

## ETIOLOGIA DA MASTITE BOVINA SUBCLÍNICA, SENSIBILIDADE DOS AGENTES ÀS DROGAS ANTIMICROBIANAS E DETECÇÃO DO GENE DA $\beta$ -LACTAMASE EM *Staphylococcus aureus*

Vera Lúcia Dias da Silva Fontana<sup>1</sup>  
Maria José Soares Mendes Giannini<sup>2</sup>  
Clarice Queico Fujimura Leite<sup>2</sup>  
Elaine Toscano Miranda<sup>2</sup>  
Ana Mariza Fusco Almeida<sup>2</sup>  
Cássio Aparecido Pereira Fontana<sup>1</sup>  
Cleusely Matias de Souza<sup>1</sup>  
Ariel Eurides Stella<sup>1</sup>

### RESUMO

Com o objetivo de estudar a etiologia da mastite subclínica e a sensibilidade dos agentes envolvidos às drogas antimicrobianas, 174 vacas leiteiras de nove propriedades da região de Jataí-GO, nas quais se utiliza o sistema de ordenha manual, foram avaliadas por meio do "Califórnia Mastitis Test" (C.M.T.). Destas, 96 (55,2%) apresentaram positividade ao teste, com 163 (23,4%) quartos positivos. Na seqüência, o leite dos quartos infectados foi colhido, identificando-se 208 cepas bacterianas, sendo 85 (40,9%) de *Staphylococcus* spp., 74 (35,6%) de *Corynebacterium* spp., 41 (19,7%) de *Streptococcus* spp. e oito (3,8%) de *Escherichia coli*. O gênero mais frequentemente isolado foi *Staphylococcus*, sendo que em 31 amostras (14,9%) identificou-se *S. aureus*, em 29 (13,9%) *S. saprophyticus*, em 17 (8,2%) *S. xylosum*, em quatro (1,9%) *S. epidermidis* e em duas (1,0%) *S. intermedius*. As cepas de *S. aureus* isoladas do leite provenientes das propriedades mostraram 100% de resistência à oxacilina, penicilina e ampicilina, sendo o gene da beta-lactamase encontrado em 90,3% das cepas. Os dados apresentados sugerem a relação entre o uso indiscriminado de drogas antimicrobianas com o elevado índice de resistência dos agentes à estas drogas.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus* spp, resistência, antibiótico, glândula mamária.

## ETIOLOGY OF BOVINE SUBCLINICAL MASTITIS, SUSCEPTIBILITY OF THE AGENTS TO ANTIMICROBIAL DRUGS AND DETECTION OF THE GENE $\beta$ -LACTAMASIS IN *Staphylococcus aureus*

### ABSTRACT

With the objective to study the etiology of subclinical mastitis and the susceptibility of the agents to antimicrobial drugs, 174 dairy cows of nine farms in Jataí-GO, where the animals were milked by hand were submitted to the California Mastitis Test (C.M.T.). Of these 96 (55,2%) were positive, with 163 (23,4%) positive quarters. In the sequence, milk of the infected quarters were collected, identifying 208 bacterial strains: 85 (40,9%) of

<sup>1</sup> Professor da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí. e-mail: ariel.vet@gmail.com (Autor para correspondência). Unidade Jatobá Rod BR 364 Km 192 - Setor Parque Industrial nº 3800 Caixa Postal 03 - CEP 75801-615 Jataí Goiás Telefone/Fax: (64) 3606-8201

<sup>2</sup> UNESP-Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Departamento de Análises Clínicas. R. Expedicionários do Brasil, 1621 - Laboratório de Micologia Clínica, Centro. 14801902 - Araraquara, SP - Brasil - Caixa-Postal: 502.

