

IMPORTÂNCIA DO MAPEAMENTO E MONITORAMENTO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA E DETECÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA DE *Staphylococcus* sp. RELACIONADOS À MASTITE BOVINA

Renata Olivotto Agostinis¹
Priscila Luiza Mello²
Lisiane de Almeida Martins³

AGOSTINIS, R. A.; MELLO, P. L.; MARTINS, L. A. Importância do mapeamento e monitoramento do perfil de resistência e detecção dos genes de resistência de *Staphylococcus* sp. relacionados à mastite bovina. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 57-65, jan./jun. 2012.

RESUMO: A mastite é a doença mais importante do gado leiteiro, pois acarreta grandes prejuízos devido a perda da produção, gastos com serviços veterinários e medicamentos. Sua etiologia é diversificada, porém as bactérias são as maiores causadoras da doença, principalmente o *Staphylococcus aureus*, caracterizando uma mastite contagiosa. A doença causa problemas a saúde pública devido aos resíduos de antibióticos, bactérias e suas toxinas que podem ser eliminadas no leite, além dos prejuízos para a indústria de laticíneos. Para diminuir taxas de infecção e prevenir novas infecções são utilizados antibióticos, tanto no período de lactação, quando necessário, ou no período seco, onde acabam sendo utilizados sem prévia cultura microbiológica e antibiograma. Atualmente são detectados estirpes de *Staphylococcus aureus* multirresistentes, tanto em ambiente hospitalar (HA-MRSA) como na comunidade (CA-MRSA). A resistência aos antibióticos é expressa devido a mutações de seus genes ou por meio da aquisição de genes de resistência de outras bactérias, da mesma espécie ou não. Inúmeros trabalhos vêm sendo desenvolvidos para caracterizar os fatores de patogenicidade destes dois tipos de estirpes, no intuito de mapear e rastrear as infecções em humanos e animais. Em humanos, a pesquisa do gene *mecA* e o estudo do perfil de resistência aos antimicrobianos em cepas de *S. aureus* vêm sendo amplamente utilizados para estudos epidemiológicos de casos de infecção. Com a epidemiologia molecular dos genes de resistência é possível distinguir a transferência horizontal da disseminação clonal de resistência bacteriana. Dessa forma, uma abordagem voltada a saúde pública, faz-se necessária e oportuna.

PALAVRAS-CHAVE: *Staphylococcus aureus*; MRSA; Antibióticos; Mastite.

IMPORTANCE OF MAPPING AND MONITORING THE RESISTANCE PROFILE AND RESISTANCE GENE DETECTION OF *Staphylococcus* sp. RELATED TO MASTITIS BOVINE

ABSTRACT: Mastitis is the most important diseases in milk cattle because it causes great disadvantages due to the production loss, expenses with medical service and remedy. Its etiology is diversified, but bacteria are the most common cause of the disease, especially *Staphylococcus aureus*, characterizing contagious mastitis. The disease causes problems to Public Health because of the residual part of antibiotics, bacteria and toxins that can be eliminated in the milk, besides the loss caused to dairy industries. To reduce infection ratios and prevent new infection, antibiotics are used in the lactation period, whenever they are necessary, or in the dry period, when they are utilized without previous microbiological culture or antibiogram. Currently, there are detected bloodlines of *Staphylococcus aureus* that are multiresistant in hospital environment (HA-MRSA) as well as in the community (CA-MRSA). The resistance to antibiotics happen because of genic mutations or the acquisition of resistant genes from other bacteria, from the same species or not. Countless papers are being developed to characterize the pathogenic factors of these two kinds of bloodlines, aiming to map and keep track of the infections in humans and animals. For humans, the genic research of *mecA* and the profile studies of the resistance to the antimicrobials on *S. aureus* strains are being largely used to epidemiological studies in case of infection. With molecular epidemiology of resistant genes, it is possible to distinguish the horizontal transference of the clonal dissemination of the bacterial resistance. Therefore, an approach towards public health shows itself is necessary and favorable.

KEYWORDS: *Staphylococcus aureus*; MRSA; Antibiotics; Mastitis.

IMPORTANCIA DEL MAPEO Y MONITOREO DEL PERFIL DE RESISTENCIA Y DETECCIÓN DE LOS GENES DE RESISTENCIA DE *Staphylococcus* sp. RELACIONADOS A LA MASTITIS BOVINA

RESUMEN: La mastitis es la enfermedad más importante del ganado lechero, causa daños importantes debido a la pérdida de producción, costos con servicios veterinarios y medicamentos. Su etiología es variada, pero las bacterias son las mayores

¹Médica Veterinária, discente do Mestrado em Ciência Animal e bolsista CAPES/PROSUP-UNIPAR - Umuarama – PR. Praça Mascarenha de Moraes, 4282, Zona III, Umuarama, Pr, 87502-210. re_agostinis@hotmail.com;

²Bióloga e bolsista de Apoio Técnico da FAPESP - Departamento de Microbiologia e Imunologia - Instituto de Biociências - UNESP - Campus Botucatu. Rua João Passos, 600. Edifício Eldorado, apartamento 42, 18600-040, Botucatu – SP. priscila_mello@msn.com

³Docente do Curso de Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência Animal da UNIPAR - Umuarama - PR. Praça Mascarenha de Moraes, 4282, Zona III, Umuarama, Pr, 87502-210. Autor para correspondência. lisiane.almeida.martins@gmail.com.

