

## ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA MASTITE BOVINA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*\*

Luiz Francisco Zafalon<sup>1</sup>  
Helio Langoni<sup>2</sup>  
Fabiane Benvenuto<sup>3</sup>  
Livia Castelani<sup>3</sup>  
Caio Rivaben Broccolo<sup>4</sup>

### RESUMO

A finalidade deste trabalho foi monitorar os casos de mastite bovina e verificar a presença de *Staphylococcus aureus* como agente etiológico da doença. A sua presença em diferentes sítios de localização e a relação entre o aparecimento da doença e as características ambientais foram acompanhadas. As amostras de leite foram colhidas de quartos mamários com mastite clínica e subclínica e do tanque de expansão. Paralelamente, colheram-se amostras dos óstios papilares, insufladores dos conjuntos de ordenha e da água utilizada para a lavagem de tetos e da ordenhadeira, além da utilizada para a higienização das teteiras. A prevalência de *S. aureus* foi superior em períodos mais chuvosos. Os perfis de resistência à penicilina, oxacilina e sensibilidade apresentada aos demais antimicrobianos avaliados de *S. aureus* isolados das amostras de leite não diferiram em relação ao nível de células somáticas dos quartos mamários. Os microrganismos foram isolados do leite, óstios e insufladores e não foram encontrados nas outras fontes pesquisadas. Reações mais fortes na prova da coagulase foram encontradas para as amostras isoladas no leite, quando comparadas com as oriundas dos óstios e insufladores.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus*, mastite bovina, epidemiologia.

### EPIDEMIOLOGIC ASPECTS OF BOVINE MASTITIS BY *Staphylococcus aureus*

### ABSTRACT

The objectives of this work were detection of *Staphylococcus aureus* in the aetiology of bovine mastitis, and the presence of the microorganism in different sources, as well as, the relationship among mastitis and environmental characteristics. Milk samples were obtained from mammary quarters with clinical and subclinical mastitis and from bulk tank. The samples were collected from the teats orifices, mouthpieces of the liners and the water used to teat washing and machine milking cleaning, and the water used to teatcups cleaning. *S. aureus* prevalence was higher in rainy periods. The resistance of *S. aureus* isolates to the penicillin, oxacillin and sensitivity to all other tested antimicrobials did not differ in relation to the somatic cell levels of the mammary quarters. *S. aureus* were isolated from milk, teats orifices

\*Financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) – Processo nº 05/53856-3

<sup>1</sup> Pesquisador, Embrapa-Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, Km 234, Caixa Postal 339, São Carlos-SP

<sup>2</sup> Professor Titular, Depto. de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Unesp-FMVZ, Botucatu-SP

<sup>3</sup> Bolsistas Fundap – Instituto de Zootecnia – Centro de Bovinos de Leite, Nova Odessa-SP

<sup>4</sup> Bolsista – Treinamento técnico – Fapesp / Processo nº 06/50206-056

Endereço e autor para correspondência: Luiz Francisco Zafalon

Embrapa – Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste

Rodovia Washington Luiz, Km 234 / São Carlos – SP / CEP: 13560-970

Telefone: (16) 3341-5680 / Endereço eletrônico: zafalon@cnpse.embrapa.br

Zafalon, L.F. *et al.* Aspectos epidemiológicos da mastite bovina causada por *Staphylococcus aureus*. **Vet. e Zootec.** v.15, n.1, abr., p. 56-65, 2008.

and liners. Stronger reactions in coagulase test were showed to microorganisms isolated in the milk when compared with teats orifices and liners.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, bovine mastitis, epidemiology.

## ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LA MASTITIS BOVINA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*

### RESUMEN

La finalidad de este trabajo fue acompañar casos de mastitis bovina y verificar la presencia de *Staphylococcus aureus* en la etiología de la enfermedad. Se observó la presencia en sitios de localización diferentes y la relación entre el apareamiento de la enfermedad y las características ambientales. Muestras de la leche fueron colectadas de cuartos mamarios con mastitis clínica, subclínica y del tanque. De manera paralela, fueron tomadas muestras de los esfínters mamarios, pezoneras y del agua usada para lavado de los techos, la máquina ordeñadora y la higiene de las pezoneras. La prevalencia de *S. aureus* fue superior en períodos más lluviosos y la resistencia a la penicilina, oxacilina y sensibilidad a todos los antimicrobianos por las muestras, no discrepaban con el recuento celular de los cuartos de la ubre. Los microorganismos fueron aislados de la leche, de las esfínters mamarios y de las pezoneras y no fueron encontrados en otras fuentes pesquisadas. Reacciones más fuertes en la prueba de coagulasa fueron observadas en muestras de leche aislada, en comparación con aquellas provenientes de los esfínters y pezoneras.

**Palabras-clave:** *Staphylococcus aureus*, mastitis bovina, epidemiología

### INTRODUÇÃO

*Staphylococcus aureus* é reconhecido como o principal patógeno da mastite bovina e seus principais sítios de localização nos animais parecem ser os quartos infectados. A transmissão ocorre usualmente entre vacas durante a ordenha e o conhecimento da sua distribuição pode ajudar na formulação de estratégias para o controle da doença (SALASIA et al., 2004). Segundo Ferreira et al. (2006) o ambiente parece ter influência sobre o aparecimento de novos casos de mastite e foi verificada uma frequência superior de isolamentos de *S. aureus* em períodos com elevados índices pluviométricos.

A produção da coagulase pelo *S. aureus* constitui-se em um importante determinante fenotípico, uma vez que está associada à virulência destes microrganismos. Segundo Cunha Neto et al. (2002) há estudos para correlacionar a produção de enterotoxinas com a presença de enzimas como a coagulase. Para Halpin-Dohnalek e Marth, citados por Silva e Gandra (2004), a coagulase age como co-participante, juntamente com outras toxinas e fatores celulares, de um fenômeno complexo de patogenicidade estafilocócica.

Um dos fatores considerados para o controle das mastites é a resistência dos agentes etiológicos aos antimicrobianos. *S. aureus* de origem humana resistentes à meticilina podem apresentar resistência à penicilina, eritromicina, gentamicina, oxacilina, cefalotina, cloranfenicol, sulfametoxazol, ciprofloxacina e clindamicina (TEIXEIRA et al., 1995). Dessa maneira, o conhecimento de padrões de resistência aos antimicrobianos pode ser fundamental para o desenvolvimento de métodos preventivos efetivos para o controle da doença e para a elaboração de estratégias de tratamento quando necessárias (SABOUR et al., 2004).

No presente estudo objetivou-se realizar o acompanhamento dos casos de mastite bovina em uma propriedade experimental, verificar a participação de *S. aureus* na etiologia da doença e a sua presença em diferentes sítios de localização. Aspectos epidemiológicos da mastite relacionados com as condições ambientais, a sensibilidade/resistência demonstradas pelas amostras isoladas e as características de produção da coagulase foram abordados.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os animais faziam parte de fazenda experimental pertencente ao Centro de Bovinos de Leite do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, Estado de São Paulo, com ordenha realizada mecanicamente, duas vezes ao dia, em sistema com circuito fechado. Durante a colheita das amostras de leite, a mediana de 52 animais das raças Holandesa e Pardo-suíça permaneceu em lactação (mínimo de 40 e máximo de 66 animais).

A seleção dos quartos mamários foi feita a partir da realização mensal do *California Mastitis Test* (CMT) em todas as vacas lactantes, aparentemente sadias. Investigaram-se, também, animais com quadro clínico de mastite por meio do teste da caneca telada. Não foram considerados os animais que estavam nos primeiros 10 dias de lactação e nos 30 dias anteriores à secagem. As aferições da temperatura ambiente e dos índices pluviométricos foram realizadas durante o acompanhamento dos casos de mastite (CIIAGRO, 2006). Além da colheita das amostras de leite realizou-se, paralelamente, a colheita de amostras dos óstios papilares e dos insufladores dos conjuntos de ordenha, assim como de amostras da água utilizada para a lavagem dos tetos, da ordenhadeira e para o abastecimento da sala de ordenha.

