

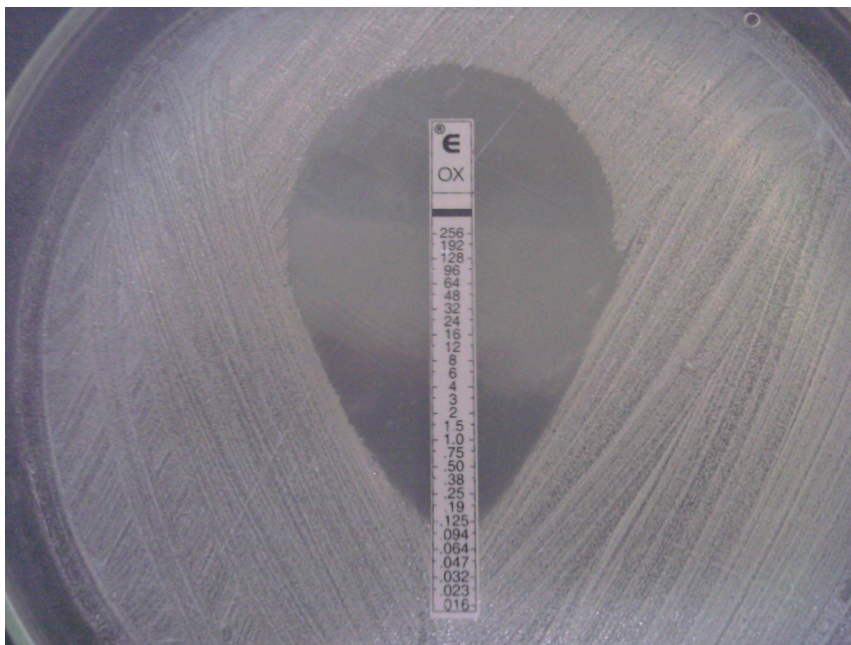


FIGURA 4 – Etest Oxacilina

As variações de sensibilidade encontradas entre os testes de difusão e o Etest para os antimicrobianos podem estar relacionadas às diferenças entre as metodologias empregadas segundo NCCLS (2005). Isto se deve, principalmente, aos diferentes valores de concentrações utilizados.

Zafalon et al. (2012), estudando estafilococos oriundos de mastite subclínica em ovinos, avaliaram sete isolados resistentes à oxacilina pelo Etest. Testes adicionais não foram realizados, mas sugere-se que esses isolados possam ser hiperprodutores de betalactamases ou apresentem mecanismos de resistência adicionais, como sugerido também por Martineau et al. (2000) e Terasawa (2006). Nesse mesmo estudo, micro-organismos resistentes à oxacilina apresentaram maior resistência contra outros antibióticos, principalmente à penicilina G, cefepima e gentamicina, quando comparados com os demais micro-organismos sensíveis à oxacilina. Resultados semelhantes de multirresistência foram verificados por Turutoglu et al. (2006) que detectaram *Staphylococcus aureus* e estafilococos coagulase negativos fenotipicamente resistentes à oxacilina, dentre os quais 100% dos *Staphylococcus aureus* foram também resistentes à penicilina G, amoxicilina, cloxacina e gentamicina.

Staphylococcus aureus que apresentam resistência à oxacilina são, frequentemente, resistentes a outros grupos de agentes antimicrobianos mais comuns, como os aminoglicosídeos, macrolídeos, cloranfenicol, tetraciclina e fluoroquinolonas, tornando-se um grande risco para o homem e animais em casos de infecções (PAIANO e BENDENO, 2009).

Oliveira et al. (2001) avaliaram a tolerância à vancomicina em isolados hospitalares de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina, os quais apresentaram valores de concentrações inibitórias mínimas variáveis de 0,5 a 4 µg/ml. Nesse estudo, observou-se uma relação direta entre maior percentual de tolerância à vancomicina e níveis mais elevados da CIM. Houve um aumento paralelo dos valores, até que isolados com CIM de 4 µg/ml apresentaram 100% de tolerância.