*Staphylococcus* spp., 74 (35,6%) of *Corynebacterium* spp., 41 (19,7%) of *Streptococcus* spp. and eight (3,8%) of *Escherichia coli*., *Staphylococcus* was the most frequent isolated agent; in 31 samples (14,9%) it was possible to identify *S. aureus*, in 29 (13,9%) *S. saprophyticus*, in 17 (8,2%) *S. xylosum*, in four (1,9%) *S. epidermidis* and in two (1,0%) *S. intermedius*. The strains of *S. aureus* isolated of the milk showed 100% of resistance to oxacilin, penicillin and ampicilin; the gene of beta-lactamase was found in 90,3% of the strains by the polymerase chain reaction technique, with a phenotypic resistance identity. The presented data suggest the relationship among the indiscriminate use of antimicrobial drugs with the high index of resistance of the agents to these drugs.

**Key words:** *Staphylococcus* spp, resistance, antibiotic, mammary gland.

## ETIOLOGÍA DE LA MASTITIS BOVINA SUBCLÍNICA, SENSIBILIDAD DE LOS AGENTES A MEDICAMENTOS ANTIMICROBIANOS Y DETECCIÓN DEL GEN DE $\beta$ -LACTAMASE EN *Staphylococcus aureus*

### RESUMEN

Con el propósito de estudiar la etiología de la mastitis subclínica y la sensibilidad de los agentes causadores a los antimicrobianos, 174 vacas lecheras de nueve propiedades en la región de Jataí Estado de Goiás - Brasil, en sistema de ordeña manual, fueron evaluadas con el "California Mastitis Test" (CMT). De estas, 96 (55,2%) fueron positivas a la prueba, con 163 (23,4%) cuartos positivos. A continuación, la leche de los cuartos infectados fue colectada, se identificó 208 cepas bacterianas, siendo 85 (40,9%) *Staphylococcus* spp., 74 (35,6%) *Corynebacterium* spp., 41 (19,7%) *Streptococcus* spp. y ocho (3,8%) de *Escherichia coli*. El género más frecuente fue el estafilococo, siendo que en 31 muestras (14,9%) se identificó *S. aureus*, 29 (13,9%) *S. saprophyticus*, 17 (8,2%) *S. xylosum*, cuatro (1,9%) *S. epidermidis* y dos (1,0%) *S. intermedius*. Las cepas de *S. aureus* presentes en la leche de los rebaños tuvieron 100% de resistencia a la oxacilina, penicilina y ampicilina, siendo el gen de la beta-lactamasa identificado en el 90,3% de las cepas por reacción en cadena de la polimerasa. Los datos sugieren una relación entre el uso indiscriminado de medicamentos antimicrobianos y la alta tasa de resistencia de los agentes a estos fármacos.

**Palabras clave:** antibiótico, glándula mamaria, resistencia, *Staphylococcus* spp.

### INTRODUÇÃO

A mastite é um dos problemas sanitários mais frequentemente observados na pecuária leiteira do Brasil. Esta doença afeta as glândulas mamárias e causa redução na produção de leite dos quartos mamários afetados. Em consequência disto, têm-se perdas de 10 a 15% da produção mundial de leite. Somado a isto, há ainda dispêndios com medicamentos e mão-de-obra, assistência veterinária, reposição de plantel e perda de valor comercial do produto (1). Além do prejuízo econômico, a mastite subclínica pode causar danos à saúde pública, pois das mais de 130 espécies microbianas já isoladas de glândulas mamárias bovinas, muitas podem desencadear doenças nos seres humanos (2).

Os patógenos responsáveis pela mastite bovina podem ser divididos em dois grupos de acordo com sua origem e modo de transmissão: contagiosos e ambientais (3). *Staphylococcus aureus* é um patógeno contagioso e os principais reservatórios desta bactéria nos rebanhos são os quartos mamários infectados, a pele do úbere e tetos (4).

Philpot (1) considera fundamental a atenção sobre a mastite subclínica, pois sua prevalência é 15 a 40 vezes maior que a forma clínica e usualmente precede a mesma. No Brasil, Baldassi et al. (5), analisando 781 animais do rebanho leiteiro da região de Ribeirão Preto-SP, verificaram mastite subclínica em 53,3% dos animais, com comprometimento de 23,3% dos quartos. Em Goiás, Andrade et al. (6) verificaram que 39,8% das fêmeas e 44,5% dos quartos foram positivos ao California Mastitis Test (CMT).