As amostras de leite para o isolamento microbiológico foram colhidas de acordo com os procedimentos recomendados pelo *National Mastitis Council* (HARMON et al., 1990) e as amostras de leite oriundas do tanque de expansão foram colhidas de acordo com o preconizado por Brito et al. (1998).

A contagem de células somáticas (CCS) foi determinada utilizando-se o contador eletrônico de células somáticas Somacount 300 (Bentley), em que as amostras de leite têm os núcleos das células coradas e expostas a um raio *laser*, refletindo luz vermelha (fluorescência) e os sinais são transformados em impulsos elétricos detectados por um fotomultiplicador e transformados em número de células / mL. Para tanto, as amostras de leite foram colhidas e acondicionadas em um frasco plástico com capacidade para 60 mL, com a adição de duas pastilhas de bronopol. Os quartos mamários foram divididos em quatro graus de infecção, assim classificados: Grau "I", correspondente à mastite subclínica com até 300.000 células / mL; Grau "II", correspondente à mastite subclínica com 300.001 a 750.000 células / mL; Grau "III", equivalente a quartos mamários com mastite subclínica com CCS acima de 750.000 / mL; e Grau "IV", correspondente à mastite clínica.

Imediatamente após a anti-sepsia efetuada pelo ordenhador anterior à ordenha foram colhidas amostras dos óstios papilares de animais positivos ao CMT, independentemente se todos os quartos foram reagentes ao teste, com o auxílio de suabe estéril e a realização de movimentos circulares sobre os óstios (INGAWA et al., 1992). Suabes estéreis também foram friccionados em movimentos circulares na porção final de cada um dos insufladores (quatro por cada conjunto de ordenha), em todos os conjuntos da ordenhadeira, conforme recomendação de McDonald et al. (1993) durante e após as ordenhas. O material foi transportado em tubos de ensaio individuais contendo água peptonada estéril.

As amostras de água foram colhidas diretamente das torneiras existentes na sala de ordenha. As suas extremidades foram higienizadas com algodão embebido em álcool 70%, sem a utilização de flambagem devido à sua composição plástica. Após a higienização, as torneiras foram abertas por três minutos, após os quais foram colhidas as amostras e, então, submetidas ao resfriamento em recipientes contendo gelo. Amostras da água utilizada para a

higienização das teteiras também foram colhidas e submetidas ao mesmo processo de resfriamento. As amostras de água foram semeadas em meio seletivo (ágar sal manitol), onde a presença de colônias de *S. aureus* foi investigada.

*S. aureus* foram isolados a partir de amostras de leite dos quartos mamários após a semeadura direta em placas de Petri contendo ágar sangue de ovino a 5% com o auxílio de alça de platina padronizada (0,01mL), enquanto as amostras oriundas do óstio papilar e dos insufladores dos conjuntos de ordenha foram semeadas diretamente com os suabes. Todas as amostras, inclusive aquelas oriundas da água e do leite do tanque de expansão foram incubadas por 18 a 24 horas, a 37°C. As colônias foram submetidas à coloração de Gram, com posterior realização das provas de catalase e coagulase lenta com plasma de coelho para os cocos Gram-positivos (HOLMBERG, 1973) e verificação da produção de acetoina e utilização ou não da maltose e trealose. As amostras positivas a estas provas foram classificadas como *S. aureus* (HOLT et al., 1994).

As leituras da prova da coagulase foram realizadas uma, duas, três, quatro e 24 horas após a incubação à temperatura de 37°C em banho-maria. Os resultados foram classificados como: Grau “1+”, coágulos pequenos e desorganizados; Grau “2+”, coágulos pequenos organizados; Grau “3+”, coágulos grandes organizados; Grau “4+”, coagulação completa. A ausência de formação de coágulos foi considerada como resultado negativo (GARCIA et al., 1980).

