

Fagotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos, isoladas de leite

Phage typing strains of *Staphylococcus aureus* resistant to antibiotics, isolated from milk

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Wanderley Pereira de Araújo
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP
Cidade Universitária Armando de
Salles Oliveira
Av. Orlando Marques de Paiva, 87
05508-000 – São Paulo – SP
e-mail: wparaujo@usp.br

1 - Departamento de Clínica Médica
da Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP – SP

Wanderley Pereira de ARAÚJO¹

RESUMO

A partir de amostras de leite cru foram isoladas 201 cepas de *S. aureus*, as quais foram submetidas a provas de resistência a antibióticos pelo método dos discos impregnados com os seguintes antibacterianos: amicacina, ampicilina, cefalotina, cefoxitina, cloranfenicol, clindamicina, oxacilina, penicilina, tetraciclina, tobramicina e vancomicina. Com exceção de 88 (43,8%), 90 (44,8%), 24 (11,9%) e 40 (19,9%) cepas resistentes à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, respectivamente, a maioria das 201 cepas (95% ou mais) foi sensível aos antibióticos utilizados. As cepas resistentes a estes quatro antibióticos foram fagotipadas, empregando-se os Conjuntos Básicos Internacionais de bacteriófagos para cepas de origem humana e bovina, verificando-se que houve predomínio de cepas sensíveis a fagos dos grupos III e III/NC do conjunto básico humano e a fagos dos grupos III, IV e da associação III/IV do conjunto bovino.

UNITERMOS: Tipagem de bacteriófagos; *S. aureus*; Leite; Testes de sensibilidade microbiana.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina, doença responsável por graves prejuízos à pecuária leiteira em inúmeros países, é frequentemente determinada pelo *Staphylococcus aureus*, bactéria resistente a diversos antibióticos utilizados rotineiramente para o tratamento da doença. No Estado de São Paulo, através de fagotipagem, alguns pesquisadores identificaram diferentes cepas dessa bactéria isoladas de leite de vacas com mastite^{15,18}; da pele da mama e tetos de animais sadios¹ ou, ainda, de amostras de leite colhidas de latões².

A verificação da sensibilidade do *S. aureus* aos diferentes antibióticos empregados no tratamento da mastite bovina tem grande importância para o clínico veterinário, pois visa fornecer subsídios para a terapia do animal acometido, bem como para todos os animais do rebanho submetidos às mesmas condições de manejo de ordenha e, portanto, com os mesmos riscos de infecção. Deve-se ressaltar a possibilidade da transmissão da bactéria entre o homem e animais, pois já foi relatada a ocorrência de cepas de *S. aureus* isoladas de leite associadas a casos de infecção humana pelo fagótipo 80/81, muitos dos quais resistentes a vários antibióticos²⁰.

Em países como Espanha¹²; Inglaterra¹¹ e Índia²¹, verificaram-se elevadas percentagens de cepas de *S. aureus* isoladas do leite de vacas com mastite resistentes à penicilina. No Brasil, particularmente no Estado de São Paulo, alguns investigadores têm evidenciado diferentes percentagens de resistência do *S. aureus* a antibióticos^{15,7}.

Quanto à fagotipagem, trata-se de um processo de identificação bacteriana através do qual se podem reconhecer linhagens

distintas, denominadas fagótipos, de uma mesma espécie de bactéria, fator importante em estudos epidemiológicos, pois permite, não raramente, identificar a fonte de infecção e vias de transmissão e, assim sendo, adequar as medidas de prevenção. A este respeito, Williams *et al.*²⁵ referiram que a fagotipagem de *S. aureus* era utilizada em investigações epidemiológicas relacionadas, principalmente, a surtos de intoxicação alimentar e a casos de infecção hospitalar. Em medicina veterinária, através da fagotipagem de *S. aureus* isolados dos bovinos e do homem e, também, de equipamentos utilizados para a ordenha, pertencentes a 40 propriedades leiteiras nos Estados Unidos¹⁰, concluiu-se que a pele dos tetos, as ordenhadeiras mecânicas e a pele das mãos dos ordenhadores constituíam importantes fontes para contaminação intramamária e, conseqüentemente, para o desenvolvimento de mastite.

