



Artigo de Revisão

Mastite bovina causada por *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina: revisão de literatura¹

José Givanildo Silva^{2*}, Adrienne M. Alcântara² e Rinaldo A. Mota²

ABSTRACT. Silva J.G., Alcântara A.M. & Mota R.A. 2018. [**Bovine mastitis caused by *Staphylococcus* spp. Methicillin-resistant: literature review.**] Mastite bovina causada por *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina: revisão de literatura. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 38(2):223-228. Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brazil. E-mail: givanildojgs@gmail.com

The most related microorganism in cases of bovine mastitis are *Staphylococcus* spp. Some strains of these microorganisms have shown virulence factors like antibiotic resistance genes, such as the resistance to methicillin, which represents a public health problem. This literature review aims to compile data related to bovine mastitis caused by *Staphylococcus* spp. Methicillin-resistant (MRS). Despite this antimicrobial not be commonly used in the treatment of mastitis, the frequency of cases of infection of the mammary gland caused by MRS has ranged from 1.34 to 47.6%. It is believed that the contact of humans with animals positive for MRS and vice versa favors the transmission of this pathogen among species, contributing to the variation in infection rates. MRS detection can be performed by phenotypic tests, molecular tests or serological tests and control measures must be taken such as the identification of cases, animal segregation, epidemiological study of the infection source of herd and the constant cleanliness and hygiene of the confined environment, equipment and milking utensils. Mastitis cases caused by this pathogen are of great relevance to public health because the ingestion of contaminated and/or derived from milk may trigger the transfer of MRS for human. Thus, a constant warning is required on the epidemiological surveillance in dairy farms.

INDEX TERMS: Mastitis, cattle, *Staphylococcus* spp., methicillin, pathogenic microorganism, antimicrobial resistance, epidemiology, bacterioses.

RESUMO. *Staphylococcus* spp. são os micro-organismos mais relacionados a casos de mastite bovina. Algumas cepas destes micro-organismos têm apresentado fatores de virulência como genes de resistência a antimicrobianos com destaque para a resistência à meticilina que é um problema de saúde pública. Esta revisão de literatura tem o objetivo de compilar dados sobre a mastite bovina causada por *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina (MRS). Apesar desse antimicrobiano não ser comumente utilizado no tratamento das mastites,

a frequência de casos de infecção da glândula mamária causada por MRS tem variado entre 1,34 a 47,6%. Acredita-se que o contato dos humanos com animais positivos para MRS e vice-versa favoreça a transmissão deste patógeno entre as espécies, contribuindo para a variação nas taxas de infecção. A detecção de MRS pode ser realizada por meio de provas fenotípicas, moleculares ou sorológicas e as medidas de controle devem contemplar a identificação dos casos, segregação dos animais, estudo epidemiológico da fonte de infecção do rebanho, além da constante limpeza e higienização do ambiente de confinamento, equipamentos e utensílios de ordenha. Casos de mastite ocasionados por esse patógeno assumem relevância para a saúde pública, pois a ingestão de leite e/ou derivados contaminados podem desencadear a transferência de MRS para seres humanos. Com isso, é necessário um alerta constante quanto à vigilância epidemiológica em fazendas leiteiras.

¹ Recebido em 4 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 31 de janeiro de 2017.

² Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil. *Autor para correspondência: givanildojgs@gmail.com

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Mastite bovina, *Staphylococcus* spp., metilina, Micro-organismo patogênico, resistência a antimicrobianos, epidemiologia, bacterioses.

INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são encontradas naturalmente nas mucosas do trato respiratório, urogenital e digestivo de seres humanos e animais. Já foram descritas mais de 30 espécies de *Staphylococcus* spp., sendo que algumas são frequentemente associadas a uma ampla variedade de infecções de caráter oportunista (Quinn et al. 1999).

Dentre as espécies de estafilococos, *Staphylococcus aureus* é considerado um importante patógeno transmitido por alimentos e causador de doenças transmitidas entre seres humanos e animais, incluindo infecções da glândula mamária, também conhecidas como mastites (Lee et al. 2012). Segundo Omoe et al. (2005), *S. aureus* é a espécie mais frequentemente associada a casos e surtos de intoxicação alimentar, devido à capacidade de algumas cepas produzirem vários tipos de enterotoxinas (EE).

Além da intoxicação estafilocócica, outra grande questão que preocupa os profissionais de saúde é a resistência aos antimicrobianos apresentada por algumas cepas de *Staphylococcus* spp. No caso específico das mastites bacterianas, o principal tratamento de eleição é a antibioticoterapia. Porém, o uso elevado de antimicrobianos ou a sua utilização de forma indiscriminada aumenta o risco de seus resíduos no leite. Isso contribui para a contaminação do ambiente, da cadeia alimentar e com o surgimento de cepas resistentes a drogas de importância para a saúde humana, a exemplo de *Staphylococcus* spp., resistente à metilina (MRS) (Raia Junior 2001, Rollin 2001, Tetzner 2005). Uma vez que pode ocorrer a transmissão cruzada interespecífica de linhagens resistentes pelo consumo de alimentos de origem animal, evidencia-se um risco para a saúde dos consumidores (Stöhr & Wegener 2001, Guimarães 2011).

