

Perfil de susceptibilidade a antibióticos de agentes etiológicos de mastite subclínica bovina em Portugal

Antimicrobial susceptibility traits of subclinical bovine mastitis pathogens in Portugal

Sandro F. Nunes*, Lina M. Cavaco, Cristina L. Vilela e Ricardo Bexiga

Centro Interdisciplinar de Investigação em Sanidade Animal (CIISA),
Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa (TULisbon).
Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa

Resumo: A mastite bovina permanece a razão mais frequente para a utilização de antibióticos nas explorações leiteiras. A escolha do fármaco a administrar é geralmente empírica, baseada na sua disponibilidade para administração intramamária e reflete a experiência adquirida do Médico Veterinário. Informação relativa às susceptibilidades dos microrganismos isolados em diferentes regiões geográficas assume uma crescente importância. Este trabalho visou a avaliação da susceptibilidade a 12 fármacos, por difusão em disco, de 234 isolados contagiosos e ambientais de mastite subclínica, obtidos em explorações da zona centro de Portugal, no período compreendido entre 2000 e 2003. Os fármacos testados foram: penicilina, ampicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, cefazolina, cefoperazona, cefquinoma, aminosidina, estreptomicina, gentamicina, sulfametoxazole/trimetoprima, rifaximina e colistina. No total dos isolados testados, cefazolina (91,0%) e a associação amoxicilina/ácido clavulânico (90,2%) revelaram a maior eficácia *in vitro*. As cefalosporinas constituíram o grupo de fármacos com os melhores resultados, inclusivamente contra microrganismos Gram negativos. Níveis elevados de resistência *in vitro* a penicilina e ampicilina foram observados para microrganismos Gram positivos, particularmente face a *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. De uma forma global, o maior número resistências encontrado neste estudo, em comparação com outros países, poderá ser reflexo da pressão selectiva sobre estirpes resistentes devidas a antibioterapias mal direccionadas.

Summary: Bovine mastitis remains the main reason for antibiotic use in dairy farms. Antimicrobial drug selection is usually empirical, based on the drug availability for intramammary administration and reflects the previous experience of the Veterinarian. Information regarding susceptibility of the microrganisms isolated in different geographic regions has become of major importance. The present work aimed at assessing the susceptibility to 12, through disc diffusion, drugs of 234 contagious and environmental mastitis pathogens from subclinical mastitis cases, isolated in dairy farms from the central region of Portugal, from 2000 to 2003. The drugs tested were: penicillin, ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid,

cefazolin, cefoperazone, cefquinome, aminosidine, streptomycin, gentamycin, sulfamethoxazole/trimethoprim, rifaximin and colistin. Overall, cefazolin (91.0%) and the association amoxicillin/clavulanate (90.2%) revealed higher *in vitro* efficacy. Cephalosporins were the antimicrobial group showing better results, including Gram negative microrganisms. High levels of *in vitro* resistance to penicillin and ampicillin were found for Gram positive pathogens, especially against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. Globally, the high number of resistances found in this study, when compared to other countries, may reflect the selective pressure on resistant strains due to misguided antibiotherapies.

Introdução

A mastite permanece como a patologia de maior impacto económico nas explorações de bovinos leiteiros. A forma subclínica de infecção, apesar de menos evidente para o produtor do que a clínica, é a que mais afecta o rendimento económico da produção de leite. O impacto das mastites subclínicas deriva da diminuição do nível de produção e qualidade do leite, particularmente por aumento do número de células somáticas, constituindo igualmente a razão mais frequente para a administração de antibióticos em bovinos leiteiros (Hillerton e Berry, 2005).