Paiano e Bendeno (2009), estudando a presença de *Staphylococcus aureus* em recém-nascidos humanos saudáveis, detectaram isolados resistentes à oxacilina (CIM: 8 µg/ml).

O aumento crescente da frequência de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina e a possibilidade do aparecimento de amostras resistentes à vancomicina tornam imprescindível o desenvolvimento de novas drogas com atividade antiestafilocócica (FREITAS et al., 2005).

5.3 Atividade antimicrobiana - *Psidium guajava* L.

O extrato hidroalcoólico da folha de *Psidium guajava* L., por meio da realização da técnica de poços (FIG. 5), apresentou atividade antimicrobiana contra todos os isolados de *Staphylococcus aureus*, inibindo o crescimento microbiano em todas as concentrações testadas (1600 µg/ml, 800 µg/ml e 400 µg/ml). A inibição foi verificada devido à formação de halos. Os valores dos halos (em mm) obtidos na medição foram crescentes, seguindo o aumento da concentração avaliada (TAB. 2).

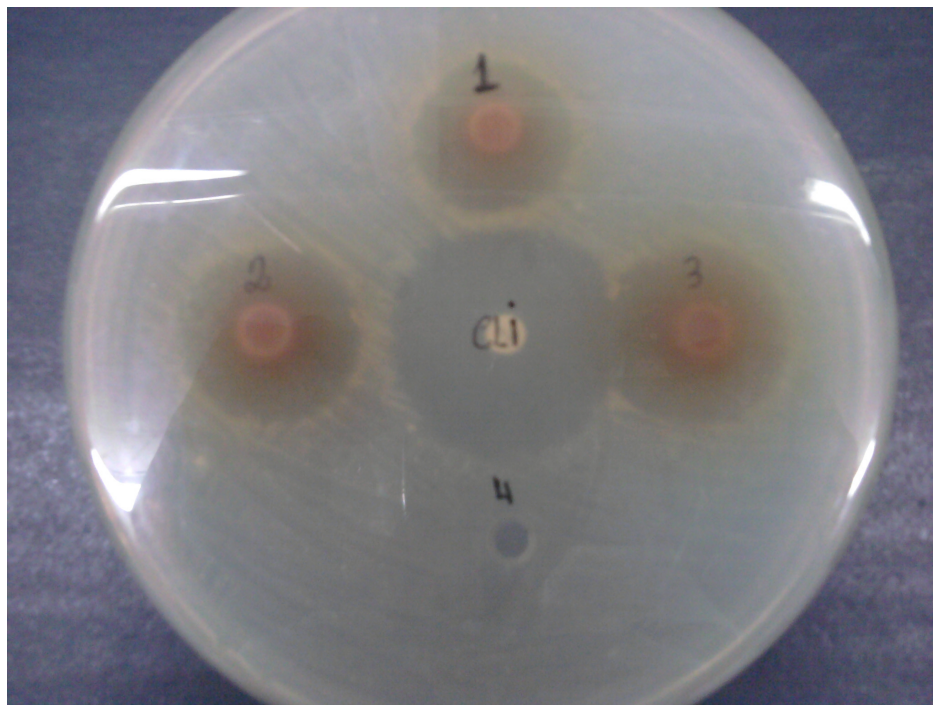


FIGURA 5 - Testes antimicrobianos com extrato de *Psidium guajava* L. contra *Staphylococcus aureus*
– Técnica de poços/ 1: 400 $\mu\text{g/ml}$; 2: 800 $\mu\text{g/ml}$; 3: 1600 $\mu\text{g/ml}$; 4: Água destilada; CLI: Clindamicina.

TABELA 2. Atividade antimicrobiana de *Psidium guajava* L. – Medição dos halos (em mm).

