

Resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus* spp. associados à mastite bovina
(*Resistance to antimicrobials in *Staphylococcus* spp. associated in bovine mastites*)

MORITZ, Fábio¹; MORITZ, Cristiane Mengue Feniman²

¹Médico Veterinário, Graduado, Av. Ângelo Moreira da Fonseca, 1800, Parque Danielle, CEP 97506-370 – Umuarama, PR, Brasil, fabiomoritz@yahoo.com.br

²Tecnóloga de Alimentos, Doutora, Av. Ângelo Moreira da Fonseca, 1800, Parque Danielle, CEP 97506-370 – Umuarama, PR, Brasil

*Autor para correspondência: crisfeniman@yahoo.com.br

Artigo enviado em 01/12/2016, aceito para publicação em 29/03/2017

DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v3i2.34435>

RESUMO

A mastite é a principal afecção do gado leiteiro brasileiro, constituindo um fator limitante na produtividade das propriedades rurais. A mastite é causada principalmente por bactérias e consiste em um processo infeccioso e inflamatório da glândula mamária, acarretando em modificação da composição do leite *in natura* com aumento da contagem de células somáticas. A adoção de boas práticas para uma ordenha higiênica é apontado como método eficaz e de baixo custo para o controle e prevenção da mastite. No entanto, para o tratamento clínico é importante a identificação do agente patogênico e o monitoramento de sua resistência aos antimicrobianos nos casos de mastite subclínica. O uso incorreto e indiscriminado de antimicrobianos tem acarretado na ocorrência de agentes patogênicos multirresistentes, tornando-se um risco a saúde humana e animal.

Palavras-chave: leite, ordenha higiênica, saúde animal.

ABSTRACT

Mastitis is the main condition of the Brazilian dairy cattle, being a limiting factor in the productivity of farms. Mastitis is mainly caused by bacteria and consists of an infectious and inflammatory process of the mammary gland, resulting in modification of the composition of milk *in natura* with increased somatic cell count. The adoption of good practices for hygienic milking is touted as effective and cost-effective for the control and prevention of mastitis. However, for clinical treatment it is important to identify the pathogen and monitoring their antimicrobial resistance in cases of subclinical mastitis. The incorrect and indiscriminate use of antibiotics has resulted in the occurrence of multiresistant pathogens, making it a risk to human and animal health.

Keywords: milk, hygienic milking, animal health.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é um processo infeccioso e inflamatório da glândula mamária, acarretando em modificação da composição do leite *in natura* com aumento da contagem de células somáticas.

O alto índice de células somáticas no leite decorre principalmente do aumento de neutrófilos e constitui-se como o principal parâmetro utilizado para avaliar a sanidade do tecido mamário infeccionado (LAZZARI *et al.*, 2014a).

Para melhor eficiência no tratamento de mastite, além de detectar-se o agente infeccioso, é importante o monitoramento do perfil de resistência aos antibióticos do isolado microbiano, para então estabelecer a escolha mais adequada do antimicrobiano

a ser utilizado na terapia. O uso incorreto e indiscriminado de antimicrobianos é um dos principais fatores para a saúde humana e animal em função das falhas terapêuticas e aumento das taxas de resistência microbiana (COSTA *et al.*, 2013).

Esta revisão teve o objetivo de abordar a associação de casos de mastite com o gênero *Staphylococcus* e relacionar os mecanismos de resistência desses micro-organismos aos antimicrobianos.

DESENVOLVIMENTO

Durante o processo infeccioso causado por mastite, os animais apresentam elevação da concentração da citocina pró-inflamatória interleucina-

1 β (1L-1 β) que provoca uma resposta sistêmica do processo inflamatório (LAZZARI *et al.*, 2014a).

Lazzari *et al.* (2014b) observaram que após a inoculação com *Staphylococcus aureus* na glândula mamária, 100% das vacas em estudo e 83,3% das búfalas em estudo apresentaram o sinal clínico de febre (temperatura superior a 39,6°C), decorrente do processo inflamatório/infeccioso, no qual o patógeno adere-se e multiplica-se no local afetado, produzindo substâncias citotoxigênicas que danificam o tecido mamário secretor, além de induzir a produção de enzimas pró-inflamatórias pelos leucócitos, que provocam danos nas células epiteliais das glândulas mamárias. Essa reação inflamatória das glândulas mamárias provocou a alteração da aparência e da consistência, justificando a queda acentuada na produção de leite.