causadoras de la enfermedad, especialmente *Staphylococcus aureus*, caracterizando mastitis contagiosa. La enfermedad causa problemas de salud pública debido a los residuos de antibióticos, las bacterias y sus toxinas pueden ser eliminadas en la leche, además del daño para la industria de lácteos. Para reducir las tasas de infección y prevenir nuevas infecciones son utilizados antibióticos, tanto en el período de lactancia, cuando sea necesario, o en la estación seca, que terminan siendo utilizados sin previa cultura microbiológica y antibiograma. Actualmente se detectan cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, tanto en ambiente hospitalario (HA-MRSA) como en la comunidad (CA-MRSA). La resistencia a los antibióticos se expresa debido a mutaciones de sus genes o mediante la adquisición de genes de resistencia de otras bacterias, de la misma especie o no. Innúmeros trabajos se han realizado para caracterizar los factores de patogenicidad de estos dos tipos de cepas, con el fin de mapear y rastrear las infecciones en humanos y animales. En humanos, la investigación del gene *meca* y el estudio del perfil de resistencia antimicrobiana en cepas de *S. aureus* han sido ampliamente utilizados para estudios epidemiológicos de casos de infección. Con la epidemiología molecular de los genes de resistencia es posible distinguir la transferencia horizontal de propagación clonal de resistencia bacteriana. Así, un enfoque centrado en la salud pública se hace necesario y oportuno.

PALABRAS CLAVE: *Staphylococcus aureus*; MRSA; Antibióticos; Mastitis.

Introdução

A doença do gado leiteiro que demanda a maior quantidade de antibiótico no tratamento é a mastite (ERSKINE, et al., 2004). É a enfermidade de maior importância dos rebanhos leiteiros em todo o mundo devido ao grande número de casos clínicos e subclínicos e aos prejuízos econômicos que acarreta (PHILPOT; NICKERSON, 2002).

Sua etiologia é diversificada, incluindo bactérias, leveduras, fungos, micoplasma e algas (BRADLEY, 2002). Já foram isolados 137 espécies, subespécies e sorotipos de micro-organismos de infecções da glândula mamária bovina, porém a maioria dessas infecções é causada por bactérias. Entre estas, o maior número encontrado pertencem aos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* (WATTS, 1988).

Mastite contagiosa e ambiental são termos utilizados para diferenciar a epidemiologia dos patógenos que causam infecção intramamária (SMITH; HOGAN, 1993). Dentre as mastites contagiosas, o principal patógeno responsável é o *Staphylococcus aureus*. Mesmo as taxas de isolamento sendo variáveis de acordo com diferentes autores, como Nader Filho et al. (1985) que encontraram uma taxa de participação deste agente em 52,1%, e Langenegger, Figueiredo e Rezende (1986) que obtiveram uma taxa de 76,5%, o *Staphylococcus aureus* tem sido considerado como o agente de maior significado nas infecções intramamárias do gado leiteiro. Considerando as possíveis variações regionais, um trabalho realizado com rebanhos nos estados de Nova York e Pensilvânia (EUA) por Wilson, Gonzales e Das (1997) foi possível encontrar 9,1% de casos de mastites por *S. aureus*.

A doença oferece riscos à saúde pública, pelo grande número de bactérias eliminadas no leite e pela possibilidade de transferência de resíduos de antibióticos (ZADOKS, et al., 2004; KURWIJILA, et al., 2005). Além disso, a mastite também causa grandes prejuízos para a indústria de laticínios não só pela queda de rendimento dos derivados lácteos, mas também pela redução da vida de prateleira dos subprodutos (MA, et al., 2000; SANTOS; MA; BARBANO, 2003).

Para diminuir os problemas acarretados pela mastite é necessário reduzir as infecções presentes no rebanho e prevenir que novas infecções se instalem (BRAMLEY, et al., 1996). O uso de antibióticos dos casos clínicos durante o período de lactação é de grande importância quando se diz respeito ao controle da mastite (BRADLEY; GREEN, 2004). Como se recomenda iniciar um tratamento imediato quando se trata de uma mastite clínica, há uma dificuldade maior em realizar uma cultura microbiológica e antibiograma, porém

segundo Elvinger e Natzke (1992), o exame bacteriológico do leite, obtido em um único quarto ou em amostras compostas, é o procedimento padrão para estabelecer se o úbere está infectado. A partir do momento que se conhece o agente etiológico, e a qual antibiótico é mais sensível, existe uma maior facilidade em direcionar o tratamento desse animal (SEARS; MCCARTHY, 2003). O tratamento de vacas secas faz parte do manejo de propriedades leiteiras, independentemente se o animal apresenta mastite ou não (BRADLEY; GREEN, 2004). Esse manejo é utilizado para o tratamento das infecções subclínicas adquiridas durante a lactação e para a profilaxia de novas infecções durante o período seco (DINGWELL; KELTON; LESLIE, 2003). Geralmente os beta-lactâmicos são empregados para esse tipo de tratamento, devido a taxa de cura de infecções por *Staphylococcus aureus* e outras bactérias gram-positivas (ERSKINE; WAGNER; DEGRAVES, 2003).