Para a fagotipagem do *S. aureus* tem sido utilizado um conjunto básico de bacteriófagos, padronizado internacionalmente em 1974 na Checoslováquia, ao qual as cepas isoladas dessa bactéria devem ser submetidas²³. Entretanto, embora as cepas de *S. aureus* isoladas de bovinos possam ser lisadas por fagos utilizados para cepas de origem humana, alguns autores sugeriram o uso de conjunto de fagos obtidos de estafilococos isolados de bovinos, a fim de aumentar o índice de tipificação^{8,9,17,19,22}.

Foi observado que *S. aureus* isolados de leite eram lisados com maior frequência pelos fagos 42A, 42D, 83A e 81 do conjunto internacional e pelos fagos S2 e S5 da série proposta para cepas bovinas por Seto; Wilson²², aumentando o índice de tipificação de 77 para 87%, quando se incluíam os dois últimos fagos⁹. Em casos de mastite, observou-se que *S. aureus* produtores de b-hemolisina

eram lisados pelo bacteriófago 42D, relacionado a cepas de origem bovina¹⁶. Utilizando-se o conjunto de fagos para *S. aureus* de origem humana, de 41 cepas isoladas do leite de vacas com mastite, apenas 12 (22,26%) puderam ser fagotipadas²¹.

O objetivo da presente investigação é verificar a resistência a diferentes antibióticos de cepas de *S. aureus* isoladas de amostras de leite, relacionando-a com as características obtidas através da fagotipagem.

MATERIAL E MÉTODO

Colheita das amostras de leite, isolamento e identificação das cepas de *S. aureus*

Foram colhidas 100 amostras de leite a partir de latões em 53 propriedades leiteiras localizadas nos municípios de Descalvado, Taquari, Analândia e Pirassununga no Estado de São Paulo². Tais amostras, colhidas ao acaso em tubos esterilizados, foram colocadas em caixa de material isotérmico contendo cubos de gelo e transportadas ao laboratório, onde eram mantidas em refrigerador (4°C) até a realização dos exames microbiológicos, realizados no prazo máximo de 24 horas. No laboratório, as amostras de leite foram semeadas em placas de ágar Baird-Parker, as quais eram incubadas a 37°C, por 24 a 48 horas¹³. Após a incubação, efetuava-se o isolamento de 1 a 5 colônias de cor negra, brilhantes, com zona de precipitação circundada por halo claro³, semeando-as em tubos de ágar simples inclinado, incubados a 37°C por 24 horas. Comprovando-se a presença de cultura pura de cocos Gram-positivos agrupados em forma de cachos em cada um dos tubos de ágar simples inclinado, realizava-se a identificação bioquímica das cepas de *S. aureus*, através das provas da catalase⁴, oxidação-fermentação da glicose²⁴, coagulase livre²⁶ e termonuclease¹⁴.

Pesquisa da sensibilidade a antibióticos das cepas de *S. aureus*

Realizou-se a prova da sensibilidade das cepas de *S. aureus* isoladas das amostras de leite pelo método dos discos impregnados com antibióticos⁵. Inicialmente, as cepas de *S. aureus* foram semeadas em tubos contendo caldo Mueller-Hinton e incubadas a 37°C durante 4 a 6 horas. Após a incubação, quando necessário, adicionava-se ao caldo de cultura, assepticamente, o próprio meio de cultura estéril e comparava-se a uma solução padrão de sulfato de bário, para se atingir a turbidez equivalente à concentração de $1,5 \times 10^8$ microrganismos/mililitro, recomendada para a prova de sensibilidade*. A seguir, umedecia-se um cotonete esterilizado no caldo cultivado e semeavam-se placas de Petri contendo ágar Muller-Hinton, esfregando-se o cotonete em várias direções sobre o ágar para se obter uma distribuição uniforme da bactéria. Depois, com auxílio de uma pinça, os discos impregnados com antibióticos** eram depositados e levemente pressionados sobre a superfície do meio inoculado na placa de Petri, mantendo-se, entre um disco e outro, a distância de, aproximadamente, 3 centímetros.