A associação de espécies de *Staphylococcus* coagulase negativos como agentes causadores de mastite tem se tornado comum em vários países e esse grupo microbiano pode ser considerado como emergente, causando mastite principalmente em vacas jovens (PYÖRÄLÄ E TAPONEN, 2009). Marques *et al.* (2013) detectaram estafilococos coagulase negativos em 58% das amostras de leite proveniente de animais com mastite na região Sul-Fluminense do Estado do Rio de Janeiro – Brasil. Nas demais amostras foi identificada a presença de *S. aureus* como agente patogênico.

Mendonça *et al.* (2012), também na região Sul-Fluminense do Estado do Rio de Janeiro – Brasil, encontraram linhagens de estafilococos coagulase negativos em 58% dos casos de mastite estudados, evidenciando a atual emergência desse grupo bacteriano como causadores de mastite bovina. E dentre as linhagens de coagulase positivos, confirmaram *S. aureus* como espécie prevalente, representando 36,2% dos casos.

Soares *et al.* (2012) avaliaram 450 animais na região do Estado do Rio de Janeiro – Brasil e 228 foram positivos no teste de CMT para mastite bovina.

Das amostras de leite coletadas das vacas com mastite foram isolados 100 linhagens de estafilococos coagulase negativos, sendo 70% *S. xylosus*, 10% *S. cohnii*, 8% *S. hominis*, 7% *S. captis* e 5% *S. haemolyticus*.

Dentre as classes de antimicrobianos, os beta-lactâmicos são utilizados frequentemente no tratamento das infecções estafilocócicas em bovinos. Seu mecanismo de ação consiste na inibição de enzimas com função de transpeptidases, que atuam nas etapas finais da formação da parede celular bacteriana (PRIBUL *et al.*, 2011). Um dos mecanismos de resistência aos beta-lactâmicos é a produção da enzima extracelular beta-lactamase que hidrolisa o anel beta-lactâmico tornando os beta-lactâmicos inativos na sua ação. A produção de beta-lactamase é codificada pelo gene *blaZ* (LOWY, 2003). Uma alternativa proposta em 1960, para a atividade antimicrobiana contra *S. aureus* produtoras de beta-lactamase, foi o uso de meticilina, com anel beta-lactâmico sintético, não susceptível à beta-lactamase produzida por cepas de *S. aureus* resistentes à penicilina. No entanto, em 1970 foram evidenciadas cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (SANTOS *et al.*, 2007).

Em 65,6% dos isolados de *Staphylococcus* spp., Krewer *et al.* (2013) observaram a resistência simultânea a três ou mais drogas em casos de mastite com ocorrências nos Estados da Bahia e de Pernambuco – Brasil, demonstrando a importância de teste de susceptibilidade a antimicrobianos, anteriormente a escolha para utilização adequada de antimicrobianos a fim de evitar a questão de resistência microbiana no tratamento da mastite. Na maioria das propriedades estudadas por esses autores, os beta-lactâmicos foram as principais drogas de escolha para o tratamento de infecções intramamárias, sendo que o uso frequente e muitas vezes inadequado desses medicamentos provavelmente tenha contribuído para seleção de bactérias resistentes nos rebanhos. Por outro lado, os micro-organismos demonstraram susceptibilidade percentuais superiores a 80% para os

Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v. 3, n. 2, p. 132-136, 2016

demais fármacos avaliados, especialmente cefalexina, gentamicina e enrofloxacina, antibióticos de amplo espectro de ação.

Coelho *et al.* (2009) constataram que 47% e 25% de linhagens de *Staphylococcus aureus* isoladas de vacas com mastite no Estado do Rio de Janeiro – Brasil foram resistentes à penicilina e oxacilina, respectivamente. E todos os isolados resistentes à oxacilina apresentavam o gene *mecA*. Pribul *et al.* (2011), em 25 propriedades leiteiras situadas na região Sul Fluminense e adjacências do Estado do Rio de Janeiro, isolaram 30 linhagens de *Staphylococcus aureus* de amostra de leite ordenhado de vacas positivas no teste de CMT e 21 linhagens foram positivas para o gene *mecA* e 29 linhagens eram produtoras de beta-lactamases. Oito isolados foram considerados multirresistentes por apresentarem resistência a um mínimo de 4 drogas testadas.