As estirpes isoladas foram submetidas aos testes de sensibilidade *in vitro* a partir da técnica de difusão em disco (BAUER et al., 1966) em placas de ágar Müeller-Hinton, frente a 12 antimicrobianos: gentamicina (10 µg), penicilina (10 UI), oxacilina (1 µg), tetraciclina (30 µg), cefepime (30 µg), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 µg), sulfazotrim (25 µg), vancomicina (30 µg), clindamicina (2 µg), ciprofloxacina (5 µg) e rifampicina (5 µg). A aferição dos halos de inibição formados em torno dos respectivos discos foi realizada segundo o preconizado pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2005).

Utilizou-se o teste de Qui-quadrado com correção de continuidade de Yates para verificar ou não a independência entre as amostras produtoras de coagulase de acordo com a sua origem. Os valores referentes às amostras de leite oriundas dos quartos mamários frente às condições climáticas foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis com comparação das ordenações médias pelo teste t (SAMPAIO, 1998).

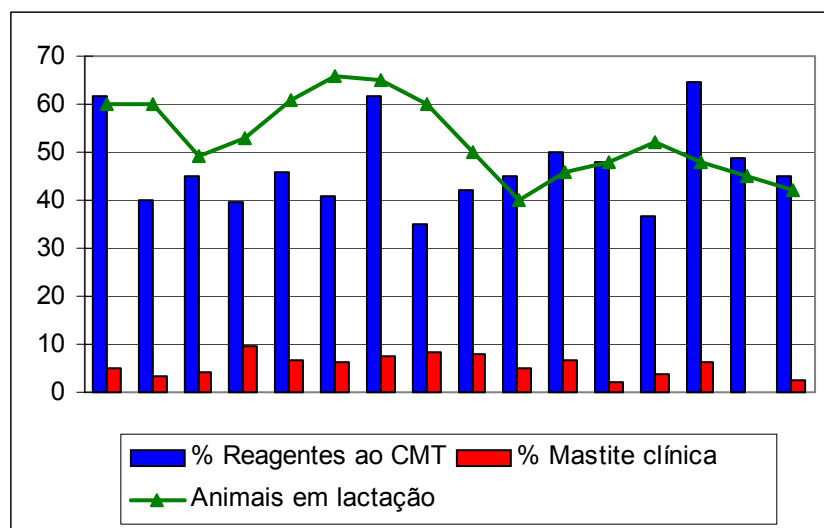
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão ilustrados o número de animais em lactação nas datas de colheita das amostras e as prevalências de mastite clínica e subclínica, esta representada pelos animais cujas secreções mamárias apresentaram reação ao CMT.

Verificou-se que, após uma prevalência superior a 60% de mastite subclínica na colheita inicial, as prevalências da doença mantiveram-se entre 40% e 50% nas cinco colheitas posteriores, elevando-se novamente na colheita imediatamente a seguir para um valor acima de 60%, justamente ao final de um período ascendente de animais em lactação e após a maior quantidade de chuvas observada durante o acompanhamento dos casos da doença.

Alguns testes diagnósticos para a mastite subclínica podem gerar resultados distintos de acordo com o microrganismo responsável pela doença, devido à maneira como cada quarto mamário reage e é afetado por determinado agente etiológico. Dessa maneira, Zafalon et al. (2005) apresentaram resultados que mostraram ser o CMT mais eficiente em diagnosticar a mastite subclínica por *S. aureus* do que a mastite causada pelo *Corynebacterium* spp, por exemplo. Apesar disso, o CMT é um dos testes mais utilizados para o diagnóstico da mastite

subclínica e é reconhecido como simples e eficaz. Recomenda-se realizá-lo, no mínimo, uma vez ao mês (FONSECA & SANTOS, 2000).



**Figura 1.** Animais em lactação e prevalências de mastite clínica (teste da caneca telada) e subclínica (secreções mamárias reagentes ao CMT).