* Os meios de cultura foram fornecidos pela Laborerápica Bristol.

** Cefar Fármaco Diagnóstica.

As placas eram incubadas a 37°C por 18 horas e, após, com uma régua, realizava-se a leitura dos halos de inibição, anotando-se o diâmetro. Os resultados eram interpretados como resistente (R), sensibilidade intermediária (I) e sensível (S), de acordo com tabela fornecida pelo fabricante dos discos de sensibilidade. Foram utilizados os seguintes antibióticos: amicacina, ampicilina, cefalotina, cefoxitina, clindamicina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina, kanamicina, oxacilina, penicilina, tetraciclina, tobramicina e vancomicina.

Fagotipagem das cepas de *S. aureus* isoladas

A fagotipagem das cepas de *S. aureus* foi realizada na Seção de Fagotipagem do Laboratório de Estreptococos e Estafilococos, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, por gentileza do Prof. Dr. Carlos Solé-Vernin, sendo utilizados 2 conjuntos de fagos, um composto por 23 fagos, adotado pelo Centro Internacional de Fagotipagem, com sede em Colindale, Inglaterra, constituindo o conjunto básico para classificação de *S. aureus* de origem humana e, o outro, composto por 16 fagos, adotado pelo Subcomitê Internacional de Fagotipagem, pertencentes ao conjunto básico para cepas de origem bovina, conforme Quadros 1 e 2, a seguir:

Quadro 1

Conjunto Básico Internacional de Bacteriófagos para Fagotipagem de cepas de *S. aureus* de origem humana.

Grupo	Bacteriófagos
I	29, 52, 52A, 79, 80
II	3A, 3C, 55, 71
III	6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85
Não Classificados (NC)	81, 94, 95, 96

Quadro 2

Conjunto Básico Internacional de Bacteriófagos para Fagotipagem de cepas de *S. aureus* de origem bovina.

Grupo	Bacteriófagos
I	29, 52A
II	3A, 116
III	6, 42E, 53, 75, 84
IV	42D, 102, 107, 117
Miscelânea (M)	78, 118, 119

Nas provas de fagotipagem, empregou-se uma técnica⁶ pela qual, inicialmente, submetiam-se as cepas aos diferentes fagos dos 2 conjuntos, na concentração de 1 x RTD (Routine Test Dilution), simultaneamente, numa mesma placa. Posteriormente, as cepas que não eram lisadas frente a 1 x RTD, eram submetidas a teste com 100 x RTD dos mesmos fagos. Na composição do fagótipo, para cada cepa, levou-se inicialmente em consideração o resultado da

fagotipagem frente à diluição 1 x RTD para os dois conjuntos de bacteriófagos. O fagótipo foi composto considerando-se o conjunto de fagos, humanos e/ou bovinos, que reagiram, sobretudo naquela diluição. Caso não houvesse nenhum fago dos dois conjuntos reagentes a 1 x RTD, o fagótipo era então constituído a partir dos resultados frente a 100 x RTD. Foram consideradas não-tipáveis (NT) as cepas que não reagiram, em qualquer uma das duas diluições, a nenhum dos fagos dos conjuntos humano ou bovino.

RESULTADOS

Das cem amostras de leite analisadas, cinquenta revelaram-se positivas para *S. aureus*, das quais foram isoladas 201 cepas, que foram submetidas às provas de sensibilidade a antibióticos e de fagotipagem.