Dentre as resistências a antimicrobianos observadas em estafilococos, à metilina é uma das mais preocupantes em termos de saúde pública, pois cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) são comumente identificadas como causadoras de infecções hospitalares, até mesmo nas unidades de terapia intensiva (UTI). Além disso, algumas delas também podem produzir enterotoxinas, comprometendo ainda mais a saúde dos pacientes (Intrakamha et al. 2012, Rabelo et al. 2014).

Perante o exposto, objetivou-se compilar dados a respeito da mastite bovina causada por *Staphylococcus* spp. resistente à metilina (MRS).

REVISÃO DE LITERATURA

Staphylococcus spp.

O gênero *Staphylococcus* é caracterizado em testes morfológicos como cocos que se coram como positivo no teste de Gram, com diâmetro de 0,5 a 1,5µm, sem motilidade, oxidase negativo e não formadores de esporos. Além disso, várias espécies são anaeróbias facultativas e produtores de catalase. Existem mais de 30 espécies de *Staphylococcus* spp. e, grande parte é comensal da pele e mucosas de seres

humanos e animais, sendo encontrada nas mucosas do trato respiratório, urogenital e digestivo (Quinn et al. 1999).

Staphylococcus spp., são típicos micro-organismos mesófilos, apresentando crescimento na faixa de 7°C a 48°C, sendo a temperatura de 37°C considerada ideal para seu desenvolvimento. Além disso, são tolerantes à concentração de 5-7% de NaCl e à redução da atividade de água (A_w) (Adams & Moss 2008).

Tradicionalmente os estafilococos são divididos em duas categorias: *Staphylococcus* coagulase negativo, que geralmente compõem a microbiota natural dos seres humanos e animais, e positivo que apresentam maior potencial patogênico, tendo como principal representante *Staphylococcus aureus* (Hirsh & Zee 1999, Neves et al. 2007). Essa classificação baseia-se na capacidade do micro-organismo coagular o plasma, sendo considerado um importante fator de patogenicidade dos estafilococos.

Contudo, tem crescido o interesse no estudo de *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN) visto que, tais micro-organismos têm sido relacionados como agentes causadores de infecções, a exemplo das mastites, em seres humanos e animais (Cunha et al. 2004, Santos 2008, Medeiros et al., 2013). Além disso, já foram detectadas cepas produtoras de EE e portadoras de genes de resistência a antimicrobianos em isolados de SCN aumentando, dessa forma, sua importância clínica (Oliveira 1999, Borges et al. 2008).

Espécies de estafilococos são comumente relacionados como causadoras de mastite em animais de produção, a exemplo dos bovinos (Langoni et al. 2006). Esses micro-organismos, geralmente, são causadores de mastite contagiosa caracterizada por uma alta ocorrência de casos subclínicos, onde não são observadas alterações macroscópicas no leite, glândula mamária e sistêmica no animal (Bergonier et al. 2003, Muricy 2003, Mota et al. 2012). Com isso, há o risco de contaminação de equipamentos e utensílios, além da possibilidade de veiculação desse patógeno através de leite e derivados para seres humanos, podendo desencadear casos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (Adams & Moss 2008).

Outra implicação na saúde pública de *Staphylococcus* spp. causadores de mastites, diz respeito à presença de cepas resistentes a antimicrobianos e a capacidade da transferência dos genes de resistência a seres humanos, a exemplo da metilina.

Apesar da metilina não ser geralmente utilizada no tratamento de mastites, cepas de MRS têm sido identificadas em fazendas leiteiras (Moon et al. 2007, Feßler et al. 2010; Lim et al. 2013, Paterson et al. 2014a). A transmissão horizontal de MRS entre bovinos leiteiros e trabalhadores das fazendas já foi relatada (Juhász-Kaszanyitzky et al. 2007), sugerindo que o contato entre seres humanos e animais e vice-versa pode favorecer a transmissão de tais cepas (Lim et al. 2013). Além disso, a resistência a metilina confere uma resistência virtual a praticamente todos os β-lactâmicos, exceto às cefalosporinas de última geração, fato que dificulta o tratamento em casos de infecções (Peacock & Paterson 2015).

***Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina (MRS)**

A meticilina é um antimicrobiano da classe dos betalactâmicos, lançada comercialmente no início da década de 60. Cerca de um ano após o início de sua comercialização foi identificado o primeiro isolado clínico de MRSA (Jevons 1961). A partir de então, relatos da identificação de amostras de MRS tornaram-se frequentes.

A resistência de *Staphylococcus* spp. à betalactâmicos, a exemplo da meticilina, ocorre pela produção de betalactamase ou pela modificação no sítio de ação dos betalactâmicos.

A betalactamase é uma enzima extracelular que age sobre o anel betalactâmico, provocando sua hidrólise e, conseqüente, inativação (Garino Junior et al. 2011). Essa enzima é codificada pelo gene *blaZ*, por meio de plasmídeo ou cromossomo, que produz uma penicilinase após exposição de *Staphylococcus* spp. a antimicrobianos betalactâmicos. Após sua expressão, a betalactamase inativa o medicamento através da clivagem do anel betalactâmico. A capacidade hidrolítica da betalactamase depende de alguns fatores como sua localização, cinética, quantidade e condições físico-químicas (Livermore 2000). Além disso, o uso indiscriminado de antimicrobianos gera uma pressão seletiva para o aparecimento dessa resistência (McDougal & Thornsberry 1986, Livermore 2000, Torimiro et al. 2013, Dias et al. 2015).

A modificação no sítio de ação dos betalactâmicos é um mecanismo de resistência mediado pelos *Staphylococcus* Cassete Cromossomo (SCCmec), que são elementos genéticos móveis. Esse é o mecanismo de resistência observado nas amostras de MRS. Os betalactâmicos agem através de ligação com as proteínas de ligação à penicilina (PBP), resultando na lise das células bacterianas. O SCCmec possui o gene *mecA* que codifica uma PBP semelhante a PBP2a/PBP2' que possui reduzida afinidade aos betalactâmicos, permitindo que os *Staphylococcus* spp. mantenham sua biossíntese até em concentração consideradas inibitórias desses antimicrobianos (Livermore 2000, Paterson et al. 2014a).

Em 2009 um estudo realizado por Garcia-Alvarez (2009) sobre a epidemiologia da mastite bovina na Inglaterra identificou, em amostras de leite de tanques, uma cepa de *S. aureus* que apresentava características fenotípicas de MRSA (resistência a oxacilina e cefoxitina). Essa cepa foi identificada como *S. aureus* LGA251 e apesar de apresentar perfil fenotípico, foi negativa para o gene *mecA* pela técnica de PCR. Posteriormente, essa cepa foi sequenciada e os resultados do genoma demonstraram que ela possuía um gene homólogo (aproximadamente 69% de identidade) ao *mecA*, com isso recebeu a denominação de *mecA*_{LGA251} (Garcia-Alvarez et al. 2011). Porém, em 2012 o *mecA*_{LGA251} foi renomeado para *mecC*, pois apresenta menos de 90% de homologia com o *mecA* (Ito et al. 2012). Desde a sua primeira descrição, têm aumentado a identificação de MRS portadores do gene *mecC*, principalmente na Europa entretanto, até o presente momento não há relatos de MRS portador de *mecC* no continente americano (Paterson et al. 2014a, Concepción Porrero et al. 2014).

Cepas de MRS já foram identificadas em casos de mastite bovina em diversas partes do mundo como Grã-Bretanha, Coréia e Alemanha (Feßler et al. 2010, Lim et al. 2013, Paterson et al. 2014a). No Brasil, existem poucos estudos que identificaram casos de mastite causados por MRS, demonstrando a necessidade da realização de estudos que venham a contribuir para a epidemiologia da infecção por esse patógeno no país (Guimarães 2011, Silva et al. 2014).

***Staphylococcus* spp., resistente à meticilina em casos de mastite bovina**

Aspectos epidemiológicos e clínicos. O primeiro relato da infecção de MRS em animais domésticos ocorreu em 1972, na Bélgica, e tratava-se de casos de mastite em vacas leiteiras (Devriese et al. 1972). Desde então, esporadicamente, são relatados casos de mastite ocasionados por esse agente etiológico (Feßler et al. 2010, Lim et al. 2013, Paterson et al. 2014a). A disseminação de MRS no ambiente pecuário, principalmente da espécie *S. aureus* levou a criação do termo LA-MRSA, do inglês *MRSA associated with livestock* que em português poderia ser traduzido como MRSA ligado ao ambiente pecuário (Huber et al. 2010).