Amostras	CN	CP	C1	C2	C3
1	0	34	21	22	26
2	0	25	27	28	29
3	0	32	19	22	24
4	0	32	21	23	26
5	0	31	22	25	26
6	0	35	26	27	28
7	0	33	21	24	26
8	0	36	25	26	28
9	0	33	24	26	27
10	0	34	25	27	29
11	0	29	20	23	24
12	0	29	17	21	23
13	0	26	13	16	17
14	0	31	20	22	26
15	0	32	25	26	27
16	0	28	22	24	25
17	0	30	19	24	25
18	0	33	24	25	26
19	0	32	22	23	26
20	0	30	19	23	25
21	0	30	19	21	22
22	0	30	19	24	25
23	0	29	20	23	25
24	0	26	17	19	20
25	0	27	16	19	20
26	0	30	20	21	23
27	0	28	17	18	20
28	0	30	20	22	24
29	0	27	20	21	22
30	0	26	24	25	26
31	0	28	19	20	24
32	0	25	21	22	23
33	0	26	17	20	24
Padrão	0	26	17	19	20

CN: Controle negativo (Água destilada).

CP: Controle positivo (Clindamicina – valor de referência de sensibilidade dos halos: 24 a 30 mm) (NCCLS, 2005).

C1: 400 µg/ml.

C2: 800 µg/ml.

C3: 1600 µg/ml.

Nessa pesquisa, foi observada a formação de halos de inibição, cujos diâmetros variaram de 13 a 36 mm para as concentrações testadas.

Testando extratos aquosos de *Psidium guajava* L., Menezes et al. (2004) obtiveram resultados positivos para a ação antimicrobiana, com halos de inibição de crescimento em torno de 25 mm para *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Gonçalves et al. (2008), em seus estudos *in vitro* com micro-organismos extraídos de camarão, relataram que o melhor efeito inibitório foi observado com extrato metanólico das folhas de *Psidium guajava* L. contra *Staphylococcus aureus*. Os halos de inibição variaram entre 8,25 e 9,25 mm sob a concentração estimada de 96,87 µg/ml, baseada nos dados apresentados pelos Autores.

Pereira et al. (2008) avaliaram e comprovaram a atividade antimicrobiana dos extratos glicólicos de *Psidium guajava* L. contra cepas padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

Holetz et al. (2002) encontraram ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guajava* L. contra *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados indicaram que as folhas desta planta poderiam ser utilizadas para tratar patologias causadas por tais micro-organismos devido ao seu efeito antimicrobiano.

Sanches et al. (2005) também obtiveram efeito inibitório por meio dos extratos hidroalcoólicos e aquosos de *Psidium guajava* L. contra cepas padrão de *Staphylococcus aureus*.

No estudo realizado por Fonseca e Botelho (2010), avaliando micro-organismos patogênicos da cavidade oral humana, o extrato bruto das folhas de *Psidium guajava* L. demonstrou atividade antimicrobiana *in vitro*, reforçando a indicação popular da planta também como antisséptica.

Gonçalves et al. (2005) observaram que *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus aureus* apresentaram sensibilidade contra o extrato de *Psidium guajava* L., não sendo constatada ação contra *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Chah et al. (2006), utilizando o método de disco-difusão em Ágar, descreveram a ação antibacteriana de extratos da folha e da raiz de *Psidium guajava* L. contra micro-organismos causadores de infecções intestinais: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Proteus sp*, *Shigella sp* e *Escherichia coli*.

Gutierrez et al. (2008), em revisão bibliográfica, fizeram referência a três estudos que relataram substâncias antibacterianas presentes em extratos metanólicos da raiz e das folhas de *Psidium guajava* L., derivadas da quercetina das folhas, um flavonóide natural.

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais pode ser avaliada através da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do micro-organismo testado, esse valor é conhecido como **Concentração Inibitória Mínima** (CIM). Um aspecto bastante relevante na determinação da CIM de extratos vegetais é a preocupação em relação aos aspectos toxicológicos, microbiológicos e legais pertinentes aos compostos naturais ou suas combinações (PINTO et al., 2003).

Foram testadas as concentrações de 1600; 800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,50; 6,25; 3,125; 1,5625 e 0,78125 µg/ml do extrato liofilizado resuspenso em água destilada estéril.