Na Tab. 1, são apresentados os resultados da prova de sensibilidade a antibióticos das cepas de *S. aureus* e, nas Tab. 2 e 3, os resultados da prova de fagotipagem das cepas resistentes à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, com o conjunto básico humano e bovino, respectivamente.

Consultando-se as tabelas, verifica-se que a maioria das cepas de *S. aureus* (95% ou mais) foi sensível aos antibióticos empregados, exceto à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, aos quais houve 88 (43,8 %), 90 (44,8 %), 24 (11,9 %) e 40 (19,9 %) cepas resistentes, respectivamente. Destas cepas, 26 (29,6%) e 23 (26,1%); 29 (32,2%) e 23 (25,6%); 4 (16,7%) e 6 (25,0%); 11 (27,5%) e 12 (30,0%) foram sensíveis a fagos do grupo III e III/Não Classificado, respectivamente. Em relação ao Conjunto Bovino, das cepas resistentes à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, 15 (17,0%), 15 (17,0%) e 15 (17,0%); 16 (17,7%), 15 (16,7%) e 15 (16,7%); 2 (8,3%), 2 (8,3%) e 6 (25,0%); 6 (15,0%), 6 (15,0%) e 7 (17,5%) foram sensíveis, respectivamente, a fagos dos grupos III, IV e da associação III/IV.

Tabela 1

Distribuição das 201 cepas de *S. aureus* isoladas de leite, segundo a sensibilidade a antibióticos. São Paulo, 1996.

Antibiótico	Sensível		Moderadamente Sensível		Resistente	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Amicacina	199	99,0	-	-	2	1,0
Ampicilina	99	49,2	12	6,0	90	44,8
Cefalotina	199	99,0	1	0,5	1	0,5
Cefoxitina	199	99,0	-	-	2	1,0
Cloranfenicol	176	87,6	1	0,5	24	11,9
Clindamicina	200	99,5	1	0,5	-	-
Eritromicina	196	97,5	-	-	5	2,5
Gentamicina	199	99,0	-	-	2	1,0
Kanamicina	192	95,5	-	-	9	4,5
Oxacilina	200	99,5	1	0,5	-	-
Penicilina	105	52,2	8	4,0	88	43,8
Tetraciclina	160	79,6	1	0,5	40	19,9
Tobramicina	199	99,0	-	-	2	1,0
Vancomicina	201	100,0	-	-	-	-

Tabela 2

Distribuição das cepas de *S. aureus* resistentes à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, segundo os grupos de fagos do conjunto básico humano. São Paulo, 1996.

Antibiótico	Penicilina		Ampicilina		Cloranfenicol		Tetraciclina	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
II	5	5,7	5	5,6	1	4,2	-	-
III	26	29,6	29	32,2	4	16,7	11	27,5
Não Classificado	-	-	-	-	-	-	1	2,5
I / III	3	3,4	3	3,3	-	-	-	-
I / NC	-	-	-	-	2	8,3	1	2,5
II / III	5	5,7	5	5,6	2	8,3	2	5,0
III / NC	23	26,1	23	25,6	6	25,0	12	30,0
II / III / NC	4	4,5	3	3,3	1	4,2	1	2,5
I / III / NC	5	5,7	5	5,6	-	-	1	2,5
I / II / III / NC	3	3,4	3	3,3	2	8,3	1	2,5
Não Tipável	14	15,9	14	15,5	6	25,0	10	25,0
Total	88	100	90	100	24	100	40	100

Tabela 3

Distribuição das cepas de *S. aureus* resistentes à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, segundo os grupos de fagos do conjunto básico bovino. São Paulo, 1996.