A meticilina não é um antimicrobiano comumente utilizado no tratamento de mastites, porém já foi reportado que o contato entre seres humanos com animais positivos para MRS e vice-versa pode favorecer a transmissão do patógeno entre as espécies. No estudo realizado por Juhász-Kaszanyitzky et al. (2007) com vacas acometidas por mastite subclínica e trabalhadores (veterinários, ordenhadores e assistentes) de fazendas leiteiras na Hungria foi sugerida a transmissão horizontal de isolados de MRSA entre seres humanos e vacas. A possibilidade dessa forma de transmissão do patógeno surge como um fator a ser considerado na epidemiologia das mastites causadas por MRS que é o caráter ocupacional da infecção. Fato corroborado pelos resultados obtidos no estudo realizado por Wulf et al. (2008) com 272 veterinários de todo o mundo em que foi identificado MRSA em 34 (12,5%) profissionais, segundo os autores profissionais que têm contato direto com animais apresentam um risco potencial de tornarem-se portadores do patógeno.

Além da possibilidade de transmissão entre seres humanos e animais, o ambiente também pode ser uma das fontes de infecção de MRS para os animais. Sabe-se que o MRS pode sobreviver durante meses no ambiente, desde que existam condições favoráveis a sua manutenção, como umidade e temperatura. Em estudo realizado por Lim et al. (2013), foram isoladas cepas de MRS de teteadas, piso, cercas de proteção e do sistema de ventilação de fazendas leiteiras na Coréia. Segundo os autores, os resultados do estudo demonstram a necessidade da adoção de medidas preventivas quanto à transmissão de MRS entre humanos, animais e ambiente das fazendas.

Nos rebanhos leiteiros as taxas de infecção podem variar de 1,34 a 47,6% (Quadro 1). A mastite ocasionada por MRS apresenta curso clínico homólogo à desencadeada por outros *Staphylococcus* spp. que se caracteriza pela forma subclínica da infecção, com elevação na quantidade de células somáticas (>200.000 céls/mL). Entretanto há relatos da manifestação clínica da doença, ocasionada por MRS, nesses casos os animais apresentam um quadro agudo da infecção, onde são observadas alterações macroscópicas no leite, no tecido mamário e sistêmicas no animal (Chandrasekaran et al. 2014a, 2014b, Pu et al. 2014, Lim et al. 2013, Vanderhaeghen et al. 2010).

Técnicas de diagnóstico da mastite causada por MRS. Como mencionado anteriormente, na mastite desencadeada pelo MRS há predominância de casos subclínicos. Com isso, a contagem eletrônica de células somáticas (CCS) no leite pode ser utilizada como técnica de triagem com posterior isolamento e/ou identificação do micro-organismo. Amostras

Quadro 1. Frequência de *Staphylococcus* Meticilina-resistente (MRS) em casos de mastite bovina

Local	Micro-organismo	Frequência de MRS	Referência
Coreia do Sul	<i>S. aureus</i>	1,34% (12/894)	Lee (2003)
Alemanha e Suíça	<i>S. aureus</i>	1,56% (2/128)	Monecke et al. (2007)
Coreia do Sul	<i>S. aureus</i>	2,5% (21/840)	Moon et al. (2007)
	SCN*	2,4% (19/840)	
Egito	<i>S. aureus</i>	3,15% (3/95)	Kamal et al. (2013)
Índia	<i>S. aureus</i>	3,15% (3/95)	Chandrasekaran et al. (2014b)
Bélgica	<i>S. aureus</i>	9,3% (11/118)	Vanderhaeghen et al. (2010)
Paquistão	<i>S. aureus</i>	10,38% (8/77)	Farzana et al. (2004)
Turquia	<i>S. aureus</i>	17,5% (18/103)	Turutoglu et al. (2006)
Brasil – Distrito Federal	<i>S. aureus</i>	22,8% (17/75)	Andrade (2012)
Brasil – Paraíba	<i>Staphylococcus</i> spp.	30,43% (14/46)	Matos (2014)
China	<i>S. aureus</i>	47,6% (49/103)	Pu et al. (2014)

*SCN = *Staphylococcus* Coagulase Negativo.

de leite com CCS superior a 200.000 células/mL podem ser submetidas a pesquisa de MRS (Lim et al. 2013).

Para o isolamento de MRS as amostras de leite podem ser plaqueadas em vários meios de culturas como o ágar base acrescido de sangue ovino, o ágar MRSA (seletivo para *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina), ágar Muller Hinton e o ágar sal manitol. As condições de crescimento são praticamente as mesmas nesses meios de cultura, incubação na faixa de 35-37°C por 24/48 horas, sob aerobiose. Antes do plaqueamento pode ser realizado um pré-enriquecimento em meios líquidos como caldo Muller Hinton contendo 6,5% de NaCl e/ou caldo triptona de soja contendo cefoxitina (3,5mg/L) (Kamal et al. 2013, Lim et al. 2013, Chandrasekaran et al. 2014b, Vishnupriya et al. 2014). Após o crescimento das colônias podem ser realizadas provas bioquímicas como teste da catalase, coagulase e fermentação da glicose para diferenciação das espécies de estafilococos (Silva et al. 1997).