Questões de saúde pública, principalmente as relacionadas com a presença de resíduos e a disseminação de resistências bacterianas aos antibióticos, determinaram recomendações para uma redução gradual da utilização de antibióticos em medicina veterinária (WHO, 2001). A identificação dos agentes etiológicos de qualquer infecção e a avaliação do seu perfil de sensibilidade a fármacos antimicrobianos torna-se assim essencial para a adequada selecção da antibioterapia a instituir (Gentilini *et al.*, 2002). No entanto, e no caso específico de mastite, este procedimento nem sempre é passível de ser adoptado pelo clínico assistente da exploração, sobretudo pela

*Correspondência: amsandronunes@fmv.utl.pt
Tel: +351 213652800, ext. 1263; Fax: +351 213652882

morosidade associada ao processo. É frequente a decisão de antibioterapia imediatamente após a detecção de infecção clínica, bem como a administração de antibióticos de forma preventiva, aquando do período de secagem dos animais.

A escolha sobre o fármaco a utilizar é geralmente tomada de forma empírica, com base na experiência prévia adquirida do clínico e nos resultados de estudos realizados em outros países. A disponibilidade dos fármacos de novas gerações, com um maior amplo espectro de acção, surge como uma alternativa fácil, associada a uma maior probabilidade de sucesso terapêutico. No entanto, a selecção de estirpes com resistências a antibióticos é um processo rápido, pelo que a utilização deste tipo de fármacos não deverá ser considerado para uma primeira escolha terapêutica. Existem, em vários países Europeus, recomendações fundamentadas para a primeira e segunda escolhas do princípio activo a utilizar em terapêutica de mastites (Vaarst *et al.*, 2002). No entanto, a extrapolação de informação obtida em outros países, com práticas clínicas e de manejo diferentes, deverá ser cautelosamente considerada. É assim essencial o conhecimento de quais os principais agentes etiológicos de mastite em Portugal e do seu perfil de susceptibilidade aos fármacos antimastíticos.

O presente trabalho visou avaliar o perfil de susceptibilidade de isolados de mastites subclínicas, obtidos em 12 explorações do centro de Portugal entre 2000 e 2003, face aos fármacos disponíveis no mercado nacional para terapêutica de mastites.

Material e métodos

Isolados bacterianos

Um total de 234 isolados de mastite subclínica bovina foi incluído neste estudo, agrupado de acordo com a epidemiologia da infecção: microrganismos de natureza contagiosa (35 *Staphylococcus aureus*, 61 *Streptococcus agalactiae*, 9 *Streptococcus dysgalactiae*) e ambiental (68 *Staphylococcus coagulase*-negativos SCN, 51 *Streptococcus* spp. e 10 bacilos Gram negativos).

Os isolados estudados, obtidos de amostras de leite de quartos com mastite subclínica detectada através do Teste Californiano de Mastites (***), foram recolhidos em 12 explorações comerciais leiteiras do Ribatejo-Oeste durante o período de 2000 a 2003 (Bexiga *et al.*, 2005). Após isolamento e identificação bioquímica (API System, BioMérieux), procedeu-se à sua preservação a -70 °C.

Fármacos

Os fármacos testados foram: amoxicilina/ácido clavulânico 30 µg (AMC), ampicilina 10 µg (AMP), cefazolina 30 µg (KZ), cefoperazona 75 µg (CFP), cefquinoma 10 µg (CEQ), estreptomomicina 10 µg (S),

gentamicina 10 µg (CN), penicilina 10 U (P) e sulfametoxazole/trimetoprima 25 µg (SXT) produzidos pela Oxoid® e cedidos pela Intervet/Schering-Plough; colistina 10 µg (CL), fornecidos pela BBL™; rifaximina 40 µg (RAX), produzidos pela Mast Diagnostics™™ e cedidos pela Univete; e aminosidina 60 µg (AN), cedidos pela Ceva Saúde Animal. A escolha dos fármacos teve por base a sua disponibilidade no mercado português, para administração intramamária em bovinos leiteiros.

Teste de sensibilidade a antibióticos

A susceptibilidade aos diferentes antibióticos foi avaliada pelo método de difusão em disco, de acordo com as normas instituídas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2002) para testes de susceptibilidade a antibióticos de bactérias de origem veterinária. Cada isolado foi propagado em placas de agar Mueller-Hinton (Oxoid®) ou Mueller-Hinton suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro (Biomérieux®) dependendo do seu género. Após aposição dos discos impregnados com os fármacos sobre as placas, estas foram incubadas a 37 °C durante 24 horas em aerobiose.