O conhecimento do padrão de infecção e da suscetibilidade aos antimicrobianos do rebanho ou de rebanhos da mesma região pode direcionar o tratamento mais eficiente (SEARS; MCCARTHY, 2003).

Considerando os aspectos citados, este artigo tem como objetivo discutir sobre a importância destes *Staphylococcus* multirresistentes relacionados a mastite bovina em saúde pública.

Desenvolvimento

Staphylococcus sp.

Em 1880 o cirurgião escocês Alexandre Ogston descreveu pela primeira vez o *Staphylococcus*, encontrado em pús de abscesso cirúrgico, hoje considerado um dos micro-organismos mais comuns nas infecções piogênicas em todo o mundo. Estão subdivididos em 40 espécies, de acordo com a produção ou não da enzima coagulase, sendo a maioria, coagulase negativas, com exceção do *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus* *Staphylococcus delphini* (BANNERMAN, 2003; KWOK; CHOW, 2003). A produção de coagulase confere maior virulência ao patógeno, aumentando sua capacidade enterotoxigênica (PEREIRA, et al., 2000; PEREIRA; PEREIRA, 2005).

As doenças provocadas pelo *S. aureus* podem ocorrer devido a invasão de tecidos ou pelas toxinas que ele produz (ANDRIOLO, 2005; BRAUNWALD, et al., 2002; SCHECHTER; MARANGONI, 1998).

Dentre os *Staphylococcus*, a espécie *S. aureus* causa maior interesse médico, pois está frequentemente relacionado com diversas infecções em seres humanos (CASSETTARI; STRABELLI; MEDEIROS, 2005; KONEMAN, et al., 2001). São formados por cocos Gram positivos agrupados em forma de cachos, mesófilos, imóveis, não esporulados, anaeróbios facultativos e catalase positiva (DOWNES; ITO, 2001).

As cepas de *Staphylococcus aureus* crescem em meios comuns, ágar ou caldo simples, a temperatura de 37°C e pH 7. As colônias são arredondadas, lisas e brilhantes, sendo que a coloração varia desde o acinzentado até o amarelo-ouro, em que a pigmentação aumenta conforme o tempo de incubação é prolongado. Porém, em culturas em caldo e condições anaeróbicas podem não ser formadas. Quando cultivadas em ágar sangue, desenvolve-se um halo de hemólise ao redor das colônias. Além dos meios já citados, o ágar manitol-sal pode ser utilizado para a identificação do *S. aureus*, pois é seletivo para essa espécie, ocorrendo fermentação do manitol e transformação em ácido lático. A enzima que caracteriza a espécie é a coagulase, portanto pode se desenvolver na presença de 7,5% de NaCl (CASSETTARI; STRABELLI; MEDEIROS, 2005; KONEMAN, et al., 2001).

O gênero *Staphylococcus* spp. está envolvido em infecções que acometem humanos e animais (ANNEMÜLLER, et al., 1999). Sendo o *Staphylococcus aureus* um dos maiores patógenos causadores de mastite no gado leiteiro em todo o mundo, essas infecções intramamárias são de caráter crônico, sua taxa de cura é considerada baixa, acarretando perda da produção leiteira (SABOUR, et al., 2004). É uma enfermidade destacada na pecuária leiteira, pelos prejuízos econômicos que acarreta. Sendo assim, é de fundamental importância manter testes como o perfil microbiológico e de resistência a antimicrobianos, pois em trabalhos já realizados como o de Medeiros et al. (2009), evidenciaram uma alta porcentagem de cepas resistentes, o que reforça a importância do uso adequado e monitorado de antibióticos, já que estes micro-organismos podem ser disseminados pelo leite e se transformarem em sério problema de saúde pública. Também está frequentemente associada a piodermites e otites em animais de companhia, além de ser o principal agente causador de infecções nosocomiais em humanos (AARESTRUP, et al., 2001).

Alguns estudos têm apontado a manipulação de alimentos como a principal fonte de contaminação em surtos de intoxicações por estafilococos, devido tal bactéria ser encontrada comumente na pele, fossas nasais e garganta (HALPIN-DOHNALEK; MARTH, 1989; SMITH; HOGAN, 1993; PEREIRA; PEREIRA; SERRANO, 1999). Quando existem condições favoráveis, esse micro-organismo produz toxinas sem que seja alterada a cor, sabor e aroma do alimento (SANTOS; MAIA, 1997). A pasteurização do leite inativa o *Staphylococcus* spp., porém a toxina continua ativa no alimento (CARMO, et al., 2002). Portanto, este alimento representa um risco à saúde pública se não forem tomadas as medidas corretas de higienização, durante o processo de produção (VOLKMAN, et al., 2002; FERREIRA, 2008; SOUZA, 2010). Entre 1984 e 1997, foram registrados 593.212 casos de intoxicação alimentar, mas sem especificação sobre quais toxinas, fontes envolvidas e micro-organismos (BRASIL, 1998).

Resistência aos antimicrobianos

A partir da década de 30 começaram a surgir os antimicrobianos disponíveis no mercado até os dias de hoje, e o século 20 ficou marcado pelos avanços e benefícios trazidos por essas substâncias tanto para a medicina humana quanto para a veterinária. Em um primeiro momento, acreditou-se que todos os problemas causados pelas doenças infecciosas seriam resolvidos, e a vida humana e animal não sofreriam mais ameaças, porém, com o passar do tempo pôde-se perceber que com emprego contínuo e inadequado dessas drogas acarretavam o aparecimento de isolados bacterianos resistentes a ação de tais antimicrobianos (ACAR; RÖSTEL, 2001).