Fenotipicamente a resistência a meticilina pode ser identificada por meio dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos e concentração inibitória mínima (CIM), em ambos as drogas de eleição são a cefoxitina e/ou oxacilina (CLSI 2008). De acordo com Muller (2009), pode-se tentar aumentar a expressão da resistência à meticilina submetendo o micro-organismo a uma temperatura de incubação entre 33-35°C por 24 horas e com a adição de cloreto de sódio ao meio de cultura onde será realizado o crescimento microbiano.

A nível molecular é possível identificar MRS utilizando a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) por meio da amplificação dos genes *mecA* e *mecC*. A PCR atualmente é a técnica de maior utilização para detecção de MRS, pois como baseia-se na amplificação de DNA gera resultados confiáveis, diminuindo o risco da identificação de falsos negativos (Muller 2009, Paterson et al. 2012a, Chandrasekaran et al. 2014a). Adicionalmente à PCR, existem técnicas como a *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE) e a *Multi-Locus Sequence typing* (MLST) que são importantes ferramentas em estudos de epidemiologia molecular. A partir do emprego dessas técnicas é possível realizar a tipagem das amostras de MRS, rastrear sua origem e analisar a correlação genética das amostras, tais informações podem ser consideradas para a instituição de medidas de controle do patógeno nos rebanhos (MCDougal et al. 2003, Juhász-Kaszanyitzky et al. 2007, Paterson et al. 2012b, Lim et al. 2013).

Outro método de detecção de MRSA é a identificação da proteína PBP2a, codificada pelos genes de resistência a meticilina. Para isso existem testes comerciais de aglutinação em látex e Elisa (Muller 2009, Paterson et al. 2014b).

Controle e prevenção. As medidas de controle da mastite causada pelo MRS contemplam identificação dos casos e do patógeno, segregação dos animais e estudo epidemiológico da fonte de infecção para o rebanho.

Inicialmente deve-se realizar a identificação dos animais portadores, para que os mesmos sejam separados do rebanho para tratamento. Por se tratar de uma mastite bacteriana, a antibioticoterapia é o tratamento de eleição, como o MRS confere uma resistência a praticamente todos os betalactâmicos, o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos pode fornecer informações de quais drogas podem ou não ser utilizadas. No tratamento de infecções causadas por MRS em ambiente hospitalar utiliza-se a vancomicina, apesar de já terem sido identificadas cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes a esse antimicrobiano. Animais cronicamente infectados e/ou que apresentem casos de mastite recorrentes devem ser descartados, por se tratar de uma importante fonte de infecção para o rebanho (Radostits et al. 2000, Rabelo et al. 2014, Peacock & Paterson 2015).

O caráter ocupacional da infecção por MRS deve ser levado em consideração nos inquéritos epidemiológicos de mastite bovina, pois a fonte de infecção para as vacas pode ser um trabalhador (veterinário, ordenhador, técnico agropecuário, entre outros) que tenha contato direto com os animais. Nesse sentido, é essencial a adoção de hábitos higiênicos, além da realização de exames no ato da admissão e periodicamente com esses profissionais (Juhász-Kaszanyitzky et al. 2007, Wulf et al. 2008, Lim et al. 2013).

Além disso, equipamentos e utensílios de ordenha, bem como o ambiente de confinamento dos animais devem permanecer limpos e higienizados, pois também podem ser fontes de infecção tanto para o rebanho quanto para os trabalhadores das fazendas (Lim et al. 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A emergência de MRS em todo o mundo tem preocupado os profissionais de saúde humana e animal. Nesse contexto, casos de mastite ocasionados por esse patógeno assumem

relevância para a saúde pública, pois a ingestão de leite e/ou derivados contaminados podem desencadear a transferência de genes de resistência para seres humanos.

Em relação às fazendas, esse patógeno causa prejuízos de ordem econômica devido à queda na produção e qualidade do leite e descarte de animais bem como perdas de ordem sanitária, por se tratar de um patógeno contagioso.

Com isso, é necessário um alerta constante quanto à introdução de animais no rebanho, controle e tratamento dos casos de mastite, saúde dos funcionários e limpeza do ambiente das fazendas leiteiras.