Os diâmetros dos halos de inibição de crescimento obtidos foram registados e comparados com os limites de sensibilidade definidos para isolados de origem veterinária (CLSI, 2002). Nos casos omissos, foram adoptados os limites de sensibilidade recomendados pelos fabricantes dos discos.

Análise estatística

Para efeitos de análise estatística os isolados testados que apresentaram um perfil de sensibilidade intermédia foram considerados como resistentes. Diferenças observadas entre perfis de sensibilidade foram avaliadas por Teste de Friedman e Qui-quadrado ($\alpha \leq 0,05$). A análise dos dados foi elaborada recorrendo ao programa SPSS versão 12.0.

Resultados

Os padrões de sensibilidade *in vitro* dos 234 isolados de natureza contagiosa e ambiental, estabelecidos com base na avaliação dos halos de inibição de crescimento dos 12 princípios activos testados, são apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente. No total dos isolados testados, cefazolina (91,0%) e a associação amoxicilina/ácido clavulânico (90,2%) apresentam a maior eficácia *in vitro*, seguidas de cefquinoma (78,3%), cefoperazona (76,5%) e rifaximina (72,2%).

Nenhum dos grupos de isolados testados apresentou susceptibilidades significativamente diferentes entre si face a P e AMP. Ambos os princípios activos exibem reduzida eficácia contra *Staph. aureus*, *Strep. agalactiae* e SCN (< 40% de isolados sensíveis) e apenas

isolados de *Strep. dysgalactiae* e *Streptococcus* spp. apresentam níveis superiores de sensibilidade.

Em oposição, os restantes antibióticos beta-lactâmicos apresentam a maior eficácia, especialmente face a isolados ambientais. A associação AMC apresenta boa eficácia relativamente a todos os isolados particularmente contra bactérias do género *Streptococcus*. As cefalosporinas constituem o grupo de fármacos com maior eficácia contra os isolados testados, inclusivamente contra Gram negativos.

Os aminoglicosídeos AN e CN revelam bons níveis de inibição do crescimento dos isolados testados, com a excepção de *Streptococcus* spp. Apresentam ainda os melhores resultados relativamente a Gram negativos.

Pelo contrário, S apresenta um dos maiores níveis de resistências. A maior eficácia é obtida contra SCN, apenas com 30,9% de isolados sensíveis.

SXT e RAX apresentam níveis médios de sensibilidade. SXT apresenta o segundo melhor valor contra *Staph. aureus* e uma boa eficácia contra microrganismos Gram negativos. RAX apresenta melhores resultados que SXT, face a bactérias Gram positivas, com excepção de *Staph. aureus*.

Cl apresenta, quando considerado o total dos isolados, os níveis mais baixos de sensibilidade, com apenas 9,4% de isolados sensíveis. Considerando apenas os microrganismos Gram negativos, apenas 50% destes é sensível a CL.

Discussão

A utilização de antibióticos no tratamento de mastite tem-se tornado uma importante fonte de discussão, e por vezes mesmo discórdia, como consequência da crescente preocupação com o uso prudente destes fármacos em animais.

Devido à diversidade de agentes etiológicos de mastite, foram desenvolvidas estratégias de controlo baseadas na minimização da exposição do úbere a agentes patogénicos, dos quais se salienta o plano de controlo dos 5 pontos (Neave *et al.*, 1966). Deste plano, fazem parte a utilização e manutenção adequadas das salas de ordenha, a desinfecção dos tetos após a ordenha (*post-dip*), o tratamento das mastites clínicas durante a lactação, o refugio de animais afectados por mastites crónicas e a antibioterapia de secagem. Contudo, ocorrem invariavelmente novos casos de mastite e o uso de fármacos antimicrobianos assume um papel importante no seu controlo.