O uso indiscriminado de antimicrobianos é motivo de preocupação mundial, principalmente pelo grande número de pessoas internadas em Unidades de Terapia Intensiva, onde há uma alta letalidade e custo com tratamento (VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000; NORMANNO et al., 2007).

Os antimicrobianos são utilizados para prevenir ou tratar infecções bacterianas tanto na medicina humana e veterinária (CARRILHO, et al., 2007), mas também são adicionados às rações animais como promotores de crescimento para aumentar a eficácia alimentar (NORMANNO, et al., 2007).

Nos Estados Unidos, foi observado *Enterococcus* resistente a vancomicina em pacientes saudáveis, porém nessa região os glicopeptídeos nunca haviam sido usados em animais de produção (MATEU; MARTIN, 2001). Também foi isolado em cães e equinos, salientando que tais espécies raramente são tratadas com glicopeptídeos, que não recebem promotores de crescimento e que, no caso de equinos, não foram contaminados pela ingestão de carne (DEVRIESE, et al., 1996). Sugere-se, nestes casos que a contaminação pode ter ocorrido por meio de plantas previamente contaminadas ou por fezes, mostrando que há outras maneiras da resistência disseminar-se (MATEU; MARTIN, 2001).

O uso de promotores de crescimento foram proibidos na Europa (PHILLIPS et al., 2004), principalmente os glicopeptídeos como a avoparcina, pois alguns autores sugeriram que esses antimicrobianos foram responsáveis pelo desenvolvimento de *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (VRE) encontrados em animais e após algum tempo em humanos, devido ao seu uso extensivo (NORMANNO, et al., 2007; REGULA, et al., 2009).

Em 1990, as fluoroquinolonas começaram a ser utilizadas em medicina veterinária, e a partir desse momento começaram a aparecer cepas de *Salmonella* spp. isoladas em humanos resistentes a essa classe de antimicrobianos e com genes similares a amostras isoladas de animais (MATEU; MARTIN, 2001).

Outro problema são os animais de estimação, pois cães e gatos têm contato muito próximo com seres humanos, o que aumenta os riscos de transferência de bactérias multi-resistentes, além do amplo uso de agentes antimicrobianos na rotina veterinária nesses animais (MOYAERT, et al., 2006; UMBER; BENDER, 2009).

Os antimicrobianos são fármacos muito importantes na medicina veterinária, e só serão substituídos quando as alternativas forem viáveis, pois justifica-se seu uso para prevenção de propagação de doenças infecciosas e zoonoses, para melhorar eficácia na produção animal, prevenção de do-

enças alimentares mediante de produtos de origem animal (UNGEMACH; MÜLLER-BAHRDT; ABRAHAM, 2006).

No gado leiteiro, as bactérias encontradas em mastites, os patógenos entéricos como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e os patógenos respiratórios como *Pasteurella* spp. e *Haemophilus* spp. (MULVEY, et al., 2009) são os micro-organismos que mais comumente requerem terapia antimicrobiana (MATEU; MARTIN, 2001).

Do total de antimicrobianos produzidos em todo o mundo cerca de 50% são utilizados para prevenção e tratamento de enfermidades em animais de companhia, promotores de crescimento e para extermínio de pragas na agricultura e a outra metade é empregada em terapias humanas (VAN DEN BOGAARD; STOBBERINGH, 2000; MATEU; MARTIN, 2001; MOTA, et al., 2005; GUARDABASSI; JENSEN; KRUSE, 2010).

Arias e Carrijo (2012) relatam vários estudos demonstrando que a utilização de antimicrobianos em animais contribui para o desenvolvimento de resistência em humanos. Embora alguns autores questionem a este risco a saúde pública, considerando a proximidade dos animais com os seres humanos. Sendo assim esforços coordenados e uma abordagem ecológica ampla sejam realizados, incluindo a redução da eliminação destes agentes nos esgotos dos hospitais humanos e veterinários.

Resistência aos antimicrobianos utilizados na mastite

O *Staphylococcus aureus* é grande alvo de pesquisas, pois sem dúvida tem papel importante na etiologia da mastite, e além dificuldade de controlar esse micro-organismo nas infecções intramamárias do gado leiteiro ele apresenta resistência a antimicrobianos utilizados na rotina. Relatos de resistência desse micro-organismo a penicilina chegaram a 52% na Finlândia (PITKÄLÄ, et al., 2004), 40% na Argentina (GENTILINI, et al., 2000) e 47% na Itália (MORONI, et al., 2006).

Houve um grande aumento de resistência aos antimicrobianos em vacas leiteiras com mastite aos longos dos anos, para a gentamicina foi de 3 para 20%, já para penicilina de 40 para 86% (MATEU; MARTIN, 2001).

Hoje, muitos trabalhos vem relatando sobre cepas estafilocócicas que respondiam muito bem ao tratamento com betalactâmicos e agora apresentam resistência e essa classe de antimicrobianos, isso se deve a modificações das proteínas ligantes de penicilina (PBP's), sintetizadas pelo gene *mecA*, que hoje é um dos principais mecanismos de resistência descritos (AARESTRUP, et al., 2001).

