

PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE *STAPHYLOCOCCUS*
COAGULASE POSITIVOS ISOLADOS DE LEITE DE VACAS COM
MASTITE NO AGRESTE DO ESTADO DE PERNAMBUCO*

**M.F.L. de Freitas^{1,3}, J.W. Pinheiro Júnior², T.L.M. Stamford¹, S.S. de A. Rabelo², D.R. da Silva²,
V.M. da Silveira Filho³, F.G.B. Santos³, M.J. de Sena², R.A. Mota²**

¹Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, Av. Prof. Moraes Rêgo, 1235, CEP 50670-901, Recife, PE, Brasil. E-mail: manuelafllf@uol.com.br

RESUMO

A mastite, inflamação da glândula mamária, é uma das principais doenças da bovinocultura de leite tendo como principal agente infeccioso bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. que comumente apresentam resistência aos antibióticos utilizados no tratamento da mastite. Desta forma, objetivou-se com este estudo traçar o perfil de sensibilidade antimicrobiana de 59 cepas de estafilococos coagulase positivo, isolados de amostras de leite de vaca com mastite. Os testes de sensibilidade antimicrobiana foram realizados através da técnica de difusão com discos para 13 antibióticos, verificando-se que os mais eficazes foram a vancomicina com 100% de sensibilidade e a norfloxacin com 96%. O menos eficaz foi a penicilina com 20% de sensibilidade. Em alguns municípios estudados as cepas de estafilococos apresentaram resistência múltipla para 6 a 9 antibióticos simultaneamente. Conclui-se que a análise da sensibilidade antimicrobiana *in vitro* deve ser considerada pelos proprietários antes da tomada de decisões para a escolha do tratamento adequado para reduzir perdas na produção de leite e em programas de controle da doença em questão.

PALAVRAS-CHAVE: *Staphylococcus* spp., sensibilidade antimicrobiana, mastite, bovinos.

ABSTRACT

PROFILE OF *IN VITRO* ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF COAGULASE-POSITIVE *STAPHYLOCOCCUS* ISOLATED FROM COWS' MILK WITH MASTITIS IN THE RURAL AREA OF THE STATE OF PERNAMBUCO. Mastitis, inflammation of the mammary gland, is one of the main diseases of milk cattle, having as the main infectious agent the *Staphylococcus* spp. bacteria, which commonly presents resistance to the antibiotics used in the treatment of mastitis. For this reason, this study was aimed at drawing the profile of anti-microbial sensibility of 59 strains of coagulase-positive *staphylococcus*, isolated from samples of cow milk with mastitis. The tests of anti-microbial sensibility were accomplished through a diffusion technique with disks for 13 antibiotics, it being verified that the most effective were vancomycin with 100% of susceptibility and norfloxacin with 96%. The least effective was penicillin with 20% of susceptibility. In some of the studied countries the *staphylococcus* strains presented multiple resistance to from 6 to 9 antibiotics simultaneously. The conclusion is that the analysis of the anti-microbial susceptibility *in vitro* should be considered by the proprietors before taking decisions about the choice of the appropriate treatment in order to reduce losses in the production of milk and in control programs of the disease in question.

KEY WORDS: *Staphylococcus* spp., antimicrobial susceptibility, bovine, mastitis.

INTRODUÇÃO

Mastite é a denominação do processo inflamatório da glândula mamária. Sua etiologia pode ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica e infecciosa,

sendo as causas infecciosas as principais, destacando-se as de origem bacteriana. Os patógenos causadores de mastite têm sido classificados em grupos diferentes: contagiosos e ambientais. Os chamados contagiosos necessitam do animal para a sobrevivência,

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, PE, Brasil.

³Fiocruz, Centro de Pesquisas "Aggeu Magalhães", Departamento de Microbiologia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Apoio financeiro: Banco do Nordeste do Brasil.

cia, multiplicam-se na glândula mamária, canal do teto ou sobre a pele, são transmitidos de uma vaca infectada ou quarto mamário infectado para uma vaca sadia ou quarto sadio, principalmente durante a ordenha. Os patógenos ambientais são oportunistas, estão presentes no ambiente em que o animal vive e a infecção pode ocorrer no período entre ou durante a ordenha (COSTA, 1998).