Na Tabela 1 são apresentados os resultados referentes às temperaturas médias ( $^{\circ}\text{C}$ ) e à quantidade de chuvas (mm) ocorridas nos períodos imediatamente anteriores à colheita das amostras de leite, com respectivos isolamentos de *S. aureus*.

**Tabela 1.** Temperaturas médias ( $^{\circ}\text{C}$ ) e chuvas (mm) ocorridas em Nova Odessa, Estado de São Paulo, com respectivos isolamentos de *S. aureus*.

Período	Temperaturas médias ( $^{\circ}\text{C}$ )	Quantidade de chuvas (mm)	<i>S. aureus</i> isolados (%)*
16/07/05 a 14/08/05 (A)	18,5	5,8	13,6
15/08/05 a 11/09/05 (B)	21,7	29,8	33,3
12/09/05 a 04/10/05 (C)	21,0	32,1	13,5
05/10/05 a 06/11/05 (D)	24,7	96,8	15,6
07/11/05 a 11/12/05 (E)	23,6	88,1	16,4
14/01/06 a 12/02/06 (F)	26,3	125,6	43,9
13/02/06 a 12/03/06 (G)	25,6	193,8	33,9
13/03/06 a 09/04/06 (H)	25,4	109,0	54,4
10/04/06 a 07/05/06 (I)	21,2	13,0	17,1
08/05/06 a 04/06/06 (J)	18,2	6,2	23,7
05/06/06 a 02/07/06 (K)	17,4	21,2	29,8
03/07/06 a 06/08/06 (L)	19,0	45,6	29,5
20/08/06 a 18/09/06 (M)	20,5	56,2	43,3
19/09/06 a 08/10/06 (N)	22,4	41,2	27,7
09/10/06 a 05/11/06 (O)	24,5	76,3	24,4
06/11/06 a 03/12/06 (P)	24,5	105,4	21,0

\* Em relação aos animais com quartos mamários CMT-positivos e com mastite clínica.

A temperatura média mais elevada foi observada no período entre 14/01/2006 e 12/02/2006 (26,3°C), enquanto a menor foi encontrada entre 05/06/2006 e 02/07/2006 (17,4°C). Com relação aos índices pluviométricos, o menor ocorreu entre 16/07/2005 e 14/08/2005 (5,8mm), enquanto o mais elevado foi encontrado para o período entre 13/02/2006 e 12/03/2006 (193,8mm). Nos períodos “F”, “G” e “H” houve prevalências superiores de *S. aureus* em quartos mamários com mastite (43,9%, 33,9% e 54,4%, respectivamente), quando comparou-se com os períodos imediatamente anteriores. Nestes três períodos, uma maior quantidade de chuvas também foi observada (média de 142,8mm), enquanto nos períodos anteriores, de “A” até “E”, esta média mostrou-se inferior (50,5mm).

A partir do período “I”, em que houve uma redução abrupta nos índices pluviométricos, de 109mm para 13mm, ocorreu a diminuição da prevalência de *S. aureus* de 54,4% para 17,1%. Neste período, além da redução da quantidade de chuvas em 88,1% quando comparado com o período imediatamente anterior, a temperatura média reduziu-se em 16,5%, quando comparada com a temperatura aferida no período “H”.

Notou-se, a partir dos resultados apresentados, uma provável influência do ambiente sobre uma maior prevalência de *S. aureus*. Ferreira et al (2006) também relataram uma maior frequência de isolamentos de *S. aureus* em períodos com maiores índices pluviométricos, o que pode ser justificado pela dificuldade em manter condições higiênicas adequadas nestes períodos. Sugere-se a possibilidade de mutação ou maior dispersão no ambiente de estirpes oriundas de outras fontes de contaminação. Este fato pode levar à frustração de técnicos em obter sucesso no controle da mastite por *S. aureus* a partir de medidas de controle que visem unicamente impedir o contágio durante a ordenha.

Na Tabela 2 se encontram os valores referentes aos quartos mamários submetidos à contagem de células somáticas e classificados de acordo com os graus de infecção e perfis de resistência sob diferentes índices pluviométricos.