Antibiótico	Penicilina		Ampicilina		Cloranfenicol		Tetraciclina	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
I	2	2,3	2	2,3	-	-	1	2,5
II	2	2,3	2	2,3	1	4,2	1	2,5
III	15	17,0	16	17,8	2	8,3	6	15,0
IV	15	17,0	15	16,7	2	8,3	6	15,0
Miscelânea	1	1,1	1	1,1	-	-	-	-
I / II	2	2,3	2	2,3	1	4,2	-	-
I / I V	1	1,1	1	1,1	1	4,2	-	-
II / III	3	3,4	3	3,3	1	4,2	-	-
II / IV	3	3,4	3	3,3	-	-	-	-
II / M	1	1,1	1	1,1	1	4,2	-	-
III / IV	15	17,0	15	16,7	6	25,0	7	17,5
III / M	3	3,4	3	3,3	-	-	1	2,5
IV / M	3	3,4	3	3,3	1	4,2	3	7,5
I / III / M	1	1,1	1	1,1	1	4,2	1	2,5
II / III / IV	4	4,5	4	4,4	1	4,2	1	2,5
II / III / M	1	1,1	1	1,1	-	-	1	2,5
II / IV / M	3	3,4	4	4,4	1	4,2	2	5,0
III / IV / M	3	3,4	3	3,3	1	4,2	2	5,0
I / III / IV / M	1	1,1	1	1,1	-	-	-	-
I / II / III / IV / M	1	1,1	1	1,1	1	4,2	1	2,5
Não Tipável	8	9,1	8	8,9	3	12,5	7	17,5
Total	88	100	90	100	24	100	40	100

DISCUSSÃO

A maioria das cepas de *S. aureus* mostraram-se sensíveis aos antibióticos utilizados neste experimento, com exceção da penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, para os quais foram

detectadas, respectivamente, 88 (43,8%), 90 (44,8%), 24 (11,9%) e 40 (19,9%) cepas resistentes.

Na Espanha¹² e na Inglaterra¹¹, verificou-se que cepas de *S. aureus* isoladas do leite de vacas com mastite se mostraram resistentes à penicilina, em cerca de 40% dos casos. Na Índia²¹, isolou-se um grande número de bactérias do leite de vacas com mastite, principalmente *S. aureus*, resistentes à penicilina e estreptomicina, fato que se deve, segundo os autores citados, à ampla e má utilização da associação desses antibióticos no tratamento da doença, naquele país. Todavia, evidenciou-se no Estado de São Paulo, Brasil, que de 951 *S. aureus* isolados do leite de vacas com mastite, 75 a 90% eram sensíveis à cefalotina, nitrofurantoína, vancomicina e novobiocina; entretanto, todas as cepas foram resistentes à fosfomicina, polimixina B, colistina e rifamicina⁷. Em outro experimento¹⁵, no mesmo Estado, observou-se que, com exceção da tetraciclina e estreptomicina, ocorreu grande sensibilidade a antibióticos de cepas de *S. aureus* isoladas de vacas com mastite, levando os autores da pesquisa a afirmarem que o leite não constituía fonte importante de disseminação de estafilococos resistentes.

Muitas vezes, a comparação entre os resultados desta pesquisa com os verificados na bibliografia consultada tornou-se difícil, devido à variabilidade na metodologia utilizada pelos diferentes pesquisadores, embora pareça haver consenso quanto à elevada frequência de cepas de *S. aureus* isoladas de bovinos resistentes à penicilina nos diferentes países^{1,12,21}.

Provavelmente, a elevada frequência de cepas de *S. aureus* resistentes a diferentes grupos de antibióticos usados no combate da mastite bovina, muitas vezes está condicionada, entre outros fatores, à má utilização de determinado produto, como, por exemplo, aplicação em subdosagens e período insuficiente de tratamento dos animais com a doença que, associados às normas higiênicas de manejo de ordenha mal conduzidas, propiciam a existência de portadores de cepas de *S. aureus* resistentes e facilitam a transmissão dessas bactérias entre os animais criados no mesmo ambiente, inclusive através das mãos do ordenhador e de utensílios destinados à ordenha.