Os microrganismos mais comuns em casos de mastite bovina são *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium spp.*, *Escherichia coli*, *Nocardia spp.* e *Prototheca zopfii* (BRABES *et al.*, 1999).

Dentre os patógenos contagiosos, *Staphylococcus aureus* é o mais freqüente nos casos de mastite bovina (ZSCHÖCK *et al.*, 2000). Possui vários fatores de virulência que contribui para sua persistência no tecido mamário e, embora medidas preventivas que visam o controle das mastites sejam amplamente praticadas, as mastites causadas por este patógeno ainda são bastante comuns (PHILPOT, 1984; SANTOS *et al.*, 2003).

S. aureus é mundialmente conhecido como agente causador de várias doenças purulentas tanto em humanos como em animais (BEAN & GRIFFIN, 1990) sendo também, uma das causas mais importantes de intoxicação alimentar (PENNA *et al.*, 1998), devido a produção de várias enterotoxinas (OMCE *et al.*, 2002). Desta forma, o leite e produtos derivados são importantes veículos de *S. aureus* comumente estão envolvidos em surtos de intoxicação alimentar (BERGDOLL, 1989).

As infecções intramamárias são freqüentes e importantes em bovinos leiteiros, sendo responsáveis por grandes prejuízos à pecuária leiteira pois ocasionam redução na produção de leite, gastos com medicamentos e assistência veterinária, descarte de leite contaminado após tratamento e descarte precoce de animais doentes (COSTA *et al.*, 1999). Além disso, as mastites adquirem importância para a saúde pública pela possibilidade de veiculação de microrganismos, toxinas e resíduos de antimicrobianos no leite (COSTA, 1998).

S. aureus além de ser responsável por grandes prejuízos à pecuária leiteira, apresenta resistência a diversos antibióticos utilizados rotineiramente no tratamento desta doença. Desta forma, é de grande importância o isolamento e identificação desse agente em laboratórios e a análise *in vitro* da sensibilidade antimicrobiana para um melhor controle através de terapêutica adequada. Segundo BRITO *et al.* (2001), diversos estudos que tratam da susceptibilidade a antimicrobianos de patógenos da mastite bovina no Brasil apontam para um aumento crescente no padrão de resistência, principalmente para *S. aureus*, o agente mais freqüentemente isolado.

Os resíduos de antibióticos no leite podem aparecer devido ao tratamento parenteral e ou intramamário

de animais em lactação e representam o principal ponto crítico de controle de contaminação química no leite. Os riscos à saúde do consumidor são apresentados principalmente pelo desencadeamento de fenômenos alérgicos em indivíduos sensíveis, pelos efeitos tóxicos e carcinogênicos, por alterações no equilíbrio da microbiota intestinal e pela seleção de bactérias resistentes no trato digestivo dos consumidores (MANSUR *et al.*, 2003).

Diante do exposto, este trabalho teve como finalidade verificar quais são os microrganismos mais freqüentes em casos de mastite bovina e avaliar a sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de amostras de *Staphylococcus coagulase positivo* para contribuir com os estudos de etiologia, tratamento e controle desta doença em diferentes municípios da região do Agreste do Estado de Pernambuco.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 246 animais procedentes de 11 propriedades de exploração leiteira dos Municípios de Angelim (Município A), São Bento do Una (Município B), Caetés (Município C) e Correntes (Município D), localizados no Agreste do Estado de Pernambuco.

Nos rebanhos estudados o sistema de criação era semi-intensivo, sendo os animais alimentados à base de concentrado e volumoso e recebendo água procedente de poços e açudes, com produção média diária de 7,5 L de leite por animal. Os animais eram ordenhados uma ou duas vezes ao dia, pelo sistema de ordenha manual ou mecânica (Municípios A e B) ou apenas manual (Município C e D). A raça predominante nos rebanhos leiteiros estudados era holandesa, porém em algumas propriedades observou-se a utilização de animais da raça girolanda, guzerá leiteiro e seus mestiços.

Após prévia lavagem do úbere com água e sabão, secagem com papel toalha e anti-sepsia do óstio da teta com álcool a 70° GL as amostras de leite foram colhidas dos quartos mamários com mastite clínica, positivos ao teste da caneca telada, e daquelas com mastite subclínica, positivos ao *California Mastitis Test* (CMT) (SCHALM & NOORLANDER, 1957). Colheu-se aproximadamente 5 mL de leite, em frascos com tampa rosqueável, estéreis e previamente identificados com o nome ou número do animal e do quarto mamário, sendo enviadas sob refrigeração ao Laboratório de Doenças Infecto-Contagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, para serem devidamente processadas.