**Tabela 2.** Quartos mamários classificados de acordo com os graus de inflamação e os perfis de resistência de *S. aureus* isolados do leite de animais sob diferentes níveis de precipitação pluviométrica.

Graus de inflamação <sup>1</sup>	Perfil de resistência						Total
	A Resistência à penicilina		B Resistência à oxacilina		C Sensibilidade a todos os antimicrobianos		
	Estação Seca <sup>2</sup>	Estação chuvosa <sup>3</sup>	Estação Seca	Estação chuvosa	Estação Seca	Estação chuvosa	
I	3	17	1	1	7	2	31
II	14	13	1	0	15	2	45
III	17	15	1	3	19	6	61
IV	1	8	0	1	0	3	13
Total	35	53	3	5	41	13	150

<sup>1</sup> I (mastite subclínica com até 300.000 células / mL); II (infecção subclínica com 300.000 a 750.000 células / mL); III (infecção subclínica com mais de 750.000 células / mL); IV (infecção clínica);

<sup>2</sup> Precipitação média de 27,9 mm nos períodos correspondentes entre o dia de uma colheita das amostras de leite até o dia imediatamente anterior à próxima colheita;

<sup>3</sup> Precipitação média de 113,6 mm nos períodos correspondentes entre o dia de uma colheita das amostras de leite até o dia imediatamente anterior à próxima colheita.

Após a análise dos resultados verificou-se que não houve diferença entre os perfis de resistência apresentados por *S. aureus* para os diferentes graus de inflamação nem durante a estação chuvosa nem na estação classificada como “seca” ( $P=0,2072$  e  $P=0,5295$ , respectivamente). Apesar disso, observou-se proporcionalmente um número superior de *S. aureus* que não apresentaram resistência a qualquer dos princípios ativos testados *in vitro* durante os períodos com menor quantidade de chuvas quando comparados com aqueles isolados em períodos mais chuvosos (27,3% contra 8,7%).

A ocorrência de isolados resistentes à penicilina foi superior nos períodos mais chuvosos, 35,3% contra 23,3% em períodos menos chuvosos. Em relação à mastite subclínica, 56,9% dos casos estudados ocorreram em períodos com menor quantidade de chuvas contra 43,1% em períodos mais chuvosos e a proporção de casos de mastite subclínica com CCS até  $3 \times 10^5$ /mL foi superior em períodos mais chuvosos (64,5%), contra 33,3% e 39,3% de casos de mastite subclínica com CCS entre  $3 \times 10^5$ /mL e  $7,5 \times 10^5$ /mL e superior a  $7,5 \times 10^5$ /mL, respectivamente. A maioria dos casos de mastite clínica ocorreu em períodos chuvosos (92,3%). Poderia esta situação estar relacionada com casos mais graves de mastite que ocorrem pela influência das más condições do ambiente e pelas dificuldades na manutenção de medidas higiênicas.

O conhecimento de padrões de resistência antimicrobiana por parte de determinado microrganismo é fundamental para o desenvolvimento de métodos preventivos que sejam efetivos, assim como para a elaboração de estratégias de tratamento quando forem necessárias (SABOUR et al., 2004). Do ponto de vista de saúde pública, a infecção do homem pelo consumo de produtos como o leite contaminado com linhagens resistentes à oxacilina de origem animal pode acontecer e, segundo Lee (2003), uma vez ocorrida a transferência interespecie estes microrganismos podem tornar-se disseminados no meio animal.

Na Tabela 3 são apresentados os graus de coagulação demonstrados pelas estirpes de *S. aureus* nas diferentes origens pesquisadas.