Em Portugal, Reino Unido e na maioria dos países Europeus, o tratamento da mastite é feito por administração intramamária de fórmulas farmacêuticas contendo um ou mais antibióticos, por vezes associados a corticosteróides. Outras vias de administração são reservadas apenas para o tratamento de mastite clínica severa ou infecções crónicas de *Staph. aureus* (Serieys *et al.*, 2005).

Os países nórdicos possuem recomendações nacionais para um uso controlado destes fármacos, particularmente em casos de mastite bovina. Estas preconizam a administração parenteral de um número muito reduzido de fármacos, preferencialmente penicilina G (Hillerton e Berry, 2005). A vantagem da administração sistémica face à terapêutica local pode ser explicada, em parte, pelo seu efeito colateral em infecções subclínicas eventualmente presentes em outros quartos e pela melhor difusão do fármaco na presença de coágulos ou micro-abcesso que impedem a sua progressão pela via intramamária, diminuindo assim a incidência de novos casos.

As decisões terapêuticas são geralmente empíricas e baseiam-se nas experiências anteriores de sucesso no tratamento para a exploração em questão. Raramente o veterinário tem informação sobre a identificação do agente patogénico e respectivo padrão de sensibilidade para o guiar na decisão terapêutica (Owens *et al.*, 1997).

Discrepâncias expressivas na prevalência, incidência e antibioresistências dos agentes patogénicos da mastite têm sido identificadas e descritas, limitando uma possível extrapolação dos perfis de susceptibilidade dos agentes contagiosos e ambientais entre os vários países.

A prevalência de mastites de origem contagiosa, causadas por *Staph. aureus*, *Strep. agalactiae* e *Strep. dysgalactiae*, permanece elevada em Portugal em comparação com outros países (Myllys *et al.*, 1998; Bradley, 2002; Schlegelova *et al.*, 2002; Bexiga *et al.*, 2005). Mais preocupante ainda é o facto de não se terem verificado alterações expressivas nas espécies e frequência de isolados, em relação aos referidos há mais de 20 anos na mesma área geográfica (Atalaia, 1983; Bexiga *et al.*, 2005). No Reino Unido, verifica-se que as infecções por *Strep. agalactiae* se encontram controladas e que as causadas por *Staph. aureus* se encontram em declínio. Pelo contrário, observa-se um aumento de infecções causadas por agentes ambientais, especialmente Gram negativos e *Strep. uberis* (Bradley, 2002; Hillerton e Berry, 2005). Cenário semelhante verifica-se na Finlândia e França, com tendência para a diminuição de mastites devidas a agentes contagiosos em oposição às causadas por agentes ambientais (Myllys *et al.*, 1998; Guerin-Faubleee *et al.*, 2003; Pitkala *et al.*, 2004).

De acordo com a maioria dos dados referidos na literatura disponível, não têm ocorrido alterações significativas das susceptibilidades a antibióticos dos agentes patogénicos de mastite. No entanto, são frequentemente referidas diferenças entre os perfis de resistência dos microrganismos, em função da localização geográfica das explorações a partir das quais foram isolados (Owens *et al.*, 1990; Owens *et al.*, 1997; Watts and Salmon, 1997; Myllys *et al.*, 1998; Salmon *et al.*, 1998; De Oliveira *et al.*, 2000; Erskine *et al.*, 2002; Pitkala *et al.*, 2004). Informação sobre

incidência e prevalência dos agentes patogénicos envolvidos localmente, respectivos perfis de sensibilidade a fármacos antimicrobianos tem-se tornado decisiva na escolha do fármaco a administrar no tratamento e controlo de mastite bovina.

Os resultados obtidos neste estudo permitem estabelecer um perfil generalizado das sensibilidades a antibióticos dos isolados obtidos de mastite sub-clínica bovina da região Ribatejo-Oeste.