Geralmente, o tratamento no Brasil é feito por tentativas, empregando os medicamentos disponíveis no mercado. Dentre as formas de controle e prevenção que têm sido utilizadas, as mais comuns são a anti-sepsia dos tetos e terapia com antibióticos em vacas fora do período de lactação (3). Para Andrade et al. (6) o tratamento da mastite subclínica bovina deveria ser precedido de testes para determinar o padrão de sensibilidade dos agentes a fim de se indicar a melhor opção terapêutica. Vecht et al. (7) relataram que em 319 isolados de *S. aureus* de quartos de úberes de bovinos leiteiros, 38,4% mostraram resistência à penicilina, 21,2% à oxitetraciclina e 11,5% à estreptomicina. Segundo Gentili et al. (8), um total de 206 isolados de *S. aureus* de formas subclínicas foram avaliadas na Argentina entre 1996 e 1998, detectando-se resistência em 83 (40,3%), 24 (11,6%), 16 (7,7%) e sete (3,4%) isolados de *S. aureus*, para penicilina, eritromicina, pirlimicina e gentamicina, respectivamente.

Na região de Jataí, na região sudoeste de Goiás, os principais agentes envolvidos na ocorrência de mastite bovina ou o perfil de sensibilidade desses agentes às drogas antimicrobianas não são conhecidos. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de isolar os principais agentes etiológicos dos casos de mastite subclínica bovina por meio de exames bacteriológicos e micológicos e traçar os perfis de sensibilidade destes microrganismos às drogas antimicrobianas mais frequentemente utilizadas. Para a identificação das cepas isoladas de *S. aureus*, resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos, utilizou-se o teste da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

## MATERIAL E MÉTODOS

Nove propriedades de exploração leiteira que utilizavam ordenha manual, com animais da raça Gir e seus mestiços da região de Jataí, sudoeste de Goiás foram visitadas, e 174 vacas no terço intermediário da lactação e sem tetos perdidos foram submetidas ao “California Mastitis Test”- C.M.T. (9). A seguir, amostras de leite dos quartos positivos ao teste foram processadas de acordo com os procedimentos recomendados pelo Laboratory and Field Handbook (10). Os materiais foram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e levados ao Laboratório de Bacteriologia do Campus Avançado de Jataí da Universidade Federal de Goiás e ao Laboratório de Micologia da Universidade Estadual Paulista em Araraquara-SP. Para o isolamento e identificação dos microrganismos (bactérias e fungos), as amostras foram semeadas em Ágar Sangue de carneiro 5%, Ágar MacConkey e Ágar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol (11). As placas foram incubadas a 37°C por 24 a 48 horas para isolamento de bactérias e 25°C por 10 dias para os fungos.

Para diferenciação dos cocos Gram-positivos foram realizadas as provas de catalase, de crescimento em Ágar furazolidona e de resistência à bacitracina (12). A identificação das espécies do gênero *Staphylococcus* foi realizada empregando-se provas bioquímicas (13). Para diferenciação dos cocos Gram-positivos e catalase negativos, foram realizadas as provas de resistência a optoquina e de crescimento em caldo 6,5% de NaCl (13). Para a diferenciação dos bacilos Gram-positivos foi investigada a presença ou ausência de ramificação, realizando as provas de catalase, de motilidade e coloração de Ziehl Neelsen (13). Para a identificação dos bacilos Gram-negativos foi verificada a coloração das colônias rosas, a característica morfológica e tintorial quando semeado em Ágar MacConkey a 37°C por 24 a 48 horas. Em

seguida, os microrganismos foram semeados no meio TSI para triagem e posterior identificação das espécies (13)