A lactocultura foi realizada em placas contendo Ágar Base, acrescido de 8% (v/v) de sangue ovino desfibrinado e Ágar Levine. As placas foram incubadas em aerobiose a 37° C por 72h, sendo analisadas a cada 24h.

Observaram-se características de crescimento das colônias em placa, como produção de hemólise, pigmento e características morfo-tintórias utilizando o método de coloração pela técnica de Gram. Para a identificação de *S. aureus* todas as cepas de estafilococos foram submetidas aos testes de produção de coagulase livre (Plasma Coagulase EDTA, Coagu-Plasma LB - Laborclin, Brasil), termonuclease (Tnase - Ágar Azul de Orto-toluidina-DNA) e catalase, segundo SILVA *et al.* (1997). As provas de produção de acetoina, fermentação da glicose (aerobiose) e do manitol (aerobiose e anaerobiose) foram realizadas segundo MAC FADDIN (1980). Sendo os isolados classificados de acordo com BAIRD-PARKER (1990).

A identificação de outras bactérias Gram-positivas foi realizada segundo QUINN *et al.* (1994) e para as enterobactérias foram utilizadas as seguintes provas bioquímicas: produção de urease, reação em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), teste de VM/VP (VM - reação de Vermelho de Metila; VP - reação de Voges-Proskauer), teste em Ágar SIM (S - produção de H₂S; I - produção de Indol; M - motilidade) e teste em Ágar Citrato (utilização do carbono do citrato), sendo identificadas de acordo com CARTER (1988).

Os testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* dos isolados de *S. aureus* e outros estafilococos coagulase positivos foram realizados utilizando a técnica de difusão em ágar segundo BAUER *et al.* (1966) em Ágar Müeller Hinton, utilizando os seguintes discos impregnados de antibióticos: amoxicilina (10 µg), bacitracina (10 U.I.), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 µg), enrofloxacin (5 µg), gentamicina (10 µg), lincomicina (2 µg), norfloxacin (10 µg), novobiocina (30 µg), oxacilina (1 µg), penicilina (10 U.I.), sulfa (25 µg) + trimetoprim (5 µg), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados 246 animais, totalizando 984 quartos mamários. Destes, 10 (1,0%) apresentaram mastite clínica, 562 (57,1%) mastite subclínica e 412 (41,9%) foram negativos.

Correlacionando o teste do CMT com o exame microbiológico, verificou-se que dos 562 quartos mamários com mastite subclínica, ou seja, reagentes ao CMT, 356 (63,3%) foram positivos ao exame microbiológico e 206 (36,7%) foram negativos. Os resultados positivos no CMT, mas negativos no exame microbiológico, pode indicar um processo inflamatório de etiologia não bacteriana, pois segundo COSTA *et al.* (1996), o CMT é um método auxiliar de boa correlação com o exame microbiológico, porém o processo inflamatório pode não ser de origem infecciosa.

Tabela 1 - Microrganismos isolados de leite de vacas com mastite em municípios do Agreste do Estado de Pernambuco, 2005.

Microrganismos	FA	FR
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	172	36,0%
<i>Corynebacterium</i> spp.	166	34,8%
<i>Staphylococcus aureus</i>	65	13,6%
<i>Bacillus</i> spp.	25	5,3%
<i>Micrococcus</i> spp.	19	4,0%
<i>Streptococcus</i> spp.	18	3,8%
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	7	1,5%
<i>Enterobacter</i> spp.	3	0,6%
<i>Escherichia coli</i>	2	0,4%
Total	477	100,0%

FA - Frequência Absoluta n

FR - Frequência Relativa.

Mesmo apresentando alguns resultados positivos no CMT mas que não indique processo infeccioso, este teste deve ser rotineiramente executado para que medidas no manejo dos animais e na linha de ordenha sejam adotadas para garantir máxima produção e qualidade do leite.