Entre os fármacos mais utilizados para o controlo de infecções intramamárias bovinas, encontram-se os antibióticos beta-lactâmicos, que se podem considerar divididos em dois grandes sub-grupos: penicilinas e cefalosporinas. Analisando os resultados obtidos face a estes fármacos, verificaram-se diferenças significativas entre a susceptibilidade a penicilinas, P e AMP, e aos restantes fármacos: AMC e cefalosporinas. Estas diferenças poderão ser devidas à produção de beta-lactamases pelos isolados, especialmente do género *Staphylococcus*, frequente em isolados de mastite (Watts e Salmon, 1997; De Oliveira *et al.*, 2000). A elevada eficácia verificada para a associação amoxicilina e ácido clavulânico, um inibidor de beta-lactamases, contra *Staph. aureus* e restantes SCN, suporta esta hipótese. Os resultados obtidos no presente estudo diferem da maioria dos dados publicados, que referem para staphylococci isolados de mastite uma baixa resistência a P e AMP (Watts *et al.*, 1995; Owens *et al.*, 1997; Costa *et al.*, 2000; De Oliveira *et al.*, 2000; Gentilini *et al.*, 2000; Erskine *et al.*, 2002). O espectro de acção destes fármacos, dirigido a microrganismos Gram positivos, justifica a sua ineficácia face a isolados Gram negativos.

As cefalosporinas são categorizadas em gerações, de acordo com o seu espectro de acção. Neste estudo,

foram testados representantes de 3 gerações distintas: KZ representante da 1ª, CFP da 3ª e CEQ da 4ª. Os resultados obtidos mostram uma elevada eficácia de todas elas contra microrganismos Gram positivos e Gram negativos. De realçar que KZ, uma cefalosporina de 1ª geração cujo espectro de acção é direccionado predominantemente para as bactérias Gram positivas, mostrou-se eficaz face a 40% dos isolados Gram negativos.

A elevada sensibilidade de *Strep. dysgalactiae* às cefalosporinas, assim como à maioria dos antibióticos testados com acção para microrganismos Gram positivos, está de acordo com o descrito na literatura (Owens *et al.*, 1990; Owens *et al.*, 1997; Erskine *et al.*, 2002; Rossitto *et al.*, 2002).

Os aminoglicosídeos têm como espectro de acção bactérias Gram negativas. Entre os três fármacos testados, o maior número de resistências verificou-se em relação a S, com apenas 10 isolados Gram negativos susceptíveis. Apesar do seu espectro de acção, S revelou-se menos eficaz face a bactérias Gram-negativas do que face a SCN. No entanto, o reduzido número de isolados Gram negativos testados poderá ter originado uma distorção dos resultados, pelo que deverão ser realizados estudos com base numa maior amostragem de microrganismos Gram negativos.

AN e CN apresentam eficácia elevada relativamente aos isolados Gram negativos (80%) mas também contra *Staph. aureus* e SCN, com taxas de sensibilidade próximo ou acima de 70%. Este valor é ligeiramente inferior ao verificado em outros países (Costa *et al.*, 2000; Gentilini *et al.*, 2000; Erskine *et al.*, 2002). Apesar destes bons resultados, AN não está correntemente disponível como preparação intramamária no

Tabela 1 - Percentagens de susceptibilidade de agentes contagiosos a ampicilina (AMP), amoxicilina/ácido clavulânico (AMC), penicilina (P), cefazolina (KZ), cefoperazona (CFP), cefquinoma (CEQ), aminosidina (AN), estreptomomicina (S), gentamicina (CN), sulfametoxazole/trimetoprima (SXT), rifaximina (RAX) e colistina (CL).