Todos os micro-organismos isolados apresentaram halos de inibição no teste de difusão em Ágar e, também, apresentaram CIM nas concentrações de 200; 400; 800 e 1600 µg/ml do extrato hidroalcoólico de *Psidium guajava* L.

Mahfuzul Hoque et al. (2007) encontraram como CIM para *Staphylococcus aureus* 100 µg/ml em testes *in vitro* com extratos etanólicos de folhas de goiabeira.

Sanches et al. (2005), usando o ensaio de microdiluição em caldo com extratos aquosos e hidroetanólicos das folhas, raízes e casca do caule de *Psidium guajava* L. contra *Staphylococcus aureus*, encontraram as respectivas CIMs: 500, 250 e 125 µg/ml, sendo os extratos hidroetanólicos os mais ativos.

Na presente pesquisa, todos os isolados de *Staphylococcus aureus* apresentaram CMM de 1600 µg/ml e 800 µg/ml (maiores concentrações testadas), nas quais não foi observado crescimento microbiano em placas.

Garcia (2010) constatou uma CMM de 46,75 µg/ml do extrato de *Psidium guajava* L. contra isolados de *Staphylococcus aureus* oriundos de casos de infecções hospitalares. O extrato obteve ação antimicrobiana contra 84,6% dos isolados.

Uma tentativa de manter o uso de antimicrobianos atuais pode ser encontrada em sua combinação com outros produtos, como os produtos naturais, que representariam uma opção terapêutica no tratamento de infecções causadas por

Staphylococcus aureus e outros patógenos no que diz respeito ao aparecimento crescente de resistência múltipla (MUSUMECI et al., 2003; PEREIRA, 2000).

No estudo desenvolvido por Maia et al. (2009), os resultados obtidos da associação do extrato de goiabeira com cefalexina contra isolados de *Staphylococcus aureus*, oriundas de amostras bovinas, variaram de uma concentração inibitória de 1:4 a 1:256 µg/ml. A associação norfloxacin e goiabeira variou de concentrações de 1:16 a 1:64 µg/ml.

Betoni et al. (2006), utilizando extratos etanólicos de folhas de goiabeira com concentração de 131,75 µg/ml contra isolados de *Staphylococcus aureus*, conseguiram diminuir a CIM de 52 para 13 µg/ml, realizando associações desse extrato com antibióticos (tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, vancomicina, oxacilina, cefalotina, ampicilina, ceftioxime, cotrimoxazole) e a eficácia foi de 47,68%.

Os resultados obtidos na atual pesquisa estão coerentes com o histórico da atividade antimicrobiana da espécie vegetal estudada, quanto à ação microbicida e à demonstração de que isolados de *Staphylococcus aureus* mostraram-se sensíveis ao extrato hidroalcoólico utilizado. No entanto, é importante ressaltar que a análise da atividade antimicrobiana nos diversos estudos citados foi realizada por diferentes metodologias e concentrações, o que torna difícil uma análise comparativa fidedigna (PEREIRA et al., 2008).

As variações referentes à determinação da CIM de extratos de plantas podem ser atribuídas a muitos fatores. Dentre eles, pode-se citar a técnica aplicada, o micro-organismo e a cepa utilizada no teste, a origem da planta, a época da colheita, se os extratos foram preparados a partir das plantas frescas ou secadas e a quantidade de extrato testada. Assim, não existe método padronizado para expressar os resultados de testes antimicrobianos de produtos naturais (FENNER et al., 2006).

De acordo com Pereira et al. (2010), esses métodos e suas variantes devem ser adaptados e escolhidos conforme as facilidades operacionais que permitam ensaios relativamente rápidos e simples, com custo compatível. É importante que as adaptações sejam testadas e padronizadas para se obter reprodutibilidade e garantir, assim, que os resultados sejam confiáveis.