Os microrganismos isolados das 572 amostras de leite de vaca com mastite encontram-se na Tabela 1, verificando-se que os agentes mais prevalentes nos casos de mastite bovina no Agreste do Estado de Pernambuco foram *Staphylococcus* coagulase negativa 36%, *Corynebacterium* spp. 34,8% e *S. aureus* 13,6%, corroborando com achados de PITKÄLÄ *et al.* (2004) que observaram que o agente etiológico mais prevalente nos casos de mastite bovina na Finlândia foi *Staphylococcus* coagulase negativa (49,6%) seguido por *Corynebacterium bovis* (34,4%).

Segundo GENTILINI *et al.* (2002) atualmente os estafilococos coagulase negativo têm recebido maior importância como agentes causadores de infecções intramamárias em bovinos leiteiros em todo o mundo.

COSTA *et al.* (1995) observaram que o agente etiológico mais prevalente nos casos de mastite bovina em propriedades nos Estados de São Paulo e Minas Gerais foi *Staphylococcus* spp. (34,09%), porém BRITO *et al.* (1999) verificaram maior prevalência para *Corynebacterium* spp. (55,2%) como agente etiológico de mastite bovina em rebanhos localizados na Zona da Mata e Campo das Vertentes do Estado de Minas Gerais.

Na mesma região avaliada neste estudo, ou seja, Agreste do Estado de Pernambuco, PINHEIRO DE SÁ *et al.* (2000) verificaram que os microrganismos mais comuns em casos de mastite bovina foram *Staphylococcus* spp. (32,6%) e *Corynebacterium* spp. (13,2%), porém, entre os estafilococos isolados, a espécie *S. aureus*

apresentou maior prevalência (66,4%). No entanto, apesar de se tratar da mesma região os resultados foram divergentes aos obtidos neste estudo, pois os estafilococos coagulase negativa foram mais prevalentes que o *S. aureus*. O gênero *Corynebacterium* spp. apresentou maior percentual de isolamento (34,7%) em relação ao observado por PINHEIRO DE SÁ *et al.* (2000).

Tabela 2 - Análise geral do perfil de sensibilidade antimicrobiana de 59 cepas de estafilococos coagulase positivas isoladas de amostras de leite de vacas com mastite no Agreste do Estado de Pernambuco, 2005.

Antibióticos	Sensível	Intermediário	Resistente
Amoxicilina	25%	0%	75%
Penicilina	20%	0%	80%
Oxacilina	65%	20%	15%
Vancomicina	100%	0%	0%
Gentamicina	42%	7%	51%
Lincomicina	32%	12%	56%
Norfloxacina	96%	2%	2%
Enrofloxacina	88%	3%	9%
Tetraciclina	71%	3%	26%
Novobiocina	71%	14%	15%
Cloranfenicol	83%	10%	7%
Sulfa+Trimetoprim	95%	5%	0%
Bacitracina	48%	15%	37%

Operfil de sensibilidade antimicrobiana de 59 amostras de estafilococos analisadas encontra-se na Tabela 2, das quais 52 amostras eram de *S. aureus* e 7 amostras de *Staphylococcus* coagulase positiva. Os percentuais gerais de sensibilidade, resistência e sensibilidade intermediária foram de 64,5%, 28,5% e 7,0%, respectivamente. Os antibióticos mais eficazes foram a vancomicina com 100% de eficácia e a norfloxacina com 96% e os menos eficazes penicilina com apenas 20% de sensibilidade e amoxicilina com 25% (Tabela 2).

Resultados semelhantes foram obtidos por BRITO *et al.* (2001) que observaram que a norfloxacina apresentou 100% de eficácia para cepas de estafilococos isoladas de mastite bovina na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais. A alta eficácia da vancomicina deve-se, possivelmente, ao pouco uso deste antibiótico em medicina veterinária, pois em nenhuma das propriedades estudadas este medicamento era utilizado.