**Tabela 3.** Graus de intensidade no teste de coagulase de *S. aureus* oriundos de óstios, insufladores e leite.

Locais de isolamento	Graus de coagulação				Total / %
	1	2	3	4	
	Nº / %	Nº / %	Nº / %	Nº / %	
Óstios	12 (6,8) <sup>ab</sup>	23 (13,0) <sup>de</sup>	28 (15,8)	114 (64,4) <sup>abde</sup>	177 (100,0)
Insufladores	12 (13,5) <sup>ac</sup>	20 (22,5) <sup>df</sup>	15 (16,8) <sup>g</sup>	42 (47,2) <sup>acdfg</sup>	89 (100,0)
Leite	4 (2,5) <sup>bc</sup>	8 (4,9) <sup>ef</sup>	18 (11,1) <sup>g</sup>	132 (81,5) <sup>bcefg</sup>	162 (100,0)
Total	28	51	61	288	428

Letras iguais significam diferença significativa perante o teste do Qui quadrado entre os locais de isolamento e os graus de coagulação; a, b, d, g ( $P < 0,05$ ); c, f ( $P < 0,0001$ ); e ( $P < 0,01$ ).

As estirpes de *S. aureus* isoladas do leite e positivas à prova da coagulase apresentaram uma reação mais forte, classificada como graus “3+” e “4+”, em 92,6% das ocasiões, enquanto 7,4% foram consideradas graus “1+” e “2+” cruces. Silva et al. (2000) verificaram que a intensidade da reação na prova da coagulase variou com a origem das amostras, quando todos *S. aureus* originados das máquinas de ordenha e mãos de ordenhadores eram “3+” ou “4+” e 17,1% dentre os oriundos do leite apresentaram reações “1+” ou “2+”, diferentemente dos resultados apresentados aqui que demonstraram ser as

reações “1+” e “2+” mais comuns em isolados de *S. aureus* oriundos de óstios e insufladores (19,8% e 36,0%, respectivamente), quando comparados com os isolados do leite (7,4%). As bactérias originadas do leite foram em sua maioria “4+” (81,5%), enquanto as dos óstios e insufladores foram “4+” em 64,4% e 47,2% dos casos, respectivamente.

No presente trabalho, os microrganismos isolados que não apresentaram coagulação do plasma de coelho não foram submetidos às demais provas de identificação para *S. aureus*, apesar da possibilidade, segundo Souto (2006), de isolados de *S. aureus* de infecções intramamárias apresentarem características bioquímicas atípicas, não demonstrando comportamento bioquímico clássico, como por exemplo, reação de coagulase positiva.

Alguns protocolos não consideram reações fracas na prova da coagulase como resultados positivos, o que influencia na sensibilidade e especificidade da prova. Colônias atípicas, dessa maneira, podem ser isoladas em quaisquer sítios de localização e a inclusão de provas adicionais pode elevar o número de amostras identificadas corretamente.

Salienta-se a importância de provas moleculares para a identificação do *S. aureus*. Segundo Raimundo et al. (1999), o estudo da expressão do gene da coagulase a partir da reação em cadeia da polimerase é reproduzível, específica e com poder discriminatório, podendo determinar as relações epidemiológicas entre isolados de *S. aureus* oriundos dos bovinos. Acredita-se na existência de tipos especializados de *S. aureus* com maior virulência na glândula mamária bovina e em infecções latentes com a capacidade de reativação. Além disso, a análise conjunta de resultados fenotípicos e genotípicos pode ajudar no entendimento da distribuição de clones de *S. aureus* entre isolados oriundos de casos de mastite bovina que podem ser a base para a investigação e o controle de vias desconhecidas de infecções por *S. aureus* (SALASIA et al., 2004).

*S. aureus* foram isolados no leite, óstios e insufladores, enquanto não houve isolamentos na água de lavagem das teteiras e na oriunda das torneiras para a lavagem dos tetos. Também houve ausência de isolamento de *S. aureus* em lesões de tetos e no leite do tanque de expansão. Entretanto, apenas um suabe de lesão de teto foi realizado. Provavelmente, situações em que há um correto manejo de pastagens e ausência de utilização de cercas de arame farpado, assim como uma adequada regulagem do equipamento de ordenha, favorecem o número reduzido de lesões em tetos.