A resistência do *Staphylococcus aureus* aos antibióticos são expressas devido a mutações de seus genes ou por meio da aquisição de genes de resistência de outras bactérias, da mesma espécie ou não (RATTI; SOUZA, 2009).

Uma bactéria é considerada resistente, quando não se inibe em concentrações que são habitualmente alcançadas no sangue, ou quando apresenta um mecanismo de resistência específico (RODRIGUEZ, et al., 2000).

Quando a penicilina começou a ser utilizada em clínicas, o *S. aureus* passou a desenvolver resistência a esse betalactâmico pela produção da betalactamase (penicilinase), que hidrolisa o anel betalactâmico da penicilina, e a torna inativa, a proporção aumentou tanto que no ano de 1959 essa

resistência já alcançava a taxa de 80% (TAVARES, 2002). Com a dificuldade do uso de penicilinas, foi descoberta a meticilina, uma droga do grupo das penicilinas, porém a primeira sintética do grupo, não sofrendo então a ação da enzima betalactamases. Porém, na década de 1970, começaram a aparecer as cepas de *S. aureus* com resistência a meticilina identificadas pela sigla MRSA (*S. aureus* resistente a meticilina), também resistentes aos demais betalactâmicos (cefalosporinas e outros).

O glicopeptídeo vancomicina foi deixada de lado quando o uso da meticilina, oxacilina e de outras isoxazolilpenicilinas foram feitos com sucesso, e apesar de ser ototóxica e nefrotóxica ela apresenta boa eficiência no tratamento de infecções causadas por cepas de MRSA (MACHADO, et al., 2005; SRINIVASAN; DICK; PERL, 2002; VELÁZQUEZ-MEZA, 2005)

Staphylococcus aureus meticilina resistentes (MRSA)

Cepas antibiótico resistentes como as de MRSA (que são resistentes a múltiplos antimicrobianos), causam grande preocupação para a saúde pública, devido as graves infecções que causam no homem, sendo essas adquiridas em ambiente hospitalar ou na comunidade. Estirpes de MRSA podem apresentar resistência à penicilina, gentamicina, eritromicina, oxacilina, cefalotina, cloranfenicol, sulfametoxazoltrimetoprim, clindamicina e ciprofloxacina (TEIXEIRA, et al., 1995).

A resistência a meticilina é determinada pela presença de um gene cromossômico (*mecA*) da bactéria, que codifica as modificações no receptor do betalactâmico, estimulando a produção de uma proteína ligadora de penicilina (PPB2a) com baixa afinidade pelo antibiótico, resultando na resistência (VELÁZQUEZ-MEZA, 2005)

Recomenda-se o uso do antimicrobiano oxacilina para detectar resistência *in vitro* para meticilina em *Staphylococcus* (CLSI, 2002). Segundo Coelho et al. (2007), taxas preocupantes de resistência a oxacilina estão sendo observadas em animais e humanos (33,8% e 38,9%, respectivamente) detectados pela técnica de difusão em disco e detecção do gene *mecA*. que estes níveis são similares, mais uma vez destacando a transmissão entre o homem e os animais.

Além das cepas de *S. aureus* hospitalares (HA-MRSA), verificou-se nos últimos anos as cepas associadas à comunidade (CA-MRSA), observada em pacientes que não foram internados ou sofreram procedimentos médicos ou cirúrgicos (RIBEIRO, et al., 2005). Estas cepas diferenciam-se pelo perfil de resistência a antibióticos, pois as cepas de CA-MRSA são resistentes apenas a oxacilina/meticilina e outros betalactâmicos, mostrando sensibilidade a outros antibióticos como gentamicina, vancomicina, sulfametaxazol/trimetoprim, ciprofloxacina e clindamicina, já as cepas de HA-MRSA são resistentes a diversas classes de antibióticos (LOPES, 2005; RIBEIRO, et al., 2005).

Velázquez-Meza (2005) descreve a existência de cinco tipos de cassetes cromossomos de estafilococos relacionados com a resistência a meticilina (SCCmec I, II, III, IV e V), os quais permitem a diferenciação entre as cepas CA-MRSA e HA-MRSA. Os tipos I, II e III são encontrados em cepas HA-MRSA, enquanto que os tipos IV e V são observados em cepas CA-MRSA, sendo o tipo IV menor, isto

facilita a perda de genes de resistência a diversos antibióticos (LOPES, 2005; RIBEIRO, et al., 2005; LARCOMBE, et al., 2007).

As cepas de CA-MRSA fatores de virulência que contribuem para ocorrência de infecções de pele e pneumonias necrotizantes (genes *lukF-PV lukS-PV*), eles fazem a codificação da leucocidina de Panton-Valentine (PVL), capaz de destruir leucócitos humanos e causar grandes danos teciduais (LOPES, 2005; RIBEIRO, et al., 2005; LARCOMBE, et al., 2007). Existem também algumas diferenças nas manifestações clínicas entre essas cepas (HA-MRSA e CA-MRSA), dentre elas há infecções de pele e tecidos moles, respiratórias e da corrente sanguínea (LOPES, 2005; RIBEIRO, et al., 2005).