REFERÊNCIAS

- Adams M.R. & Moss M.O. 2008. Food Microbiology. 3rd ed. Royal Society of Chemistry, UK.
- Andrade H.H. 2012. Genotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* isolados de mastites subclínicas bovina no Distrito Federal e Entorno. Dissertação de Mestrado em Saúde Animal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília.
- Bergonier D., De Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G. & Berthelot X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34(5):689-716. PMID:14556701. <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2003030>.
- Borges M.F., Nassu R.T., Pereira J.L., Andrade A.P.C. & Kuaye A.Y. 2008. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. *Ciência Rural.* 38(5):1431-1438. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000500037>.
- Chandrasekaran D., Venkatesan P., Tirumurugaan K.G., Nambi A.P., Thirunavukkarasu P.S., Kumanan K. & Vairamuthu S. 2014a. A study on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy cattle. *J. Appl. Nat. Sci.* 6(2):356-361.
- Chandrasekaran D., Venkatesan P., Tirumurugaan K.G., Nambi A.P., Thirunavukkarasu P.S., Kumanan K., Vairamuthu S. & Ramesh S. 2014b. Pattern of antibiotic resistant mastitis in dairy cows. *Vet. World* 7(6):389-394. <http://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2014.389-394>.
- CLSI 2008. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 18th Supplement (M100-S18). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Wayne, PA.
- Concepción Porrero M., Harrison E.M., Fernández-Garayzábal J.F., Paterson G.K., Díez-Guerrero A., Holmes M.A. & Domínguez L. 2014. Detection of *mecC*-Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in river water: a potential role for water in the environmental dissemination. *Environ. Microb. Rep.* 6(6):705-708. PMID:25756123. <http://dx.doi.org/10.1111/1758-2229.12191>.
- Cunha M.L., Sinzato Y.I. & Silveira L.V.A. 2004. Comparison of methods for the identification of coagulase negative *Staphylococci*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99(8):855-860. PMID:15761602. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762004000800012>.
- Devriese L.A., Van Damme L.R. & Fameree L. 1972. Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. *Zentralbl. Veterinärmed. B* 19(7):598-605. PMID:4486473. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0450.1972.tb00439.x>.
- Dias A.P.M., Pinheiro M.G. & Alves F.A. 2015. Características epidemiológicas e fatores de virulência em *Staphylococcus aureus*. *Revta Acta Sci. Tech.* 3(1):9-20.
- Farzana K., Shah S.N.H. & Jabeen F. 2004. Antibiotic resistance pattern against various isolates of *Staphylococcus aureus* from raw milk samples. *J. Res. Sci.* 15:145-152.
- Fefler A., Scott C., Kadlec K., Ehrlich R., Monecke S. & Schwarz S. 2010. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *J. Antimicrob. Chemother.* 65(4):619-625. PMID:20164198. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkq021>.
- García-Álvarez L. 2009. Assessment of the role of cattle movements and other risk contacts on the spread of *Staphylococcus aureus* strain types between UK dairy farms. PhD Thesis, University of Cambridge, UK.
- García-Álvarez L., Holden M.T., Lindsay H., Webb C.R., Brown D.F., Curran M.D., Walpole E., Brooks K., Pickard D.J., Teale C., Parkhill J., Bentley S.D., Edwards G.F., Girvan E.K., Kearns A.M., Pichon B., Hill R.L., Larsen A.R., Skov R.L., Peacock S.J., Maskell D.J. & Holmes M.A. 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet. Infect. Dis.* 11(8):595-603. PMID:21641281. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70126-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70126-8).
- Garino Junior F., Camboim E.K.A., Neves P.B., Sá A.V.V. & Almeida A.P. 2011. Suscetibilidade a antimicrobianos e produção de betalactamase em amostras de *Staphylococcus* isolados de mastite caprina no semiárido paraibano. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo* 78(1):103-107.
- Guimarães F.F. 2011. Perfil de sensibilidade microbiana, pesquisa de gene *mecA* de resistência à meticilina e detecção molecular de genes codificadores de enterotoxinas, em espécies de estafilococos coagulase positiva e negativa, isolados de mastites bovinas. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
- Hirsh D.C. & Zee Y.C. 1999. Veterinary Microbiology. Blackwell Science, p.115-117.
- Huber H., Koller S., Giezendanner N., Stephan R. & Zweifel C. 2010. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, livestock, and in food animal origin, Switzerland, 2009. *Euro Surveill.* 15(16):19542. PMID:20430001.
- Intrakamha M., Komutarin T., Pimpukdee K. & Aengwanich W. 2012. Incidence of enterotoxin-producing MRSA in bovine mastitis cases, bulk milk tanks and processing plants in Thailand. *J. Anim. Vet. Adv.* 11(5):655-661. <http://dx.doi.org/10.3923/javaa.2012.655.661>.
- Ito T., Hiramatsu K., Tomasz A., de Lencastre H., Perreten V., Holden M.T., Coleman D.C., Goering R., Giffard P.M., Skov R.L., Zhang K., Westh H., O'Brien F., Tenover F.C., Oliveira D.C., Boyle-Vavra S., Laurent F., Kearns A.M., Kreiswirth B., Ko K.S., Grundmann H., Sollid J.E., John Junior J.F., Daum R., Soderquist B. & Buist G., and the International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC) 2012. Guidelines for Reporting Novel *mecA* Gene Homologues. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56(10):4997-4999. PMID:22869575. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01199-12>.
- Jevons M.P. 1961. "Celbenin"-resistant *Staphylococci*. *Brit. Med. J.* 1(5219):124-125. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.1.5219.124-a>.
- Juhász-Kaszanyitzky É., Jánosi S., Somogyi P., Dán Á., Van Bloois L.G., Van Duikeren E. & Wagenaar J.A. 2007. MRSA transmission between cows and humans. *Emerg. Infect. Dis.* 13(4):630-632. PMID:17553285. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1304.060833>.
- Kamal R.M., Bayoumi M.A. & Abd el Aal S. 2013. MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. *Food Control* 33(1):49-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.02.017>.
- Langoni H., Domingues P.F. & Baldini S. 2006. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Revta Bras. Ciênc. Vet.* 13(1):51-54.
- Lee J.H. 2003. Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(11):6489-6494. PMID:14602604. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.11.6489-6494.2003>.
- Lee S.H.I., Camargo C.H., Gonçalves J.L., Cruz A.G., Sartori B.T., Machado M.B. & Oliveira C.F.A. 2012. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates in milk and the milking environment from small-scale dairy farms of São Paulo, Brazil, using pulsed-field gel electrophoresis. *J. Dairy Sci.* 95(12):7377-7383. PMID:23040016. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5733>.
- Lim S.K., Nam H., Jang G., Lee H., Jung S. & Kim T. 2013. Transmission and persistence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in milk, environment and workers in dairy cattle farms. *Foodborne Pathog. Dis.* 10(8):731-736. PMID:23746358. <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2012.1436>.