6 CONCLUSÕES

- Nas propriedades rurais objetos da investigação, *Staphylococcus aureus* apresentaram alta prevalência nas infecções.
- A maioria dos antimicrobianos testados apresentou boa ação *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*. Assim, a realização de antibiogramas é de grande importância para que novos princípios ativos sejam utilizados, minimizando casos resistentes no plantel e facilitando o tratamento de enfermidades que acometam os animais destinados à produção leiteira.
- A utilização do extrato hidroalcoólico da folha de *Psidium guajava* L. poderia ser uma alternativa à crescente resistência dos micro-organismos aos antimicrobianos comercializados e empregados na prática veterinária. Outros estudos, associados àqueles *in vivo*, poderiam agregar informações potencialmente favoráveis ao uso deste extrato no tratamento da mastite em gado bovino leiteiro.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. C.; MENDES, C. P. A.; SILVA, D. B. Fatores determinantes da ocorrência de mastite bovina, detectada em rebanhos através da análise de leite em latões. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 134, p. 81-87, ago. 2005.

ANDRADE, M. A et al. Sensibilidade “in vitro” de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. **Revista Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 1, n. 1, p. 53-57, jan./jun. 2000.

_____. Mastite bovina subclínica: prevalência, etiologia e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas. **Revista A Hora Veterinária**, Goiânia, v. 20, n. 119, p. 10-16, jul./ago. 2001.

ARAÚJO, W. P. Fagotipagem de cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos isoladas de leite. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 161-165, nov. 1998.

ARCHER, G et al. Dissemination among *Staphylococci* of DNA sequences associated with methicillin resistance. **Antimicrob Agents Chemother**, Virgínia, v. 38, n. 3, p. 447-454, mar. 1994.

ARCURI, E. F et al. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Juiz de Fora, v. 58, n. 3, p. 440-446, set. 2006.

BARBALHO, T. C. F et al. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. **Rev. Bras. Saúde Prod.**, Recife, v. 2, n. 2, p. 31-36, fev. 2001.

BARBERIO, A. S et al. “In vitro” sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* e coliformes isolados de mastite bovina na região de Veneto, Itália, no período de 1996-1999. **Revista Nappama**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 10, mar. 2002.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Amer. J. C/in. Pathol.**, Hagerstown, v. 45, p. 493-496, abr. 1966.

BEAN, N. H; GRIFFIN, P. M. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles, and trends. **Journal of Food Protection.**, Beltsville, v. 53, n. 9, p. 804-817, set. 1990.

BERGDOLL, M. S. ***Staphylococcus aureus***. Foodborne bacterial pathogens. Ed. Doyle, M.P. Nova Iorque: Marcell Dekker, 1989. p. 463-523.

BETONI, J. E. C et al. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Mem Inst Oswaldo Cruz.**, Botucatu, v. 101, n. 4, p. 387-90, jun. 2006.

BOTTEON, R. C. C. M et al. Estabilidade à prova do álcool e importância da mastite sobre a incidência de leite instável não ácido no Estado do Rio de Janeiro. **Revista A Hora Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 25, n.149, p. 12-16, maio./jun. 2006.

BRABES, K. C. S et al. Participação de espécies coagulase positivas e negativas produtoras de enterotoxinas do gênero *Staphylococcus* na etiologia de casos de mastite bovina em propriedades de produção leiteira dos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Napgama**, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 4-11, mar. 1999.

BRITO, J. R. F.; BRESSAN, M. C. **Controle integrado da mastite bovina**. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 1996. p. 97-111.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; VERNEQUE, R. S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Revista Ciência Rural**, Juiz de Fora, v. 30, n. 5, p. 847-850, maio. 2000.

BRITO, M. A. V. P et al. Esquema simplificado para identificação de estafilococos coagulase-positivos isolados de mastite bovina. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 79-82, jan. 2002.

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. Construindo uma nova extensão rural no Rio Grande do Sul. **Revista Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v. 3, n. 4, p. 10-15, abr. 2002.

CARVALHO, A. A. T et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre bactérias Gram-Negativas. **Acta Farm. Bonaerense**, João Pessoa, v. 21, n. 4, p. 255-258, abr. 2002.

CHAH, K. F et al. Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. **J Ethnopharmacol.**, Nigeria, v. 104, n.1, p. 164–167, mar. 2006.