Os resultados apresentados revelaram altos índices de resistência tanto para a amoxicilina quanto para a penicilina. A amoxicilina pertence ao mesmo grupo de antibióticos beta-lactâmicos e geralmente os estafilococos mostram elevada resistência (acima de 70%) à penicilina G, bem como, ampicilina, amoxicilina e carbenicilina (TAVARES, 2000). Os estafilococos isolados de leite de vacas com mastite quase sempre apresentam altos índices de resistência à penicilina (ANDRADE *et al.*, 2000; COSTA *et al.*, 2000; BYARUGABA *et al.*, 2004). Porém, através de

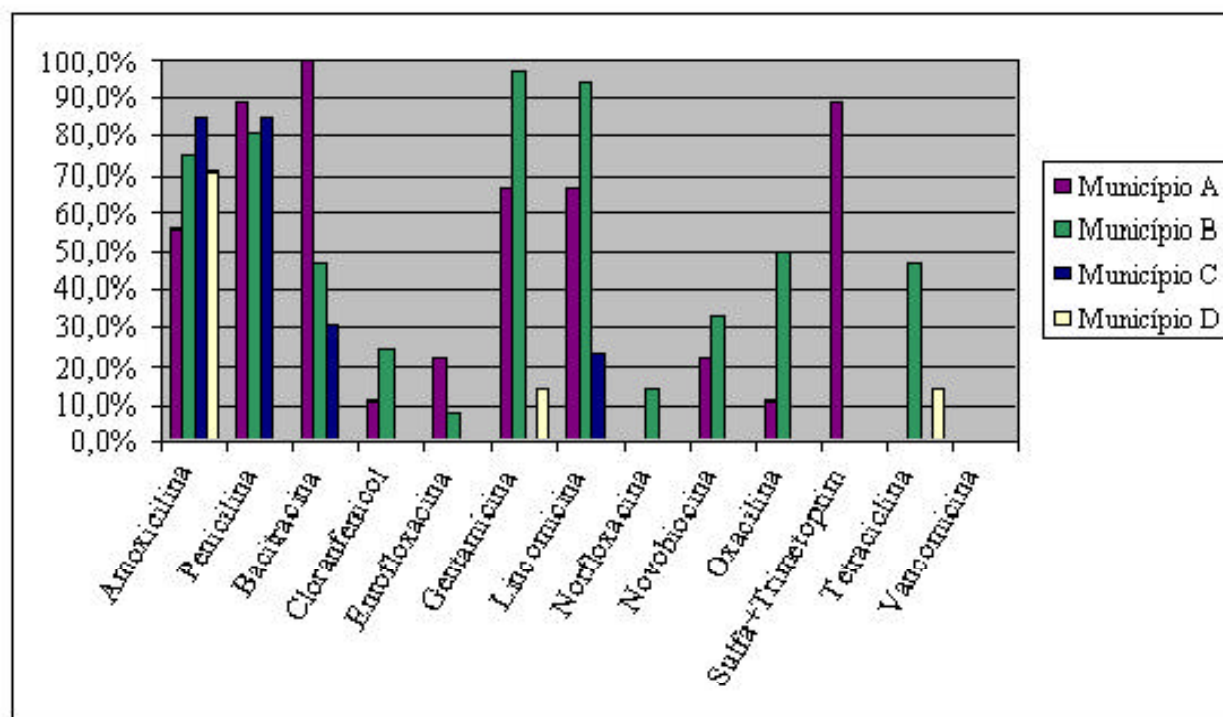


Fig. 1 - Comparação da resistência antimicrobiana de cepas de estafilococos coagulase positivo por antibióticos e municípios estudados (A, B, C e D) no Agreste do Estado de Pernambuco, 2005.

testes de sensibilidade *in vitro*, é possível detectar cepas de estafilococos sensíveis e sugerir a utilização da penicilina no tratamento *in vivo*, ao invés, de um medicamento de última geração. Devendo lembrar que muitas vezes um antibiótico apresenta-se sensível no teste *in vitro*, mas não tem boa eficácia *in vivo*.

Analisando individualmente os resultados de resistência das amostras de estafilococos isoladas de leite de vacas com mastite por município estudado e por antibiótico testado (Fig. 1), observou-se que a amoxicilina apresenta baixa eficácia em todos os municípios, a penicilina poderia ser indicada para tratamento de mastite no município D e a norfloxacin em todos os municípios exceto o B. A gentamicina foi 100% eficaz apenas para isolados do município C (Fig. 1).

Na Figura 1, observa-se que a gentamicina e a lincomicina apresentaram maior resistência no Município B, a sulfa+trimetoprim no A e que a vancomicina foi 100% eficaz em todos os municípios estudados.