Inúmeros trabalhos vem sendo desenvolvidos para caracterizar os fatores de patogenicidade destes dois tipos de estirpes, no intuito de mapear e rastrear as infecções em humanos e animais. Em humanos, a pesquisa do gene *mecA* e o estudo do perfil de resistência aos antimicrobianos em cepas de *S. aureus* vêm sendo amplamente utilizados para estudos epidemiológicos de casos de infecção hospitalar (ICHIYAMA, et al., 1991; CARLES-NURIT, et al., 1992; UDO, et al., 1996; BELKUM, et al., 1997; MORVAN, et al., 1997). Com a epidemiologia molecular dos genes de resistência é possível distinguir a transferência horizontal da disseminação clonal de resistência bacteriana (AARTS, et al., 2001).

Segundo Lars e Aarestrup (2005) é necessária a técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*) para confirmação de resistência a meticilina, após detectada a resistência a oxacilina *in vitro*, além de sua utilização para detectar resistência a outros antibióticos, como as lincosamidas e macrolídeos em *Streptococcus* e *Staphylococcus* isolados de mastite bovina.

Segundo Dehaumont (2004), existe uma grande preocupação internacional referente ao risco de transferência de genes de resistência de patógenos animais para humanos e vice-versa.

O MRSA iniciou-se como um problema em medicina, e após emergiu como um problema veterinário (WEESE; VAN DUIJKEREN, 2010) sendo detectado em equinos, cães, gatos, animais de produção e alimentos (SASAKI, et al., 2007; WEESE; VAN DUIJKEREN, 2010).

Segundo Wesse e Van Duijkeren (2010), há relatos de MRSA em animais de produção na Holanda, onde em gado bovino houve isolamento das cepas em vacas com mastite e colonização de 28% de vitelos, além disso as cepas resistentes também foram diagnosticadas em infecções de trabalhadores de granjas suínas, e após em 23% de trabalhadores sadios, já na avicultura os relatos são escassos quanto a colonizações por MRSA.

Em 1995, o MRSA foi identificado em produtos de origem animal, pois foi descrito um surto de origem alimentar que causou a morte de cinco pessoas. Verificou-se a contaminação em frangos devido a manipulação de seres humanos portadores de MRSA, o que aumenta a necessidade de melhorias na educação sanitária dessas pessoas (NORMANNO, et al., 2007). A pele e a mucosa do homem atuam como reservatórios de estafilococos, resultando em importante fonte de veiculação destes micro-organismos para os alimentos (RAPINI, et al., 2004). Já na Itália, houve identificação de 3,75% de amostras de leite bovino e queijo contaminados

com MRSA (NORMANNO, et al., 2007).

A liberação de resíduos no ecossistema provenientes de fazendas e hospitais contendo antimicrobianos e genes de resistência em alta quantidade, podem alterar a população de micro-organismos deste local, modificando sua atividade metabólica, principalmente quando esses antimicrobianos ficam por longo período no ambiente (MARTINEZ, 2009; KÜMMERER, 2004)

Considerações finais

Os antimicrobianos são muito importantes tanto para a saúde humana quanto animal, porém não milagrosas (BEOVIC, 2006). O seu uso deve ser baseado no conhecimento do agente infeccioso, por meio de isolamento bacteriano e antibiograma, além dos cuidados com dose e tempo correto de administração (MATEU; MARTIN, 2001). O uso incorreto dos antimicrobianos em vários países é de difícil controle, devido a sua venda sem prescrição médica, na qual é estimado que de 20 a 50% do uso de antimicrobianos em humanos e 40 a 80% em animais seja desnecessário (BEOVIC, 2006). É necessário que médicos e veterinários façam uma prescrição criteriosa de antimicrobianos e esclareçam para a população a importância da indicação correta desses produtos (SINGER, et al., 2003).

Medidas de uso consciente de antibióticos devem ser implantadas nos diferentes níveis, seja nos ambientes hospitalares, como na comunidade, lembrando que estes genes de resistência podem ser transferidos ente as bactérias habitantes do homem e dos animais.

Referências

- AARESTRUP, F. M. et al. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal Enterococci from food animals in Denmark. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, p. 2054-2059, 2001.
- AARTS, H. J. M. et al. Molecular tools for the characterization of antibiotic-resistant bacteria. **Veterinary Research**, v. 32, p. 363-380, 2001.
- ACAR, J.; RÖSTEL, B. Antimicrobial resistance: an overview. **Revue Scientifique Technique Office / Office International des Epizooties**, v. 20, p. 797-810, 2001.
- ANDRIOLO, A. **Guias de medicina ambulatorial e hospitalar**. São Paulo: Manole, 2005.
- ANNEMÜLLER, C. et al. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 69, p. 217-224, 1999.
- ARIAS, M. V. B; CARRILHO, C. M. D. M. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 775-790, abr. 2012.
- BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically*. In:

- MURRAY, P. R. et al. **Manual of clinical microbiology**. Washington: American Society Microbiology, 2003. p. 384-404.
- BELKUM, A. et al. Dissemination of a single clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among Turkish hospitals. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 35, n. 4, p. 978-981, 1997.
- BEOVIC, B. The issue of antimicrobial resistance in human medicine. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 112, n. 3, p. 280-287, 2006.
- BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **Veterinary Journal**, v.164, p.116-128, 2002.
- BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J. The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 547-568, 2004.
- BRAMLEY, A. J. et al. **Current concepts of bovine mastitis**, 4. ed. Madison: National Mastitis Council. 1996. 64 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva, SIH/SUS, DATASUS, Brasília, 1998.
- BRAUNWALD, E. et al. **Harrison Medicina Interna**. 15. ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill Interamericana do Brasil, 2002.
- CARLES-NURIT, M. J. et al. DNA polymorphism in methicillin-susceptible and methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 30, n. 8, p. 2092-2096, 1992.
- CARMO, L. S. et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. **Food Microbiology**, Washington, v. 19, p. 9-14, 2002.
- CARRILHO, C. M. D. M. et al. Multivariate analysis of the factors associated with the risk of pneumonia in intensive care units. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 11, n. 3, p. 339-344. 2007.
- CASSETTARI, V. C.; STRABELLI, T.; MEDEIROS, E. A. S. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? **Brazilian Journal Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 70-76, 2005.
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals**: Approved standard. 2. ed. Wayne, PA: CLSI / NCCLS, 2002. 86 p. NCCLS document M31-A2.
- COELHO, S. M. O. et al. Mapeamento do perfil de resistência e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus intermedius* oxacilina-resistentes isolados de espécies humanas e animais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n.1, p. 195-200, jan./fev. 2007.
- DEHAUMONT, P. OIE international standards on antimicrobial resistance. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 5 1, p. 411-414, 2004.
- DEVRIESE, L. A. et al. Presence of vancomycin-resistant enterococci in farm and pet animals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 40, n. 10, p. 2285-2287, 1996.
- DINGWELL, R. T.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. Management of the dry cow in control of peripartum disease and mastitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 19, n. 1, p. 235-265, 2003.
- DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676 p.
- ELVINGER, F.; NATZKE, R. Elements of Mastitis Control. In: VAN HORN, H. H.; WILCOX, C. J. **Large dairy management**. Champaign: American Dairy Science Association, p. 440-447, 1992.
- ERSKINE, R. et al. Bovine mastitis pathogens and trends in resistance to antibacterial drugs. National Mastitis Council Annual Meeting, 43, 2004, Charlotte NC. **Proceedings...** Charlotte: NMC, 2004. p. 400-414.
- ERSKINE, R. J.; WAGNER, S. A.; DEGRAVES, F. J. Mastitis therapy and pharmacology. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.19, n.1, p.109-138, 2003.
- FERREIRA, L. M. **Epidemiologia molecular aplicada ao monitoramento de estirpes de *Staphylococcus aureus* envolvidas em casos de mastite bovina**. 2008. 88 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.
- GENTILINI, E. et al. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1224-1227, 2000.
- GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. **Guia de antimicrobianos em veterinária**. Porto Alegre: Artmed, 2010. 268 p.
- HALPIN-DOHNALEK, M. I.; MARTH, E. H. *Staphylococcus aureus*: production of extracellular compounds and behavior in foods: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 52, n. 4, p. 267-282, 1989.
- ICHIYAMA, S. et al. Genomic DNA finger printing by pulsed-field electrophoresis as an epidemiological marker for study of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical**

- Microbiology**, Washington, v. 29, n. 12, p. 2690-2695, 1991.
- KONEMAN, E. et al. **Diagnóstico microbiológico**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap. 11, parte 1.
- KÜMMERER, K. Resistance in the environment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 54, n. 2, p. 311-320, 2004.
- KURWIJILA, L. R. et al. Investigation of the risk of exposure to antimicrobial residues present in marketed milk in Tanzania. **Journal of Food Protection**, v. 69, p. 2487-2492, 2005.
- KWOK, A. Y. C.; CHOW, A. W. Phylogenetic study of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species based on partial hsp60 gene sequences. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 87-92, 2003.
- LANGENEGGER, J.; FIGUEIREDO, M. P.; REZENDE, E. F. Eficácia terapêutica do cefacetile frente aos microrganismos dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* isolados de mastites subclínicas. **A Hora Veterinária**, v. 30, p. 24-27, 1986.
- LARCOMBE, L. et al. Rapid emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among children and adolescents in northern Manitoba, 2003-2006. **Canada Communicable Disease Report**, v. 33, n. 2, p. 9-14, 2007.
- LARS, B. J.; AARESTRUP, F. M. Regulation of *erm(C)* gene in staphylococci from reservoir with different usage of macrolides. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 46, p. 163-166, 2005.
- LOPES, H. V. CA-MRSA: um novo problema para o infectologista. **Rev Panam Infectol**, v. 7, n. 3, p. 34-6, 2005.
- MA, Y. et al. Effects of cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 264-274, 2000.
- MACHADO, A. et al. Cost-effectiveness of linezolid versus vancomycin in mechanical ventilation-associated nosocomial pneumonia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, n. 3, p. 191-200, 2005.
- MARTINEZ, J. L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Environmental Pollution**, Amsterdam, v. 157, n. 11, p. 2893-2902, 2009.
- MATEU, E.; MARTIN, M. Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? **Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, Berlin, v. 48, n. 8, p. 569-581, 2001.
- MEDEIROS, E. S. et al. Avaliação *in vitro* da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 71-75, 2009.
- MORONI, P. et al. Short communication: Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2973-2976, 2006.
- MORVAN, A. et al. Contribution of a typing method based on IS256 probing of *Sma*I digested cellular DNA to discrimination of European phage type 77 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 35, n. 6, p. 1415-1423, 1997.
- MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.
- MOYAERT, H. et al. Acquired antimicrobial resistance in the intestinal microbiota of diverse cat populations. **Research in Veterinary Science**, London, v. 81, n. 1, p. 1-7, 2006.
- MULVEY, M. R. et al. Similar cefoxitin-resistance plasmids circulating in *Escherichia coli* from human and animal sources. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 134, n. 3-4, p. 279-287, 2009.
- NADER FILHO, A. et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, p. 53-56, 1985.
- NORMANNO, G. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 117, n. 2, p. 219-222, 2007.
- PEREIRA, K. S.; PEREIRA, J. L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 129, p. 32-34, 2005.
- PEREIRA, M. A. et al. Estafilococos: até onde sua importância em alimentos? **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 68, p. 32-39, 2000.
- PEREIRA, M. L.; PEREIRA, J. L.; SERRANO, A. M. Estafilococos e alimentos: possibilidades de disseminação através do portador humano e animal. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, p. 48-55, 1999.
- PHILLIPS, I. et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 53, n. 1, p. 28-52, 2004.
- PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. São Paulo: Milkbizz, 2002. 192 p.