CHAFFER, A. M. I. Coagulase-negative *Staphylococcus intermedius* isolated from milk from dairy cows in Israel. **Veterinary Record.**, Israel, v. 143, n. 21, p. 592-593, out./nov. 1998.

COSTA, B. O et al. Estudo epidemiológico da mastite clínica bovina. **Revista Bras. Med. Veterinária**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 21-26, abr. 1995.

COSTA, E. O et al. Bovine mastitis due to algae of the genus *Prototheca*. **Mycopathologia.**, São Paulo, v. 133, n. 2, p. 85-88, fev. 1996.

_____. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Rev. Educ. Cont. CRMV-SP.**, São Paulo, v.1, n.1, p. 3-9, jan. 1998.

_____. Mastite subclínica: prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. **Revista Napgama**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 16-20, fev. 1999.

_____. Influência do tratamento intramamário de casos de mastite de bovinos em lactação em relação à presença de resíduos de antibióticos no leite de quartos sadios. **Revista Napgama**, São Paulo, v. 3, n. 4, p. 14-17, abr. 2000.

COSTA, O. C et al. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite no estado de São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.**, São Paulo, v. 5., n.2, p. 117-120, fev. 1985.

DOMINGUES, P. F et al. Estudo da eficácia *in vitro* dos antibióticos e quimioterápicos usados no tratamento da mastite bovina por *Staphylococcus* sp. **Revista A Hora Veterinária**, Goiânia, v.18, n. 82, p. 27-29, ago. 1994.

FAGLIARI, J. J et al. Sensibilidade a drogas antimicrobianas de bactérias isoladas de vacas com mastite clínica e subclínica. **Revista Ciência Veterinária**, v. 4, n. 2, p. 11-13, fev. 1990.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *S. aureus* e suas implicações em saúde pública. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1315-1320, jul./ago. 2004.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2010. v.1,1102 p.

FENNER, R et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Porto Alegre, v. 42, n. 3, p. 369-394, jul./set. 2006.

FERNANDES, J. C. T. Agentes etiológicos de mastite bovina no RS no período de 1972 – 1989. **Arq. Fac. Med. Vet.**, Porto Alegre, UFRGS, v. 20, n. 1, p.150-163, jan. 1992.

FERREIRA, J. L et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. **Ciênc. Anim. Bras.**, Teresina, v. 8, n. 2, p. 261-266, abr./jun. 2007.

FERREIRA, L. M. **Variabilidade fenotípica e genotípica das estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas dos casos de mastite subclínica bovina.** 2004. Dissertação. (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2004.

FONSECA, J. F.; BOTELHO, A. C. F. Atividade antifúngica do extrato de folhas de *Psidium guajava* sobre leveduras do gênero *Candida*. **Rev. Fac. Odontol.**, Porto Alegre, v. 51, n. 1, p. 24-26, jan./abr. 2010.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite.** São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

FREITAS, M. F. L et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, Pernambuco, v. 72, n. 2, p. 171-177, fev. 2005.

GANDRA, T. K. V et al. Perfil de resistência/sensibilidade a antibióticos em cepas de Estafilococos coagulase positiva isoladas em embutidos e de queijos. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. Pelotas, RS. **Anais....**Pelotas, 2009.

GARCIA, C. S. **Ação antibacteriana *in vitro* de extratos hidroetanólicos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA.** 2010. Dissertação. (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 2010.

GNAN, S. O.; DEMELLO, M. T. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous goiba extracts. **J. Ethnopharmacol.**, Tripoli, v. 68, n. 3, p. 103-108, dez. 1999.

GONCALVES, F. A et al. Antibacterial activity of guava, *Psidium guajava* Linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from Seabob Shrimp. **Rev Inst Med Trop.**, Ceará, v. 50, n. 1, p. 11-15, jan. 2008.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v. 72, n. 3, p. 353-358, jul./set. 2005.

GUTIERREZ, R. M.; MITCHEL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **J Ethnopharmacol.**, México, v. 117, n. 1, p. 1-27, abr. 2008.