A sensibilidade dos isolados aos agentes antimicrobianos foi determinada pela técnica de difusão (14) em placas de Ágar Mueller-Hinton, de acordo com o recomendado pelo National Commite for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (15). As drogas utilizadas foram: Neomicina, Oxacilina, Tetraciclina, Penicilina, Ampicilina, Gentamicina, Vancomicina, Cefoperazone, Estreptomicina. Para a identificação das linhagens de *S. aureus* resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos, utilizou-se o teste da reação em cadeia da polimerase (PCR), e os iniciadores blaZ A1 e blaZ A2 (GIBCO-BRL) em gel de agarose a 1,5% (PM 100 pb “ladder” da GIBCO-BRL). Foram utilizados os seguintes iniciadores : Sa 442-1 (5' - AAT CTT TGT CGG TAC ACG ATA TTC TTC ACG - 3') e Sa 442-2 (5' - CGT AAT GAG ATT TCA GTA GAT AAT ACA ACA - 3'). As condições para ampliação do fragmento específico de DNA de *S. aureus* por PCR foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Martineau et al. (16).

## RESULTADOS

Dos 174 animais submetidos ao teste C.M.T., 55,2% foram positivos, assim como 163 (23,4%) dos quartos avaliados. Foram isoladas 208 cepas bacterianas, com identificação de 85 (40,9%) como do gênero *Staphylococcus*, 41 (19,7%) *Streptococcus*, 74 (35,6%) *Corynebacterium* e oito (3,8%) *Escherichia coli*. Não foram obtidos isolamentos positivos para algas e fungos.

As 85 cepas de *Staphylococcus* spp foram distribuídas entre as seguintes espécies: 31 *S. aureus*, 29 *S. saprophyticus*, 17 *S. xylosus*, 4 *S. epidermidis*, 2 *S. intermedius*, e duas não classificadas denominadas *Staphylococcus*. spp.

Dentre os microrganismos isolados nas diferentes propriedades, a droga que teve resistência de 100% para todos os microrganismos foi a penicilina e a que apresentou maior eficiência foi a gentamicina (78,4%).

Os dados obtidos no teste de sensibilidade em relação às espécies de *Staphylococcus* revelaram que a gentamicina apresentou maior eficiência dentre os princípios ativos testados às diferentes espécies. Resistência a gentamicina foi encontrada em 27,2% e 3,2% das amostras de *S. saprophyticus* e *S. aureus*, respectivamente. O padrão de resistência para oxacilina (96,5%) e ampicilina (88,2%) foi elevado, mas *S. saprophyticus* e *S. xylosus* apresentaram índices menores de resistência quando comparados às demais espécies avaliadas.

A amplificação do fragmento do gene da beta-lactamase de 518 pares de bases foi obtida em 28 cepas de *S. aureus* (90,3%) (Figura 1).

## DISCUSSÃO

A frequência de animais com mastite subclínica e de quartos do úbere positivos foram semelhantes àqueles previamente reportados (6, 17).

Os resultados obtidos quando da aplicação do C.M.T. indicam a importância e a eficiência do teste para o diagnóstico de mastite subclínica. A pluralidade etiológica da mastite foi confirmada pelos dados relacionados às espécies de microrganismos isolados, comparáveis ao relato de Reis et al. (18), cujos resultados relativos a amostras obtidas de animais com mastite mostraram maior positividade para *Staphylococcus* spp., seguido do *Corynebacterium* spp.; *Streptococcus* spp.; e *Escherichia coli*. Andrade et al. (6) em Goiás, obtiveram isolamentos positivos para *Staphylococcus* spp. em maior frequência nos casos de

mastite subclínica. Já Brito et al.(19), em Minas Gerais, verificaram que a maior frequência de isolamentos foi para *Corynebacterium* spp. (55,2%).