Quanto à fagotipagem, constatou-se que, das cepas resistentes à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, 15,9; 15,5; 25,0; e 25,0%, respectivamente, não foram típicas pelo conjunto de fagos de origem humana, enquanto, com o conjunto bovino, estes valores foram menores, ou seja, de 9,1; 8,9; 12,5 e 17,5%, respectivamente, concordando com as observações de vários pesquisadores^{8,9,17,19,22} que já haviam demonstrado o aumento do índice de tipificação do *S. aureus*, utilizando bacteriófagos obtidos a partir de cepas isoladas de bovinos.

Neste experimento, verificou-se que entre as cepas de *S. aureus* isoladas de leite e resistentes a penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina houve predomínio das cepas sensíveis a fagos dos grupos III e III/NC e a fagos dos grupos III, IV e da associação III/IV dos Conjuntos Básicos Internacionais Humano e Bovino, respectivamente. De forma semelhante ao constatado na resistência aos antibióticos, devido à diversidade na padronização dos conjuntos de fagos observados na bibliografia internacional, tornou-se difícil a comparação dos nossos resultados com aqueles obtidos por diferentes pesquisadores.

Na Espanha¹², também se evidenciou, a partir de 53 cepas de *S. aureus* isoladas de leite de vacas com mastite, a maior frequência de fagótipos dos grupos III e IV e da associação III e IV.

No Brasil¹⁸, constatou-se predominância de *S. aureus* do fagótipo 119 do grupo Miscelânea do conjunto bovino, na maioria dos 17 rebanhos produtores de leite B, a partir de cepas isoladas de amostras de leite colhidas de vacas com mastite criadas na região de Ribeirão Preto, São Paulo. Num estudo de portadores bovinos em lactação¹, a partir de cepas isoladas da pele do úbere, evidenciou-se maior frequência de *S. aureus* sensíveis a fagos dos grupos III e da associação III/IV do conjunto bovino e grupo III do conjunto humano.

Ainda, no Estado de São Paulo¹⁵, verificou-se que cepas de *S. aureus* isoladas de leite de vacas com mastite eram lisadas com maior frequência pelos fagos dos grupos III e III/Não Classificado do conjunto humano, bem como, pelos fagos dos grupos IV e Miscelânea, específicos do conjunto bovino.

Quanto às dificuldades encontradas na comparação dos resultados obtidos nesta investigação com os referidos na literatura mundial, parece-nos oportuno comentar que consideramos de fundamental importância, em futuros trabalhos relacionados à pesquisa de “resistência a antibióticos” e “fagotipagem de *S. aureus*”, que os autores citem, além de, obviamente o método empregado nestas determinações, o conjunto de antibióticos e de bacteriófagos utilizados, respectivamente, para permitir comparabilidade de resultados, preferencialmente seguindo as recomendações estabelecidas por comissões oficiais de padronização, conforme salientou Solé-Vernin²³, no tocante à fagotipagem de *S. aureus*. Este último autor considerou que no caso particular do *S. aureus*, os bacteriófagos não apresentam ação lítica altamente específica como aquela que ocorre para a *Salmonella typhi*, agente etiológico da febre tifóide. Salientou ainda a necessidade do trabalho em equipe do clínico, epidemiologista e o bacteriologista, pois reações fracas na fagotipagem poderiam auxiliar na confirmação de identidade de dois fagótipos algo diferentes.

Assim, o exame bacteriológico de amostras de leite torna-se importante subsídio ao clínico veterinário para orientação sobre os agentes bacterianos prevalentes num rebanho leiteiro, auxiliando na conduta terapêutica de casos de mastite, principalmente quando associado à prova de antibiograma. Permite ao veterinário identificar a ocorrência de possíveis agentes etiológicos de mastite resistentes a antibióticos, principalmente em relação ao *S. aureus*, cuja sensibilidade, geralmente, é muito baixa. Além disso, associando-se os resultados da resistência a antibióticos aos da fagotipagem, que permite identificar linhagens de *S. aureus*, será possível ao veterinário conhecer as cepas prevalentes e animais fontes de infecção e, conseqüentemente, assegurar medidas mais adequadas para o controle da mastite no rebanho.

