 13 jan. 2014.
- MACHADO, T.R.O.; CORREA, M.G.; MARIN, J.M. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from mastitic cattle in Brazil. *Arq. Bras. Med. Zootec.*, v.60, p.278-282, 2008.



- MCDougall, S.; Pankey, W.; Delaney, C. et al. Prevalence and incidence of subclinical mastitis in goats and dairy ewes in Vermont, USA. *Small Rumin. Res.*, v.46, p.115-121, 2002.
- MORONI, P.; PISONI, G.; ANTONINI, M. et al. Subclinical mastitis and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus caprae* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from two Italian goat herds. *J. Dairy Sci.*, v.88, p.1694-1704, 2005.
- MOTA, R.A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. *Tecnol. Ciênc. Agropecu.*, v.2, p.57-61, 2008.
- MURRAY, P.R.; BARON, E.; PFALLER, M.A. et al. *Manual of clinical microbiology*. 7.ed. Washington: Asm Press, 1999. p.262-282.
- NEVES, P.B.; MEDEIROS, E.S.; SÁ, V.V. et al. Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, p.379-384, 2010.
- PEIXOTO, R.M.; FRANÇA, C.A.; JÚNIOR, A.F.S. et al. Etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos da mastite em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.30, p.735-740, 2010a.
- PEIXOTO, R.M.; MOTA, R.A.; COSTA, M.M. Mastite em pequenos ruminantes no Brasil. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.30, p.754-762, 2010b.
- PUGH, D.G. *Clínica de ovinos e caprinos*. São Paulo: Roca, 2005. 513p.
- SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. *Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite*. Barueri, SP: Manole, 2007. 314p.
- SCHALM, O.W.; CARROLL, E.J.; JAIN, N.C. *Bovine mastitis*. Philadelphia: Lea e Febiger, 1971. 360p.
- SILVA, E.R.; ARAÚJO, A.M.; ALVES, F.S.F.A. et al. Associação entre o California Mastitis Test e a Contagem de Células Somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.38, p.46-48, 2001.
- SILVA, E.R.; DIAS, J.U.; BOECHAT, J.C.D.M. et al. Hemolysin production by *Staphylococcus aureus* species isolated from mastitic goat milk in Brazilian dairy herds. *Small Rumin. Res.*, v.56, p.271-275, 2005.
- VIRDIS, S.; SCARANO, C.; COSSU, F. et al. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci isolated from goats with subclinical mastitis. *Vet. Med. Int.*, v.2010, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4061/2010/517060>>. Acessado em: 10 mar. 2014.
- ZAFALON, L.F.; VERISSIMO, C.J.; MAMIZUKA, E.M. et al. Estafilococos resistentes à oxacilina isolados em casos de mastite subclínica em ovinos. *Arq. Inst. Biol.*, v.79, p.1-7, 2012.