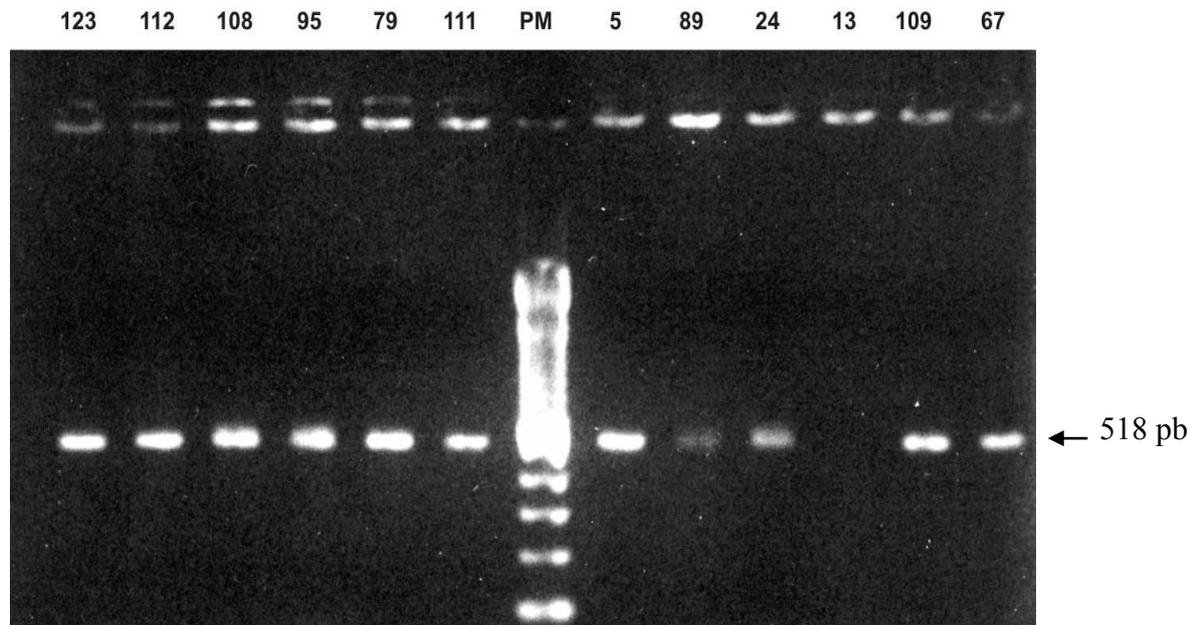


Figura 1. Eletroforese de gel de agarose 1,5% de produto de PCR para detecção do gene da beta-lactamase em isolados de *S. aureus* (123, 112, 108, 95, 79, 111, 5, 89, 24, 109 e 67), utilizando os iniciadores blaZ A1 e blaZ A2 (GIBCO-BRL). Marcador de peso molecular (PM 100 pb “Ladder” da GIBCO-BRL).

*S. aureus* produz diversos fatores de virulência, e medidas rotineiras para sua detecção pode ser uma ferramenta bastante útil para o estabelecimento de programas higiênicos e protocolos terapêuticos (20, 21). No presente estudo, houve predominância de amostras positivas para *S. aureus* (14,9%), seguida de *S. saprophyticus* (13,9%), *S. xylosus* (8,2%), *S. epidermidis* (1,9%) e *S. intermedius* (1,0%). Relatos de alta frequência de isolamento positivo para *S. aureus* no Brasil (22) e em diferentes partes do mundo revela a importância cosmopolita deste microrganismo nos rebanhos bovinos (23). A prevalência de uma única espécie de *Staphylococcus* em uma mesma propriedade foi verificada, o que, segundo Shopsin et al. (24), ocorre quando o microrganismo coloniza o hospedeiro e este não permite a instalação de outro por mecanismo de competição.

Quanto ao aspecto de tolerância aos antimicrobianos, os microrganismos isolados nas diferentes propriedades apresentaram maior sensibilidade à gentamicina (85,9%), estreptomicina (75,3%), neomicina (69,4%) e vancomicina (58,8%). Para os mesmos microrganismos, Langoni et al. (25) e Costa et al. (26) verificaram sensibilidade de 64,8% e 78,7% à gentamicina, respectivamente. Para a vancomicina, a sensibilidade relatada pelos autores foi de 87,3% e 80,0%, respectivamente.