- Livermore D.M. 2000. Antibiotic resistance in *staphylococci*. Int. J. Antimicrob. Agents 16(supl. 1):3-10. PMID:11137402. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(00\)00299-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00299-5).
- Matos R.A.T. 2014. Resistência à metilina em estafilococos coagulase positivos e negativos causadores de infecções em animais de companhia e animais de produção. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, PB.
- McDougal L.K. & Thornsberry C. 1986. The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. J. Clin. Microbiol. 23(5):832-839. PMID:3011847.
- McDougal L.K., Steward C.D., Killgore G.E., Chaitram J.M., McAllister S.K. & Tenover F.C. 2003. Pulsed-Field Gel Electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a National Database. J. Clin. Microbiol. 41(11):5113-5120. PMID:14605147. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.11.5113-5120.2003>.
- Medeiros E.S., Freitas M.F.L., Pinheiro Júnior J.W., Saukas T.N., Krewer C.C., Santos A.S., Costa M.M. & Mota R.A. 2013. Bubaline mastitis etiology in Northeast of Brazil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 65(6):1891-1894. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000600043>.
- Monecke S., Kuhnert P., Hotzel H., Slickers P. & Ehrlich R. 2007. Microarray based study on virulence-associated genes and resistance determinants of *Staphylococcus aureus* isolates from cattle. Vet. Microbiol. 125(1-2):128-140. PMID:17614219. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.05.016>.
- Moon J.S., Lee A.R., Kang H.M., Lee E.S., Kim M.N., Paik Y.H., Park Y.H., Joo Y.S. & Koo H.C. 2007. Phenotypic and genetic antibiogram of methicillin-resistant staphylococci isolated from bovine mastitis in Korea. J. Dairy Sci. 90(3):1176-1185. PMID:17297092. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71604-1](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71604-1).
- Mota R.A., Medeiros E.S., Santos M.V., Pinheiro Junior J.W., Moura A.P.B.L. & Coutinho L.C.A. 2012. Participação dos *Staphylococcus* spp na etiologia das mastites em bovinos leiteiros no estado de Pernambuco (Brasil). Ciênc. Anim. Bras. 13(1):124-130.
- Muller R. 2009. Pesquisa de anticorpos anti-pbp2a em pacientes colonizados por *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA). Dissertação de Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.
- Muricy R.F. 2003. Ocorrência de mastite subclínica em caprinos e qualidade higiênico-sanitária do leite produzido em propriedades associadas à Cooperativa Languirú, Teutônia, RS. Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Neves M.C., Rossi Junior O.D., Alves E.C.C. & Lemos M.V.F. 2007. Detecção de genes da resistência antimicrobiana em cromossomos e plasmídeos de *Staphylococcus* spp. Arqs Inst. Biológico, São Paulo 74(3):2007-2013.
- Oliveira A.M. 1999. Investigação do comportamento de estafilococos enterotoxigênicos coagulase-negativos em alimentos. Tese de Doutorado em Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Omoe K., Hu D.L., Takahashi-Omoe H., Nakane A. & Shinagawa K. 2005. Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. FEMS Microbiol. Lett. 246(2):191-198. PMID:15899405. <http://dx.doi.org/10.1016/j.femsle.2005.04.007>.
- Paterson G.K., Harrison E.M. & Holmes M.A. 2014a. The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol. 22(1):42-47. PMID:24331435. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2013.11.003>.
- Paterson G.K., Morgan F.J.E., Harrison E.M., Peacock S.J., Parkhill J., Zadoks R.N. & Holmes M.A. 2014b. Prevalence and properties of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in bovine bulk tank milk in Great Britain. J. Antimicrob. Chemother. 69(3):598-602. PMID:24155057. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkt417>.
- Paterson G.K., Larsen A.R., Robb A., Edwards G.E., Pennycott T.W., Foster G., Mot D., Hermans K., Baert K., Peacock S.J., Parkhill J., Zadoks R.N. & Holmes M.A. 2012a. The newly described mecA homologue, mecALGA251, is present in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a diverse range of host species. J. Antimicrob. Chemother. 67(12):2809-2813. PMID:22941897. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dks329>.