- PITKÄLÄ, A. et al. Bovine mastitis in Finland 2001 – Prevalence, distribution of bacteria and antimicrobial resistance. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 2433-2441, 2004.
- RAPINI, L. S. et al. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 1, p. 130-133, 2004.
- RATTI, R. P.; SOUSA, C. P. *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicadas**, v. 30, n. 2, p. 9-16, 2009.
- REGULA, G. et al. Prescription patterns of antimicrobials in veterinary practices in Switzerland. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 63, n. 4, p. 805-811, 2009.
- RIBEIRO, J. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among patients visiting the emergency room at a tertiary hospital in Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 52-5, 2005.
- RODRIGUEZ, J. A. G. et al. **Procedimientos em microbiología clínica: métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos**. 2000. Disponível em: < <http://www.seimc.org/protocolos/cap11.htm> >. Acesso em: 15 jul. 2011.
- SABOUR, P. M. et al. Molecular typing and distribution of *Staphylococcus aureus* isolates in Eastern Canadian Dairy Herds. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 3449-3455, 2004.
- SANTOS, J. M.; MAIA, A. S. A. Sem technique for preparing biological control agents of nematodes in action. **Acta Microscopica**, Rio de Janeiro, v. 6, suppl. B, p. 550-551, 1997.
- SANTOS, M. V.; MA, Y.; BARBANO, D. M. Effects of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2491-2503, 2003.
- SASAKI, T. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudointermedius* in a Veterinary Teaching Hospital. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 45, n. 4, p. 1118-1125, 2007.
- SCHECHTER, M.; MARANGONI, D. V. **Doenças infecciosas: conduta, diagnóstico e terapêutica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- SEARS, P. M.; MCCARTHY, K. K. Diagnosis of mastitis for therapy decisions. **The Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 19, p. 93-108, 2003.
- SINGER, R. S. et al. Antibiotic resistance – the interplay between antibiotic use in animals and human beings. **Lancet Infectious Diseases**, New York, v. 3, n. 1, p. 47-51, 2003.
- SMITH, K.; HOGAN, J. Environmental Mastitis. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**. v. 9, n. 3, p. 489-498, 1993.
- SOUZA, V. **Epidemiologia molecular dos *Staphylococcus aureus* isolados em diferentes pontos do fluxograma de produção do leite**. 2010. 67 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.
- SRINIVASAN, A.; DICK, J. D.; PERL, T. M. Vancomycin resistance in staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 3, p. 430-438, 2002.
- TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2002. cap. 1-5.
- TEIXEIRA, L. A. et al. Geographic spread of epidemic multiresistant *Staphylococcus* spp. clone in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 33, n. 9, p. 2400-2404, 1995.
- UDO, E. E. et al. Molecular characterization of epidemic ciprofloxacin and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains colonizing patients in an intensive care unit. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 34, n. 12, p. 3242-3244, 1996.
- UMBER, J. K.; BENDER, J. B. Pets and antimicrobial resistance. **Veterinary Clinics North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 39, n. 2, p. 279-292, 2009.
- UNGEMACH, F. R.; MÜLLER-BAHRDT, D.; ABRAHAM, G. Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. **International Journal of Medical Microbiology**, Stuttgart, v. 296, p. 33-38, 2006.
- VAN DEN BOGAARD, A. E.; STOBBERINGH, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics. Link between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 14, n. 4, p. 327-335, 2000.
- VELÁZQUEZ-MEZA, M. E. *Staphylococcus aureus* methicillin-resistant: emergence and dissemination. **Salud Pública de México**, v. 47, p. 381-387, 2005.
- VOLKMAN, H. et al. Avaliação microbiológica de diferentes tipos de queijos produzidos em Rodeio, 69 SC. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 57, n. 327, p. 165-166, 2002.
- WATTS, J. L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 16, p. 41-68, 1988.

WEESE, J. S.; VAN DUIJKEREN, E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudointermedius* in veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 140, n. 3, p. 418-429, 2010.

WILSON, D. J.; GONZALES, R. N.; DAS, H. H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 2592-2598, 1997.

ZADOKS, R. N. et al. Mastitis-causing streptococci are important contributors to bacterial counts in raw bulk tank milk. **Journal of Food Protection**, v. 67, p. 2644-2650, 2004.