	% Susceptibilidade – Agentes contagiosos			Total (n=105)
	<i>Staph. aureus</i> (n=35)	<i>Strep. agalactiae</i> (n=61)	<i>Strep. dysgalactiae</i> (n=9)	
AMP	28,6	34,4	88,9	37,2
P	28,6	21,3	77,8	28,6
AMC	82,9	98,4	100	93,4
KZ	94,3	96,8	100	96,2
CFP	37,1	88,7	100	72,5
CEQ	80,0	74,2	100	78,3
AN	71,4	8,2	44,5	32,4
S	5,7	1,6	0	2,8
CN	71,4	6,6	33,4	30,5
SXT	91,4	35,5	66,7	56,8
RAX	77,1	54,1	77,8	63,8
CL	0	3,2	11,1	2,8

Tabela 2 - Percentagens de susceptibilidade de agentes ambientais a ampicilina (AMP), amoxicilina/ácido clavulânico (AMC), penicilina (P), cefazolina (KZ), cefoperazona (CFP), cefquinoma (CEQ), aminosidina (AN), estreptomomicina (S), gentamicina (CN), sulfametoxazole/trimetoprima (SXT), rifaximina (RAX) e colistina (CL).

	% Susceptibilidade – Agentes contagiosos			Total (n=129)
	SCN (n=68)	<i>Streptococcus</i> spp. (n=51)	Gram negativos (n=10)	
AMP	36,8	60,8	0	43,4
P	39,7	54,9	0	42,6
AMC	85,3	100,0	40	87,6
KZ	86,8	98,0	30	86,8
CFP	79,4	86,3	50	79,8
CEQ	76,5	88,2	40	78,3
AN	85,3	31,4	80	63,6
S	30,9	2,0	10	17,8
CN	69,1	37,3	80	57,4
SXT	64,7	56,9	80	62,8
RAX	89,7	76,5	20	79,1
CL	19,1	2,0	50	14,7

mercado europeu, inviabilizando a sua utilização.

A susceptibilidade dos isolados face a SXT contrasta com o descrito na literatura. Embora a elevada eficácia contra *Staph. aureus* esteja de acordo com o descrito na bibliografia, a susceptibilidade de *Strep. dysgalactiae* (66,7%) e bactérias Gram negativas (80%) encontram-se abaixo do descrito com uma susceptibilidade de aproximadamente 96% (Erskine *et al.*, 2002).

A ansamicina RAX é um antibiótico semi-sintético de largo espectro, indicado para administração intramamária e intra-uterina em bovinos de leite. Os estudos de susceptibilidade para isolados de origem veterinária são ainda raros, sendo mesmo inexistentes relativamente a isolados de mastite bovina. A susceptibilidades elevadas observadas confirmam a abrangência do espectro de acção deste fármaco, com maior eficácia em relação aos Gram positivos do que aos Gram negativos.

O elevado número de resistências a CL, deve-se em grande medida ao seu espectro de acção restrito a bacilos Gram negativos (Guerin-Fauble *et al.*, 2003). No entanto, contrariamente ao observado anteriormente em isolados de mastite (Guerin-Fauble *et al.*, 2003) apenas 50% dos bacilos Gram negativos se mostraram susceptíveis a este fármaco, valor inferior ao verificado relativamente a AN, CN e SXT.

De um modo geral, os isolados mais prevalentes na região do Ribatejo-Oeste, testados neste estudo, apresentam valores de susceptibilidade inferiores aos verificados noutros países (Owens *et al.*, 1990; Watts *et al.*, 1995; Myllys *et al.*, 1998; De Oliveira *et al.*, 2000; Gentilini *et al.*, 2002; Guerin-Fauble *et al.*, 2002; Rossitto *et al.*, 2002; Yoshimura *et al.*, 2002; Guerin-Fauble *et al.*, 2003; Rajala-Schultz *et al.*, 2004; Luthje and Schwarz, 2006). Considerando o grupo de isolados responsáveis por mastites de natureza contagiosa, verifica-se uma baixa percentagem de agentes sensíveis a P e AMP, o que inviabiliza a adopção das recomendações dos países nórdicos. Inclusivamente em relação a *Strep. agalactiae*, que é referido com sendo sempre sensível a P, foram encontradas resistências *in vitro* em 78,7% dos isolados. Também em *Staph. aureus* foram encontrados elevadas percentagens de resistências o que, aliado ao facto de este microrganismo poder assumir uma localização intracelular e assim evadir-se às defesas do animal e resistir à antibioterapia, corrobora a necessidade de considerar o refúgio de animais com mastites crónicas, de acordo com o plano de controlo dos 5 pontos.