Segundo LANGONI *et al.* (2000) a gentamicina continua sendo um antibiótico eficaz para o tratamento das mastites bovinas de origem bacteriana da mesma forma que vários autores verificaram altos índices de sensibilidade de estafilococos isolados de casos de mastite a este antibiótico (COSTA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2001; WATANABE *et al.*, 2001; BYARUGABA, 2004). No entanto, no presente estudo verificou-se alto nível de resistência a este antibiótico, principalmente, no Município B, onde este antibiótico era mais freqüentemente utilizado para tratar os animais com mastite.

No Agreste do Estado de Pernambuco, OLIVEIRA *et al.* (2002) observaram que as amostras de estafilococos isoladas de casos de mastite bovina foram 100% sensíveis a gentamicina, não corroborando com os resultados desta atual pesquisa, onde valores elevados de resistência dos estafilococos foram encontrados, principalmente, no município onde este era o antibiótico de eleição no tratamento das mastites. Este fato reflete ainda mais a importância dos exames laboratoriais e como o uso indiscriminado de um determinado antibiótico seleciona bactérias resistentes.

A alta resistência para a sulfa+trimetoprim em apenas um dos municípios estudados (Município A, Fig. 1) pode estar associada ao uso deste quimioterápico para tratar mastites, uma vez que as sulfas são principalmente utilizadas no tratamento preventivo de septicemias em animais com mastites por coliformes (OLIVEIRA *et al.*, 2000), ou ainda pelo uso de sulfa no tratamento de parasitoses como a coccidiose bovina.

Ao analisar as amostras de estafilococos resistentes, verificou-se que no município A mais de 60% das amostras foram resistentes para 6 a 9 antibióticos simultaneamente. No município B esta multirresistência foi maior para 4 a 5 antibióticos. No C para 2 a 3 e no D todas as amostras apresentaram-se resistentes para 2 a 3 antibióticos (Fig. 2).

O alto percentual de multirresistência revelado pelos isolados de *S. aureus* nos municípios estudados é preocupante, pois muitos dos antibióticos disponíveis no mercado não teriam efeito sobre esta bactéria dificultando ou impossibilitando o tratamento dos animais com mastite e trazendo maiores gastos e prejuízos para os proprietários.

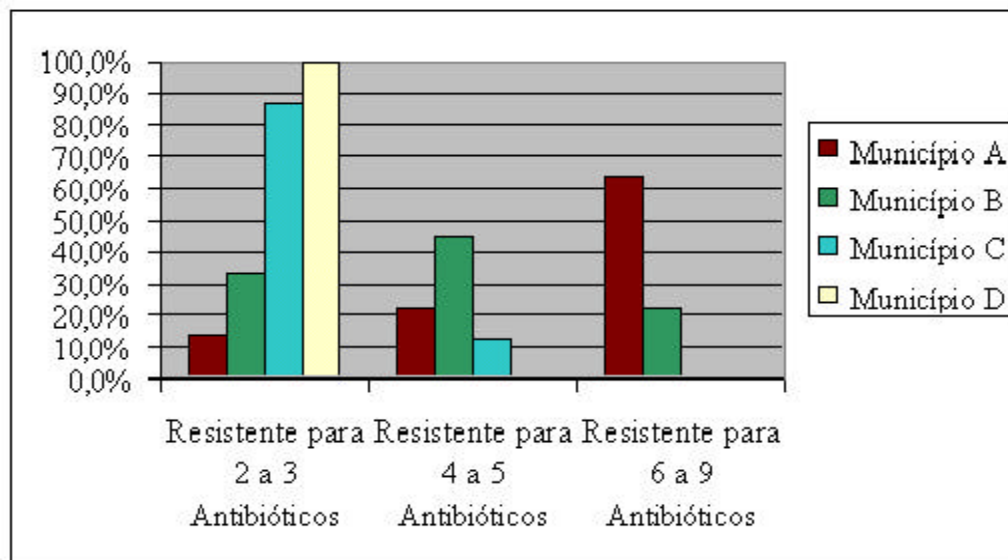


Fig. 2 - Perfil de resistência múltipla de *Staphylococcus coagulase* positivos isolados de leite de vacas com mastite nos (Município A, B, C e D) do Agreste do Estado de Pernambuco, 2005.

Nas propriedades dos municípios A e B de ordenha manual e mecânica verificou-se maiores índices de resistência em relação às propriedades dos Municípios C e D onde a ordenha era exclusivamente manual. Outro aspecto interessante é que nas propriedades dos municípios C e D os proprietários dificilmente tratavam os animais com mastite, preferiam retirá-los do plantel. Talvez a pouca utilização de antibióticos tenha contribuído para a baixa resistência apresentada pelos isolados dos municípios C e D.