HACHEM, N. I. **Mastite bovina: Descrição dos tipos mais frequentes e métodos de prevenção e tratamento visando à melhoria da qualidade do leite e saúde dos rebanhos.** 2005. Dissertação (Pós-Graduação *Lato Sensu* em Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2005.

HIRSH, E. C; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária.** Rio de Janeiro: Ed. Guanabara-Koogan, 2003. 446 p.

HOLETZ, F. B et al. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for treatment of infectious diseases. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, Maringá, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, out. 2002.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Pecuária Municipal.** Rio de Janeiro, 2012.

LANGE, C et al. Epidemiological characterization of *S. aureus* isolated from bovine mastitis in Porto Alegre, Brasil. **Revista de Microbiologia**, Porto Alegre, v. 28, n. 3, p. 215-219, jul./set. 1997.

LANGONI, H et al. Aspectos etiológicos da flora bacteriana aeróbica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Botucatu, v. 20, n. 5, p. 204-209, mai. 1998.

_____. et al. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, Botucatu, v. 43, n. 6, p. 507-515, jun. 1991.

LONGO, F et al. Quelques données épidémiologiques sur les mammites subcliniques de la vache laitière. **Revue Méd. Vet.**, França, v. 145, n. 1, p. 43-47, jan. 1994.

MACHADO, T. R. O. **Susceptibilidade a antimicrobianos por cepas de *Staphylococcus coagulase-negativa* isoladas de leite mastítico bovino proveniente de propriedades leiteiras de 9 estados brasileiros.** 2006. Dissertação. (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, São Paulo, 2006.

MACHADO, T. R. O.; CORREA, M. G.; MARIN, J. M. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from mastitic cattle in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Jaboticabal, v. 60, n. 1, p. 278-282, fev. 2008.

MAHFUZUL HOQUE, M. D et al. Antibacterial activity of guava (*Psidium guajava* L.) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) extracts against foodborne pathogens and spoilage bacteria. **Foodborne Pathogens and Disease**, Bangladesh, v. 4, n. 4, p. 481-488, dez. 2007.

MAIA, R. R et al. Estudo do efeito antimicrobiano do extrato da goiabeira (*Psidium guajava* L.) sobre *Staphylococcus aureus* multirresistentes. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**, João Pessoa, v. 5, n. 1, p. 36-40, jan. 2009.

MANSUR, P. U et al. Avaliação do período de persistência do antibiótico cloxacilina no leite de vacas com mastite subclínica. **Revista de Higiene e Alimentação**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 106, ago. 2003.

MARTINEAU, F et al. Correlation between the resistance genotype determined by multiplex PCR assays and the antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Canadá, v. 44, n. 2, p. 231-238, fev. 2000.

MENEZES, M. C.; SOUZA, M. M. S.; BOTELHO, R. P. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de extratos de plantas brasileiras sobre bactérias isoladas da cavidade de cães. **Rev. Univ. Rural**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 141-144, jul./dez. 2004.

MIGUEL, P. R. R. **Incidência de contaminação no processo de obtenção do leite e suscetibilidade a agentes antimicrobianos**. 2010. Dissertação (Mestrado - Pós Graduação em Zootecnia) - Universidade do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, Paraná, 2010.

MORONI, P et al. Short communication: antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. **J. Dairy Sci.**, Itália, v. 89 n. 8, p. 2973–2976, ago. 2006.

MOTA, R. A et al. Etiologia da mastite subclínica em bovinos da bacia leiteira do estado de Pernambuco. **Revista Nappama**, Pernambuco, v. 7, n. 2, p. 10-13, fev. 2004.

MUSUMECI, R et al. Extracts: antimicrobial properties and interaction with ciprofloxacin. **Journal Antimicrobial Agents**, Itália, v. 22, n. 1, p. 48-53, jul. 2003.

NADER, T. T. **Potencial de atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais do cerrado frente estirpes de *Staphylococcus aureus***. 2010. Dissertação. (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, SP, 2010.