Especificamente com relação à *Staphylococcus* spp., as drogas mais eficientes foram gentamicina (85,9%), estreptomicina (75,3%), cefalperazona (70,6%) e neomicina (69,4%). O gênero apresentou maior resistência à penicilina (100%), à oxacilina (96,5%) e à ampicilina (88,2%). Costa et al. (26) verificaram 87,75% de sensibilidade para gentamicina e 80% para

vancomicina. Quanto ao aspecto de resistência desse gênero, Brito et al. (23) verificaram 35% para penicilina e ampicilina.

Neste estudo, *S. aureus* apresentou 100% de resistência para a penicilina e ampicilina. Langoni et al. (25) verificaram frequências de resistência em *S. aureus* de 86,3% em relação à penicilina, de 76,9% para ampicilina e de 91,8% para sulfazotrim. O uso indiscriminado e inadequado de medicamentos favorece a seleção de cepas resistentes. Por outro lado, a presença da beta-lactamase em cepas de *S. aureus*, a qual rompe o anel betalactâmico, foi confirmada neste estudo. O gene da beta-lactamase foi verificado em 28 cepas de *S. aureus* (90,3%). Brito et al. (23) relataram a presença de 100,0% desse gene nas cepas de *S. aureus* resistentes à penicilina. Somente três cepas não apresentaram a banda e tal ausência foi devida muito provavelmente, a localização do gene blaZ em plasmídeo, conforme relatado por Vesterholm-Nielsen et al. (27).

A meticilina e a oxacilina são penicilinas semi-sintéticas beta-lactamase resistentes, possuindo espectro de ação superior àqueles das penicilinas naturais (28). A oxacilina é a mais recomendada em teste de sensibilidade antimicrobiana para detectar cepas de *S. aureus* meticilina-resistentes (MRSA) por ser mais estável e apresentar resultado mais confiável (15). Neste trabalho, 100,0% das cepas de *S. aureus* foram resistentes à oxacilina, demonstrando que os antimicrobianos beta-lactâmicos, incluindo as cefalosporinas são ineficazes para tratamento de mastite causada por estes microrganismos (15). A resistência elevada de MRSA em Medicina Veterinária é portanto importante do ponto de vista de Saúde Pública, devido ao uso de meticilina na Medicina Humana, além da possibilidade de transmissão destes microrganismos resistentes ao homem.

Os resultados obtidos neste estudo observacional sugerem que a alta frequência de mastite subclínica deve-se ao tipo de manejo utilizado pelos criadores, com ordenha manual sem os devidos cuidados higiênico-sanitários, além da ausência de programas de controle da mastite com o uso indiscriminado de antibióticos.

## CONCLUSÕES

Os agentes etiológicos mais frequentemente isolados nos casos de mastite subclínica foram: *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e *Streptococcus* spp., não sendo isolada espécie de fungo ou *Prototheca*.

Dentre os antimicrobianos testados, o que apresentou maior eficiência foi a gentamicina. Todos os microrganismos isolados foram resistentes à penicilina. A determinação do fragmento do gene da beta-lactamase constituiu-se em importante dado para confirmar os padrões de resistência de *S. aureus* à penicilina.

## REFERÊNCIAS

1. Philpot WN. Economics of mastitis control. Vet Clin North Am Large Anim Pract. 1984; 6: 233-45.
2. Carter GR, Chengappa MM, Roberts AW. Essentials of veterinary microbiology. 5<sup>a</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995.
3. Rebhun WC. Diseases of the teats and udder. In: Diseases of dairy cattle. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. p. 253-308.
4. Roberson JR, Fox LK, Hancock DD. Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. J Dairy Sci. 1999; 77: 3354-64.

---

Fontana VLDS. et al. Etiologia da mastite bovina subclínica, sensibilidade dos agentes às drogas antimicrobianas e detecção do gene da  $\beta$ -Lactamase em *Staphylococcus aureus*. Vet. e Zootec. 2010 dez.; 17(4): 552-559.