Devido ao alto custo para a realização da cultura do leite mastítico, isolamento e identificação dos agentes infecciosos e testes de sensibilidade antimicrobiana, muitas propriedades terminam gastando muito mais com antibióticos que já não apresentam eficácia, aumentando o número de bactérias resistentes, além de muitas vezes aumentar a dosagem destes produtos na tentativa de melhorar sua eficiência contribuindo, muitas vezes para riscos como presença de resíduos medicamentosos acima dos limites permitidos no leite consumido pela população.

Os resultados obtidos neste estudo ressaltam a importância da avaliação da sensibilidade antimicrobiana *in vitro* para cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de casos de mastite bovina antes da indicação do tratamento para os animais. Pois, antibióticos como a gentamicina que geralmente apresenta alta eficácia pode apresentar-se ineficaz, principalmente naquelas propriedades onde seu uso é frequente e inadequado, aumentando os custos da produção. A penicilina, que mesmo sendo um antibiótico de baixa eficácia também pode ser indicado para tratamento, após prévia análise laboratorial, antes da indicação de antibióticos mais recentes, de última geração que devem ser utilizados em último caso para evitar resistência e servir como mais uma ferramenta no controle das mastites. Estes dados também demonstram que muitas vezes por não quererem ter custos a mais realizando testes laboratoriais para propor um adequado tratamento e melhores medidas de controle, os proprietários terminam tendo mais gastos com a utilização de antibióticos ineficazes que não estariam atuando sobre um dos principais agentes responsáveis pela mastite bovina resultando em perda na produção de leite.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos oferecem subsídios aos criadores quanto ao perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, contribuindo dessa forma para o tratamento e controle das mastites causadas por estafilococos coagulase positivos nos rebanhos estudados. A presença de cepas de estafilococos multirresistentes é preocupante para a clínica veteri-

nária e para a Saúde Pública, pois o leite é fonte de renda para criadores de bovinos e também é um alimento indispensável na dieta de pessoas de várias faixas etárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, M.A.; DIAS FILHO, F. C.; MESQUITA, A. J.; ROCHA, P. T. Sensibilidade *in vitro* de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. *Ciência Animal Brasileira*, v.1, n.1, p.53-57, 2000.
- BAIRD-PARKER, A.C. The *Staphylococci*: an introduction. *Journal of Applied Bacteriology*, v.19, supplement, p.15-85, 1990.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, n.4, p.493-496, 1966.
- BEAN, N.H. & GRIFFIN, P.M. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles, and trends. *Journal of Food Protection*, v.53, n.9, p.804-817, 1990.
- BERGDOLL, M.S. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE, M.P. (Ed.). *Foodborne bacterial pathogens*. New York: Marcell Dekker, 1989, p.463-523.
- BRABES, K.C.S.; CARVALHO, E.P.; DIONÍSIO, F.L.; PEREIRA, M.L.; GARINO, F.; COSTA, E.O. 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. *Revista Nappama*, v.2, n.3, p.4-11, 1999.
- BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; RIBEIRO, M.T.; VEIGA, V.M.O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários de vacas em lactação. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n.2, p.129-135, 1999.
- BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; SILVA, M.A.S.; CARMO, R.A. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *S. aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.53, n.5, p.10-17, 2001.
- BYARUGABA, D.K. A view on antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. *International Journal Antimicrobial Agents*, v.24, p.105-110, 2004.
- CARTER, G. R. *Fundamentos da Bacteriologia e Micologia Veterinária*. São Paulo: Roca., 1988. 249p.
- COSTA, E.O.; CARCIOFI, A.C.; MELVILLE, P.A.; PRADA, M. S.; SCHALCH, U. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.17, p.156-159, 1995.
- COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; VIANI, F.C.; MASCOLLI, R.; LIVEIRA, P.J. Mastite bovina: CMT versus microbiológico. *Hora Veterinária*, v.15, n.89, p.53-54, 1996.
- COSTA, E.O. Importância da mastite na produção leiteira do Brasil. *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP*, v.1, p. 3-9, 1998.