CONCLUSÕES

De acordo com o material e a metodologia utilizados neste experimento sobre resistência a antibióticos e fagotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite podemos destacar as seguintes conclusões:

1) a maioria das cepas de *S. aureus* mostraram-se sensíveis aos antibióticos utilizados neste experimento, com exceção da penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, para os quais foram detectadas, respectivamente, 88 (43,8%), 90 (44,8%), 24 (11,9%) e 40 (19,9%) cepas resistentes;

2) das cepas resistentes à penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, 15,9; 15,5; 25,0; e 25,0%, respectivamente,

não foram tipáveis pelo conjunto de fagos de origem humana, enquanto, com o conjunto bovino, estes valores foram menores, ou seja, de 9,1; 8,9; 12,5 e 17,5%, respectivamente;

3) dentre as cepas de *S. aureus* isoladas de leite e resistentes a penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, houve predomínio das cepas sensíveis a fagos dos grupos III e III/NC e a fagos dos grupos III, IV e da associação III/IV dos Conjuntos Básicos

Internacionais Humano e Bovino, respectivamente;

4) é altamente recomendável, em futuros estudos sobre “resistência a antibióticos” e “fagotipagem” de *S. aureus*, relacionar o conjunto de antibióticos e de bacteriófagos utilizados, respectivamente, para permitir comparabilidade de resultados, preferencialmente seguindo as recomendações estabelecidas por comissões oficiais de padronização.

SUMMARY

In this study, 201 strains of *S. aureus* were isolated from crude milk and submitted to antibiotic resistance by the disc diffusion method using impregnated paper discs with the following antibiotics: amikacin, ampicillin, cephalotin, cephoxitin, chloramphenicol, clindamycin, oxacylin, penicillin, tetracycline, tobramycin and vancomycin. With the exception of 88 (43.8%), 90 (44.8%), 24 (11.9%) e 40 (19.9%) resistant strains to penicillin, ampicillin, chloramphenicol and tetracycline, respectively, it was verified that most of the 201 strains (95% or more) showed sensitivity to the others tested antibiotics. The strains resistant to these four antibiotics were phage-typified with the basic international set of phages for *S. aureus* of human and bovine origin and showed predominant sensitivity to the phage of the groups III and III/No. Classified from the human basic set and to the phage groups III, IV and to the association III/IV from the bovine set.