5. Baldassi L, Fernandes M, Moulin A, Hipólito M, Murakami T. Etiologia da mastite subclínica na bacia leiteira de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. *Arq Inst Biol.* 1991; 58: 29-36.
6. Andrade MA. Mastite bovina subclínica: prevalência, etiologia e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas. *Hora Vet.* 2001; 20: 19-26.
7. Vecht U, Wisselink HJ, Vette HM. Sensitivity pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from quarter milk from cattle. *Tijdschr Diergeneeskd.* 1989; 114: 260-1.
8. Gentilini E, Demaniel G, Llorente P, Godaly S, Rebuelto M, Degregorio O. Antimicrobial susceptibility of *S. aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. *J Dairy Sci.* 2000; 83: 1224-7.
9. Schalm OW, Noorlander DO. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J Am Vet Med Assoc.* 1957; 130: 199-204.
10. Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis. Arlington VA: National Mastitis Council; 1987.
11. Lacaz CS, Porto E, Heins-Vaccari EM, Mello MT. Guia para identificação fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. 3ª ed. São Paulo: Sarvier; 1998.
12. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Gênero *Staphylococcus*. In: *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Porto Alegre: Artmed; 2005. p. 55-60.
13. Koneman, EW, Allen SD, Janda WM, Schereckenberg PC, Winn WC. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
14. Bauer AW, Kirby WMM. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Pathol.* 1966; 45: 493-6.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Tentative standards. Wayne: NCCLS; 1997. Document M31-T.
16. Martineau F, Picard FJ, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG. Species-specific and ubiquitous – DNA – based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 1998; 36: 618-23.
17. Langoni H, Domingues PF. Prevalência de mastite bovina e sua distribuição por quartos. *Rev Bras Med Vet.* 1998; 20: 85-7.
18. Reis SR, Silva N, Brescia MV. Antibioticoterapia para controle de mastite subclínica de vacas em lactação. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2003; 55: 651-8.
19. Brito MAVP, Brito JRF, Ribeiro MT, Veiga VM. O Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1999; 51:129-35.

20. Zecconi A, Piccinini R, Fox LK. Epidemiologic study of intramammary infections with *Staphylococcus aureus* during a control program in nine commercial dairy herds. *Am Vet Med Assoc.* 2003; 223: 684-8.
21. Zecconi A, Cesaris L, Liandris E, Daprá V, Piccinini R. Role of several *Staphylococcus aureus* virulence factors on the inflammatory response in bovine mammary gland. *Microb Pathog.* 2006; 40: 177-83.
22. Adornes R, Estima B, Ladeiras S, Martins L, Santiago V. Mastite e brucelose na bacia leiteira do Rio Grande do Sul. In: *Anais do 8º Congresso Brasileiro de Microbiologia*; 1995, Florianópolis. Florianópolis; 1995. p.129.
23. Brito MAVP, Brito, JRF, Silva MAS, Carmo RA. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos de amostras para *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001; 53: 531-7.
24. Shopsin B, Mathema B, Martinez J, Campos E, Ha ML, Fierman A. et al. Prevalence of methicillin resistant and methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* in the community. *J Infect Dis.* 2000; 182: 359-62.
25. Langoni H, Domingues PF, Pinto MP. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1991; 43: 507-15.
26. Costa EO, Melville PA, Ribeiro AR. Dinâmica da resistência de agentes etiológicos da mastite bovina aos antimicrobianos. *Rev Bras Med Vet.* 1995; 17: 260-3.
27. Vesterholm-Nielsen M., Olhom LM, Olsen JE, Aarestrup FM. Occurrence of the blaZ gene in penicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Denmark. *Acta Vet Scand.* 1999; 40: 279-86.
28. Spinosa HS. Antibióticos beta-lactâmicos: penicilinas e cefalosporinas. In: Spinosa HS, Górniak SL, Bernardi MM. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p. 409-19.

**Recebido em: 06/07/2010**

**Aceito em: 27/10/2010**