- COSTA, E.O.; SÁ, R.; PONCE, H.; WATANABE, E.T.; VALLE, C.R. Avaliação da terapia de mastite clínica: eficácia terapêutica medida em número de dias em tratamento. *Revista Napgama*, v.2, n.2, p.10-14, 1999.
- COSTA, E.O.; BENITIS, N.R.; GUERRA, J.L.; GUERRA, J.L.; MELVILLE, P.A. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. Isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. *Journal of Veterinary Medicine B*, v.47, p.99-103, 2000.
- GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR, A. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.1913-1917, 2002.
- LANGONI, H.; MENDONÇA, A. O.; DEVELLEY, A. Avaliação do uso da associação da bromexina com gentamicina no tratamento da mastite subclínica bovina. *Revista Napgama*, n. 1, p. 4-7, 2000.
- MANSUR, P.U.; FOLLY, M.M.; CARLOS, L.A.; ARAÚJO, F.M.; GAL, Z.T.; TEIXEIRA, G.N. Avaliação do período de persistência do antibiótico cloxacilina no leite de vacas com mastite subclínica. *Revista de Higiene e Alimentação*, v. 17, n. 104/105, p. 106, 2003.
- MAC FADDIN, J.F. *Biochemical test for identification of medical bacteria*. 2ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980. 527p.
- OLIVERIA, A.P.; WATTS, J.L.; SALMONT, S.A. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and United States. *Journal of Dairy Science*, v.88, p.855-862, 2000.
- OLIVEIRA, A.A.F.; MOTA, R.A.; SOUZA, M.I.; SÁ, M.E.P. Perfil de Sensibilidade Antimicrobiana *in vitro* frente a amostras de *Staphylococcus* spp isoladas de mastite subclínica bovina, no Agreste meridional de Pernambuco. *Hora Veterinária*, v.22, n.127, p.8-10, 2002.
- OMOE, K.; ISHIKAWA, M.; SHIMODA, Y. HU, D.; UEDA, S.; SHINAGAWA, K. 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. *Journal of Clinical Microbiology*, v.40, n. 3, p.857-862, 2002.
- PENNA, T.C.V.; COLOMBO, A.J.; ABE, L.E.; MACHOSHVILI, S.A. Parâmetros de resistência térmica de cepas de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicos no leite. *Revista de Farmácia Bioquímica*, v.24, p.113-117, 1998.
- PHILPOT, W. N. Control of mastitis by hygiene and therapy. *Veterinary Clinics of North America Large Animal Practice*, v.6, p.233-245, 1984.
- PINHEIRO DE SÁ, M.E.; MOTA, R.A.; SOUZA, M.I.; OLIVEIRA, A.A.F. Etiologia da mastite subclínica em bovinos leiteiros do agreste meridional do Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.7, n.2, p.100-1003, 2000.
- PITKÄLÄ, A.; HAVERI, M.; PYÖRÄLÄ, S.; MYLLYS, V.; HONKANEN-BUZALSKI, T. Bovine Mastitis in Finland 2001 - prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *Journal of Dairy Science*, v.87, p.2433-2441, 2004.
- QUINN, P. J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. *Clinical veterinary microbiology*, London: Wolfe, 1994. 648p.
- SANTOS, F.G.B.; MOTA, R.A.; SILVEIRA-FILHO, V.M.; SOUZA, H.M.; OLIVEIRA, M.B.M.; JOHNER, J.M.Q.; LEAL, N.C.; ALMEIDA, A.M.P.; LEAL-BALBINO, T.C. Tipagem molecular de *Staphylococcus aureus* isolados do leite de vacas com mastite subclínica e equipamentos de ordenha procedentes do estado de Pernambuco. *Revista Napgama*, v. 6, n. 1, p. 19-23, 2003.
- SCHALM, O.W. & N OORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.130, n.5, p.199-207, 1957.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, 1997. 295p.
- TAVARES, W. Bactérias gram positivas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.33, n.3, p.281-301, 2000.
- WATANABE, E.T.; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.B.; GARINO JUNIOR, F.; COSTA, E.O. A valiação *in vitro* e *in vivo* da eficiência dos antimicrobianos no tratamento de casos de mastite clínica bovina. *Revista Napgama*, v.4, n.1, p.9-14, 2001.
- 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.

Recebido em 4/6/05

Aceito em 22/6/05