Em relação aos microrganismos ambientais, verifica-se uma diferença entre o perfil de bactérias Gram positivas e Gram negativas. Estas provocam infecções geralmente clínicas, agudas, com uma expressiva componente inflamatória, e poderá ser considerada a não utilização de antibióticos no seu controlo. Considerando então apenas os microrganismos

Gram positivos de origem ambiental, verificamos que a maioria dos fármacos com um espectro de acção adequado se revelou eficaz, à excepção de P e AMP. Uma vez mais, estes resultados reforçam a necessidade do conhecimento dos perfis de sensibilidade dos isolados nacionais, a fim de evitar a extrapolação de dados referentes a outros países que podem sugerir terapêuticas menos adequadas.

De uma forma global, o maior número de isolados resistentes encontrados neste estudo poderá reflectir a existência de práticas de antibioterapia incorrectamente dirigidas, que acarretam uma pressão de selecção sobre estirpes resistentes. Este facto tem sérias implicações em saúde animal, considerando a possibilidade de dispersão horizontal de genes de resistência. A proximidade entre o Homem e os animais ou seus produtos tornam esta preocupação extensiva à saúde pública. Também a facilidade de acesso a antibióticos por pessoas não credenciadas, acentua os riscos de uma terapêutica não dirigida. Este aspecto apenas recentemente foi objecto de legislação, com a criação da Receita Veterinária que visa o controlo na prescrição de antibióticos a animais de produção.

No entanto, pensamos que um dos principais factores que contribuirá para o estabelecimento de medidas adequadas de controlo de mastites é o conhecimento dos perfis de susceptibilidade dos agentes etiológicos locais, sendo necessária a realização e publicação de estudos realizados noutras regiões de Portugal. Uma vez conhecido o panorama nacional, será possível aos clínicos responsáveis pelas explorações uma escolha fundamentada do fármaco a utilizar, reduzindo o insucesso terapêutico e, simultaneamente, a utilização de antibióticos.

Agradecimentos

O presente estudo foi financiado pelo Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA) da Faculdade de Medicina Veterinária, e pela Fundação de Ciência e Tecnologia – Projecto POCTI/CA/1995/95/2003.

Os autores agradecem à Ceva Saúde Animal, Intervet/Schering-Plough e Univete a cedência de discos com antibióticos. Os autores agradecem ainda aos produtores envolvidos no estudo.

Bibliografia

- Atalaia V (1983). Contribuição para o estudo das mamicas bovinas da região do Ribatejo-Oeste. Repositório de Trabalhos do Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, 15: 95-116.
- Bexiga R, Cavaco LM, Vilela CL (2005). Mastites subclínicas bovinas na zona do Ribatejo-Oeste. Revista da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias, 100, (553-554): 39-44.