- Paterson G.K., Larsen J., Harrison E.M., Larsen A.R., Morgan F.J., Peacock S.J., Parkhill J., Zadoks R.N. & Holmes M.A. 2012b. First detection of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in bulk tank milk in the United Kingdom, January to July 2012. Euro Surveill. 17(50):20337. PMID:23241232.
- Peacock S.J. & Paterson G.K. 2015. Mechanisms of MRSA resistance. Annual review biochem. 84.
- Pu W., Su Y., Li J., Li C., Yang Z., Deng H. & Ni C. 2014. High incidence of oxacillin-susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with bovine mastitis in China. Plos One 9(2):e88134. PMID:24523877. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0088134>.
- Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J. & Leonard F.C. 1999. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Blackwell Science.
- Rabelo M.A., Bezerra Neto A.M., Loibman S.O., da Costa Lima J.L., Ferreira E.L., Leal N.C. & Maciel M.A.V. 2014. The occurrence and dissemination of methicillin and vancomycin-resistant *Staphylococcus* in samples from patients and health professionals of a university hospital in Recife, State of Pernambuco, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 47(4):437-446. PMID:25229283. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0071-2014>.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2000. Clínica Veterinária. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Raia Junior R.B. 2001. Influência da mastite na ocorrência de resíduos antimicrobianos no leite. Dissertação de Mestrado em Farmácia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Rollin B. 2001. Ethics, science, and antimicrobial resistance. J. Agric. Environ. Ethics 14(1):29-37. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1011315022587>.
- Santos H.C. 2008. Mastite clínica em ovelhas da raça Santa Inês no semi-árido da Paraíba. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária de Ruminantes e Equídeos, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB.
- Silva N., Junqueira V.C.A. & Silveira N.F.A. 1997. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. Varela Editora, São Paulo.
- Silva N.C., Guimarães F.F., Manzi M.P., Fernandes Júnior A.F., Gómez-Sanz E., Gómez P., Langoni H., Rall V.L. & Torres C. 2014. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of lineage ST398 as cause of mastitis in cows. Lett. Appl. Microbiol. 59(6):665-669. PMID:25236329. <http://dx.doi.org/10.1111/lam.12329>.
- Stöhr K. & Wegener H.C. 2001. Non-human antibiotic use and resistance. Drugs Resist. Updates 3:2007-2009.
- Tetzner T.A.D. 2005. Prevalência de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru na região de Triângulo Mineiro, MG. Revta Hig. Alim. 19(130):69-72.
- Torimiro N., Moshood A.A. & Eyiolawi S.A. 2013. Analysis of Beta-lactamase production and antibiotics resistance in *Staphylococcus aureus* strains. J. Infect. Dis. Immun. 5(3):24-28. <http://dx.doi.org/10.5897/JID12013.0118>.
- Turutoglu H., Ercelik S. & Ozturk D. 2006. Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis. Bull. Vet. Res. Inst. Pul. 50:41-45.
- Vanderhaeghen W., Clerfaut T., Adriaenssens C., Vicca J., Hermans K. & Butaye P. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. Vet. Microbiol. 144(1-2):166-171. PMID:20092969. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.044>.
- Vishnupriya S., Antony P.X., Mukhopadhyay H.K., Pillai R.M., Thanissar J., Vivek Srinivas V.M. & Sumanth Kumar R. 2014. Methicillin resistant staphylococci associated with bovine mastitis and their zoonotic importance. Vet. World 7(6):422-427. <http://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2014.422-427>.
- Wulf M.W., Sørum M., Van Nes A., Skov R., Melchers W.J., Klaassen C.H. & Voss A. 2008. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study. Clin. Microbiol. Infect. 14(1):29-34. PMID:17986212. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01873.x>.