## CONCLUSÃO

Na propriedade os riscos de infecção por *S. aureus* pareceram aumentar na existência de índices pluviométricos mais elevados, provavelmente devido às condições de umidade e temperatura favoráveis à sua sobrevivência e proliferação. Além disso, os perfis de resistência apresentados por *S. aureus* isolados não diferiram sob distintos graus de infecção tanto em épocas com maiores ou menores índices pluviométricos. *S. aureus* isolados a partir do leite mostraram grau de reação na prova da coagulase classificado como mais forte quando comparados com os isolados a partir dos insufladores e óstios, o que poderia levar a interpretações diferentes no diagnóstico do agente nestes sítios de acordo com o protocolo adotado.

## REFERÊNCIAS

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; TRUCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.45, p.493-496, 1966.



BRITO, M.A.V.P. et al. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.18, p.39-44, 1998.

CIIAGRO. Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas. Instituto Agrônomo de Campinas. Disponível em: <<http://ciiagro.iac.sp.gov.br/ciiagroonline/>>. Acesso em 2006.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C.G.M.; STAMFORD, T.L.M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos *in natura* e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.22, p.263-271, 2002.

FERREIRA, L.M. et al. Variabilidade fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. **Ciênc. Rural**, v.36, p.1228-1234, 2006.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

GARCIA, M.L.; MORENO, B.; BERGDOLL, M.S. Characterization of *Staphylococci* isolated from mastitic cows in Spain. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.39, p.548-553, 1980.

HARMON, R.J. et al. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection**. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34p.

HOLMBERG, O. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. **Acta Vet. Scand.**, v.45, suppl., p.1-144, 1973.

HOLT, J.G. et al. Gram-positive cocci. In: **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9.ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994. p.544-551.

INGAWA, K.; ADKINSON, R.; GOUGH, R. Evaluation of gel teat cleaning and sanitizing compound status of the goat udder. **J. Dairy Res.**, v.59, p.21-28, 1992.

LEE, J.H. Methicillin (oxacillin) – resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.69, p.6489-6494, 2003.

McDONALD, J. et al. Studying the effect of backflushing milking units. **Vet. Med.**, v.88, p.382-386, 1993.

NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**, v.25, n.1, suppl. 15, 177p., 2005.

RAIMUNDO, O. et al. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* of bovine origin by polymorphisms of the coagulase gene. **Vet. Microbiol.**, v.66, p.275-284, 1999.

SABOUR, P.M. et al. Molecular Typing and distribution of *Staphylococcus aureus* isolates in Eastern Canadian dairy herds. **J. Clin. Microbiol.**, v.42, p.3449-3455, 2004.

SALASIA, S.I.O. et al. Comparative studies on pheno- and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Java in Indonesia and Hesse in Germany. **J. Vet. Sci.**, v.5, p.103-109, 2004.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SILVA, W.P.; GANDRA, E.A. Estafilocos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Hig. Aliment.**, v.18, p.32-40, 2004.

SILVA, W.P.S et al. Biochemical characteristics of typical and atypical *Staphylococcus aureus* in mastitic milk and environmental samples of Brazilian dairy farms. **Braz. J. Microbiol.**, v.31, p.103-106, 2000.

SOUTO, L.I.M. **Associação entre o índice de mastite em rebanhos bovinos leiteiros e a qualidade microbiológica do leite cru no Estado de São Paulo, Brasil**. 2006. 84f. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade São Paulo, São Paulo.

TEIXEIRA, L.A. et al. Geographic spread of epidemic multiresistant *Staphylococcus* spp. clone in Brazil. **J. Clin. Microbiol.**, v.33, p.2400-2404, 1995.

ZAFALON, L.F. et al. Comparação entre o *California Mastitis Test* e a contagem de células somáticas como métodos auxiliares para o diagnóstico da mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium* spp. **Bol. Ind. Anim.**, v.62, p.63-69, 2005.

**Recebido em: 19/03/2007**

**Aceito em: 12/06/2007**