O gene *mecA* é o gene responsável pela resistência à meticilina e faz parte de um elemento genético móvel encontrado em todas as estirpes de *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (LOWY, 2003). Esse gene *mecA* codifica uma proteína ligante de penicilina de baixa afinidade, a PBP2a ou PBP2' (MENDONÇA *et al.*, 2012). A PBP2a ou a PBP2' substitui as outras PBPs, enzimas ligadas à membrana citoplasmática responsáveis pela reação de transpeptidação, necessária para as ligações cruzadas entre as cadeias de peptidoglicano para a formação da parede celular. Devido a baixa afinidade da PBP2a ou PBP2' com todos os antibióticos β -lactâmicos, as MRSA sobrevivem à exposição de elevadas concentrações desses agentes antimicrobianos (LOWY, 2003).

Em estafilococos coagulase negativos, Soares *et al.* (2012) detectaram o gene *blaZ* em 16% das linhagens isoladas de vacas com mastite e todos os isolados apresentavam o gene *mecA*. A presença de ambos os genes foi correlacionada com a resistência fenotípica aos beta-lactâmicos, sendo que a resistência foi de 79% para penicilina e ampicilina, 64% para

tetraciclina, 29% para oxacilina, 15% para gentamicina, 7% para cefalotina, 2% para enrofloxacina e sensibilidade para ampicilina-sulbactam, vancomicina e trimetoprim-sulfametoxazol.

Costa *et al.* (2013) avaliaram o perfil de resistência a antimicrobianos em *S. aureus* isolados de mastite bovina em 35 rebanhos leiteiros localizados no Estado de Minas Gerais – Brasil. Não encontraram resistência das linhagens isoladas de *S. aureus* para nitrofurantoína e associações de: neomicina, bactracina e tetraciclina (NBT); e penicilina, nafcilina e dihidroestreptomicina (PND). Baixos índices de resistência foram encontrados no grupo das cefalosporinas (0% para cefquimona, 0,28% para cefalotina e 0,40% para ceftiofur) e no grupo dos aminoglicosídeos (1,69% para gentamicina e 3,35% para neomicina). No entanto, foi observada resistência aos beta-lactâmicos (80,92% para ampicilina e 80,45% para penicilina).

A presença de isolados microbianos multirresistentes no leite bovino e em isolados clínicos mostra a importância da escolha e a utilização de agentes antimicrobianos adequados para o tratamento efetivo da mastite (KREWER *et al.*, 2013).

Medeiros *et al.* (2009) evidenciaram a necessidade da realização de testes de sensibilidade *in vitro* (antibiograma) para a melhor indicação do antibiótico a ser utilizado no tratamento de animais acometidos de mastite, possibilitando o aperfeiçoamento de programas de controle de mastite bovina causada por *Staphylococcus* spp. Costa *et al.* (2013) apontaram que podem ocorrer variações nos perfis de resistência dos isolados microbianos entre rebanhos e no próprio rebanho, o que evidencia a necessidade de monitoramento periódico do perfil de susceptibilidade dos diferentes micro-organismos envolvidos na etiologia da mastite bovina. Assim, é possível acompanhar evolução dos índices de resistência e adequação terapêutica.

O isolamento de linhagens de *S. aureus* multirresistentes é um difícil problema para estabelecer

uma terapêutica eficiente e mostra-se com exemplo da eficácia decrescente dos agentes antimicrobianos para o tratamento de infecções bacterianas. Essa tendência é alarmante particularmente para o *S. aureus*, especificamente em função da severidade da doença causada e da diversidade desse agente patogênico. Mesmo que ainda existem antimicrobianos efetivos, provavelmente a eficácia pode tornar-se cada vez mais limitada. Desse modo, novas abordagens terapêuticas e de prevenção tornam-se importantes com o decréscimo de opções antimicrobianas susceptíveis (LOWY, 2003).

A importância da implantação do sistema de pagamento por qualidade para o leite *in natura* foi constatada por Paiva *et al.* (2012), quando acompanharam a evolução anual da qualidade do leite cru processado em uma indústria de Minas Gerais. A diminuição da contagem bacteriana total do leite pode ser o primeiro parâmetro a ser alcançado pelo produtor quando mudanças necessárias são implantadas em função do programa de pagamento do leite por qualidade. Tais mudanças são de baixo custo (PAIVA *et al.*, 2012), como procedimentos de higienização de utensílios, equipamentos e operadores/ordenhadores, limpeza e desinfecção do úbere dos animais, realização do *pré-dipping* através da imersão da superfície tetos do animal em solução sanificante por 20 a 30 segundos, seguida de secagem com papel toalha descartável e *pós-dipping* - imersão da superfície tetos do animal em solução sanificante (BRASIL, 2011).