- Bradley A (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet J*, 164: 116-128.
- CLSI (2002). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility for bacteria isolated from animals; approved standards – second edition. CLSI document M31-A2, 22 (6): 55-59.
- Costa EO, Benites NR, Guerra JL, Melville PA (2000). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 47: 99-103.
- De Oliveira AP, Watts JL, Salmon SA, Aarestrup FM (2000). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. *J Dairy Sci*, 83: 855-862.
- Erskine RJ, Walker RD, Bolin CA, Bartlett PC, White DG (2002). Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *J Dairy Sci*, 85: 1111-1118.
- Gentilini E, Denamiel G, Betancor A, Rebuelto M, Rodriguez-Fermepin M, De Torrest RA (2002). Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *J Dairy Sci*, 85: 1913-1917.
- Gentilini E, Denamiel G, Llorente P, Godaly S, Rebuelto M, DeGregorio O (2000). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. *J Dairy Sci*, 83: 1224-1227.
- Guerin-Fauble V, Carret G, Houffschmitt P (2003). *In vitro* activity of 10 antimicrobial agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis. *Vet Rec*, 152: 466-471.
- Guerin-Fauble V, Tardy F, Bouveron C, Carret G (2002). Antimicrobial susceptibility of Streptococcus species isolated from clinical mastitis in dairy cows. *Int J Antimicrob Agents*, 19: 219-226.
- Hillerton JE, Berry EA (2005). Treating mastitis in the cow—a tradition or an archaism. *J Appl Microbiol*, 98: 1250-1255.
- Luthje P, Schwarz S (2006). Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from bovine subclinical mastitis with particular reference to macrolide-lincosamide resistance phenotypes and genotypes. *J Antimicrob Chemother*, 57: 966-969.
- Myllys V, Asplund K, Brofeldt E, Hirvela-Koski V, Honkanen-Buzalski T, Junttila J, Kulkas L, Myllykangas O, Niskanen M, Saloniemi H, Sandholm M, Saranpaa T (1998). Bovine mastitis in Finland in 1988 and 1995—changes in prevalence and antimicrobial resistance. *Acta Vet Scand*, 39: 119-126.
- Neave FK, Dodd FH, Kingwill RG (1966). A method of controlling udder disease. *Vet Rec*, 78(15): 521-3.
- Owens WE, Ray CH, Watts JL, Yancey RJ (1997). Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility tests for bovine mastitis. *J Dairy Sci*, 80: 313-317.
- Owens WE, Watts JL, Greene BB, Ray CH (1990). Minimum inhibitory concentrations and disk diffusion zone diameter for selected antibiotics against streptococci isolated from bovine intramammary infections. *J Dairy Sci*, 73: 1225-1231.
- Pitkala A, Haveri M, Pyorala S, Myllys V, Honkanen-Buzalski T (2004). Bovine mastitis in Finland 2001 - prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci*, 87: 2433-2441.
- Rajala-Schultz PJ, Smith KL, Hogan JS, Love BC (2004). Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. *Vet Microbiol*, 102: 33-42.
- Rossitto PV, Ruiz L, Kikuchi Y, Glenn K, Luiz K, Watts JL, Cullor JS (2002). Antibiotic susceptibility patterns for environmental streptococci isolated from bovine mastitis in central California dairies. *J Dairy Sci*, 85: 132-138.
- Salmon SA, Watts JL, Aarestrup FM, Pankey JW, Yancey RJ (1998). Minimum Inhibitory Concentrations for Selected Antimicrobial Agents Against Organisms Isolated from the Mammary Glands of Dairy Heifers in New Zealand and Denmark. *J Dairy Sci*, 81: 570-578.
- Schlegelova J, Babak V, Klimova E, Lukasova J, Navratilova P, Sustackova A, Sediva I, Rysanek D (2002). Prevalence of and resistance to anti-microbial drugs in selected microbial species isolated from bulk milk samples. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 49: 216-225.
- Serieys F, Raguet Y, Goby L, Schmidt H, Friton G (2005). Comparative Efficacy of Local and Systemic Antibiotic Treatment in Lactating Cows with Clinical Mastitis. *J Dairy Sci*, 88: 93-99.
- Vaarst M, Paarup-Laursen B, House H, Fossing C, Andersen HJ (2002). Farmers' Choice of Medical Treatment of Mastitis in Danish Dairy Herds Based on Qualitative Research Interviews. *J Dairy Sci*, 85: 992-1001.
- Watts JL, Salmon SA (1997). Activity of selected antimicrobial agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce beta-lactamase. *J Dairy Sci*, 80: 788-791.
- Watts JL, Salmon SA, Yancey RJ, Nickerson SC, Weaver LJ, Holmberg C, Pankey JW, Fox LK (1995). Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms Isolated from the Mammary Glands of Dairy Heifers. *J Dairy Sci*, 78: 1637-1648.
- WHO (2001). Improve antibiotic use in animals. In Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups, 65-79.
- Yoshimura H, Ishimaru M, Kojima A (2002). Minimum Inhibitory Concentrations of 20 Antimicrobial Agents against *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Intramammary Infections in Japan. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 49: 457-460.