UNITERMS: Bacteriophage typing; *S. aureus*; Milk; Microbial sensitivity tests.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ARAUJO, M.L.C. *Staphylococcus aureus*: Freqüência de isolamento do úbere de bovinos em lactação, aparentemente saudáveis. São Paulo, 1985. 134p. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- 2- ARAUJO, W.P. *Staphylococcus aureus* em leite cru. Produção de enterotoxina e caracterização da origem provável, humana ou bovina, a partir das cepas isoladas. São Paulo, 1984. 127p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.
- 3- BAIRD-PARKER, A.C. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. **Journal of Applied Bacteriology**, v.25, n.1, p.12-9, 1962.
- 4- BAIRD-PARKER, A.C. Methods for classifying staphylococci and micrococci. In: GIBBS, B.M.; SKINNER, F.A. (ed.). **Identification methods for microbiologists**. London : Academic Press, 1966. p.59-64.
- 5- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-6, 1966.
- 6- BLAIR, J.E.; WILLIAMS, R.E.O. Phage typing of *S. aureus*. **Bulletin of World Health Organization**, v.24, p.771-84, 1961.
- 7- COSTA, E.O.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; TEIXEIRA, C.M. Sensitivity of bovine microorganisms to antibiotics and chemotherapeutic drugs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.5, n.2, p.65-9, 1985.
- 8- DAVIDSON, I. A set of bacteriophages for typing bovine Staphylococci. **Research of Veterinary Science**, v.2, p.396-407, 1961.
- 9- FERNANDEZ, G.S. Microflora estafilocócica de leite natural. **Anales de la Facultad de Veterinaria de León**, v.12, n.12, p.111-166, 1966.
- 10- FOX, L.K.; GERSHMAN, M.; HANCOCK, D.D.; HUTTON, C.T. Fomites and reservoirs of *Staphylococcus aureus* causing intramammary infections as determined by phage typing: the effect of milking time hygiene practices. **Cornell Veterinary**, v.81, n.2, p.183-93, 1991.
- 11- FRANCIS, P.G.; CARROL, P.J. Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical bovine mastitis. **Veterinary Record**, v.118, n.13, p.361-3, 1986.
- 12- GARCIA, M.L.; MORENO, B.; BERGDOLL, M.S. Characterization of Staphylococci isolated from mastitic cows in Spain. **Applied and Environmental Microbiology**, v.39, n.3, p.548-53, 1980.
- 13- INTERNATIONAL Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in foods**. 1. Their significance and enumeration. 2.ed. Toronto : University of Toronto Press, 1978.
- 14- LACHICA, R.V.; GENIGEORGIS, C.; HOEPRICH, P.D. Metachromatic agar-diffusion methods for detecting nuclease staphylococcal activity. **Applied Microbiology**, v.21, n.4, p.585-7, 1971.
- 15- LOPES, C.A.; MORENO, G.; CURI, P.R.; GOTTSCHALK, A.F.; MODOLO, J.R.; HORACIO, A.; CORRÊA, A.; PAVAN, C. Characteristics of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Brazil. **British Veterinary Journal**, v.146, n.5, p.443-8, 1990.
- 16- MARANDON, J.L.; OEDING, P. Investigations on animal *S. aureus* strains. 1. Biochemical characteristics and phage typing. **Acta of Pathology and Microbiology Scandinavica**, v.67, p.149-55, 1966.
- 17- MARKHAM, N.P.; MARKHAM, J.G. Staphylococci in man and animal. Distribution and characteristics of strains. **Journal of Comparative Pathology**, v.76, p.49-56, 1966.
- 18- NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O.D.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. Fagotipagem de *S. aureus* isolados de leite de vacas mastíticas. **Ciência Veterinária**, Jaboticabal, v.2, n.2, p.20-1, 1988.
- 19- NAKAGAWA, M. Studies on bacteriophage typing of a staphylococci isolated from bovine milk. III Typing by means of a new phage set. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v.8, n.4, p.331-42, 1960.
- 20- PAGANO, J.S.; FARRER, S.M.; PLOTKIN, S.A.; BRACHMAN, P.S. Isolation from animals of human strains of Staphylococci during an epidemic in a veterinary school. **Science**, v.131, p.927-8, 1960.
- 21- RAHMAN, H.; BORO, B.R. Isolation and antibiogram of bacterial pathogens producing mastitis. **Indian Journal of Animal Health**, v.29, n.1, p.49-52, 1990.
- 22- SETO, J.T.; WILSON, J.B. Bacteriophage typing of micrococci of bovine origin. **American Journal of Veterinary Research**, v.19, p.241-6, 1958.
- 23- SOLÉ-VERNIN, C. Fagotipagem de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Ortopedia**, Rio de Janeiro, v.11, n.1, p.31-4, 1976.
- 24- SUBCOMITTEE on Taxonomy of Staphylococci and Micrococci. **International Bulletin of Bacteriological Nomenclature**, v.15, n.2, p.107-8, 1965.
- 25- WILLIAMS, R.E.O. *et al.* Bacteriophage typing of strains of *Staphylococcus aureus* from various sources. **Lancet**, v.1, p.510-4, 1953.
- 26- ZELANTE, F. **Contribuição para o estudo de *Staphylococcus aureus* de canais radiculares**. São Paulo, 1974. 82p. Tese de (Livre-Docência) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. 82p.

Enviado para publicação: 27/08/1996
Aprovado para publicação: 19/11/1997