Cerqueira e Almeida (2013) destacaram a importância em demonstrar a presença de MRSA em alimentos de origem animal com o objetivo de despertar o alerta às autoridades de saúde pública e da agropecuária sobre a necessidade de acompanhamento da adoção de práticas e medidas de controle, tanto no manejo de animais, como em toda a cadeia produtiva de alimentos. Desse modo, é possível diminuir o risco de transmissão de micro-organismos multirresistentes à espécie humana e bovina.

CONCLUSÕES

Como o principal agente causador da mastite, destaca-se a espécie *Staphylococcus aureus*. No entanto, linhagens estafilococos coagulase negativos têm sido detectadas como agentes emergentes causadores de mastite.

Apesar da adoção de boas práticas para uma ordenha higiênica, apontada como método eficaz e de baixo custo para o controle e prevenção da mastite, ressalta-se a importância do manejo adequado associado à escolha adequada de um antimicrobiano eficaz para o tratamento de mastite, evitando a possibilidade de resistência microbiana no rebanho, tornando-se um risco a saúde humana e animal.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, de Leite Cru Refrigerado, de Leite Pasteurizado e da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União, Brasília, 29 de dezembro de 2011.
- CERQUEIRA, E. S.; ALMEIDA, R. C. C. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) em alimentos de origem animal: uma revisão sistemática. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, n. 4, p. 268-281, out.-dez., 2013.
- COELHO, S. M. O. et al. Virulence factors and antimicrobial resistance of *S. aureus* isolated from bovine mastitis in Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 369-374, maio 2009.
- COSTA, G. M. et al. Resistência a antimicrobianos em *S. aureus* isolados de mastite em bovinos leiteiros de Minas Gerais, Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 80, n. 3, p. 297-302, jul.-set. 2013.
- KREWER, C. C. et al. Etiology, antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus* spp. and risk factors associated with bovine mastitis in the states of

- Bahia and Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.5, p.601-606, maio 2013.
- LAZZARI, A. M. et al. Produção de interleucina-1 beta e severidade da mastite pós-inoculação de *S. aureus* na glândula mamária de bovinos e bubalinos. **Ciência Rural**, v. 44, n. 10, p. 1816-1822, out. 2014a.
- LAZZARI, A. M. et al. Aspectos clínicos e laboratoriais da mastite induzida por inoculação intramamária de *S. aureus* em vacas e búfalas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n 5 p. 1299-1307, out. 2014b.
- LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *S. aureus*. **Journal of Clinical Investigation**, v. 111, n. 9, p. 1265-1273, May 2003.
- MARQUES, V. F. et al. Análise fenotípica e genotípica da virulência de *S. spp.* e de sua dispersão clonal como contribuição ao estudo da mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 161-170, fev. 2013.
- MEDEIROS, E. S. et al. Perfil de sensibilidade microbiana in vitro de linhagens de *Staphylococcus* spp. isoladas de vacas com mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 7, p. 569-574, jul. 2009.
- MENDONÇA, E. C. L. et al. Caracterização fenogenotípica da resistência antimicrobiana em *S. spp.* Isolados de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 859-864, set. 2012.
- PAIVA, C. A. V. et al. Evolução anual da qualidade do leite cru refrigerado processado em uma indústria de Mina Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 2, p. 471-478, abr. 2012.
- PRIBUL, B. R. et al. Resistência bacteriana e ação das bacteriocinas de *Lactobacillus* spp em *S. aureus* isolados de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 744-748, jun. 2011.
- PYÖRÄLÄ, S.; TAPONEN, S. Coagulase-negative staphylococci – emerging mastitis pathogens. **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1-2, p. 3-8, Feb. 2009.
- SANTOS, A. L. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, dez. 2007.
- SOARES, L. C. et al. Antimicrobial resistance and detection of *mecA* and *blaZ* genes in coagulase-negative *Staphylococcus* isolated from bovine mastitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 8, p. 692-696, ago. 2012.