NADER FILHO, A et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto. **Pesq. Vet.Bras.**, Ribeirão Preto, v. 5, n. 2, p. 53-56, fev. 1985.

_____. et al. Sensibilidade dos *Staphylococcus aureus*, isolados em casos de mastite bovina, à ação de antibióticos e quimioterápicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 4, p. 581-588, abr. 1986.

_____. et al. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE LEITE, 9. 2006, Porto Alegre, **Anais...**Porto Alegre, 2006.

_____. et al. Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tático por cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas na mastite bovina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Ribeirão Preto, v. 5, n. 4, p. 1316-1318, abr. 2007.

NASCIMENTO, G. G.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Rev. Nutr.**, Piracicaba, v. 14, n.2, p. 119-124, maio./ago. 2001.

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

NICKERSON, S.C. Preventing new *Staphylococcus aureus* mastitis. **Vet. Med.**, v. 88, n. 2, p. 368-374, fev. 1993.

OLIVEIRA, G et al. Avaliação da tolerância à vancomicina em 395 cepas hospitalares de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina. **Jornal Brasileiro de Patologia**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 4, p. 239-246, abr. 2001.

OLIVEIRA, A. A.; MELO, C. B.; AZEVEDO, H. C. Diagnóstico e determinação microbiológica da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Ciênc. Anim. Bras.**, Sergipe, v. 10, n. 1, p. 226-230, jan. 2009.

OLIVEIRA, S. J et al. **Microbiologia Veterinária**. 2. ed. Canoas: Ulbra, 2000. 237 p.

OLIVEIRA, A. A. F et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana “in vitro” frente a amostras de *Staphylococcus* spp isoladas de mastite subclínica bovina no agreste meridional de Pernambuco. **Revista A Hora Veterinária.**, Pernambuco, v. 22, n. 127, p. 8-10, ago. 2002.

OMOE, K et al. Detection of *seg*, *she*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *Staphylococcus aureus* isolates harborin *seg*, *seh*, or *sei* genes. **Journal of Clinical Microbiology**, Japão, v. 40, n. 3, p. 857-862, mar. 2002.

PAIANO, M.; BEDENDO, J. Resistência antimicrobiana de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de recém-nascidos saudáveis. **Rev. Eletr. Enf.**, Maringá, v. 11, n. 4, p. 841-846, abr. 2009.

PENNA, T. C. V et al. Parâmetros de resistência térmica de cepas de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicos no leite. **Revista de Farmácia Bioquímica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 113-117, jan. 1998.

PEREIRA, A. V et al. Estudo comparativo dos extratos de *Momordica charantia* Linn. e *Psidium guajava* Linn. sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem bovinas isoladas no estado da Paraíba. **Revista Agropecuária Técnica**, João Pessoa, v. 31, n. 2, p. 20-28, fev. 2010.

PEREIRA, C. A et al. Ação antimicrobiana in vitro de extratos glicólicos de *Psidium guajava* L., *Syzygium cumini* L. e *Pimpinella anisum* L. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E ENCONTRO LATINOAMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 2008, Universidade do Vale do Paraíba. **Anais...**Vale do Paraíba, 2008.

PEREIRA, U. P et al. Mastite subclínica em bovinos leiteiros do sul de Minas Gerais. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, 4. 2007, Botucatu, **Anais...**Botucatu, 2007. p.92.

PEREIRA, R. O. **Epidemiologia molecular da mastite causada por *Staphylococcus aureus***. 2001. Dissertação. (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, São Paulo, 2001.

PEREIRA, M. S. V. **Atividade in vitro de Fluorquinolonas e Ação sobre Plasmídeos em Amostras de *Staphylococcus aureus* Humanas e Bovinas**. 2000. Tese. (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2000.

PHILPOT, W. N. Economics of mastitis control. Symposium on mastitis. **Vet. Clin. N. Amer.: BOVINE MASTITIS.**, Arlington VA: National Large Animal Practice, v. 6, n. 2, p. 233-245, 1984.

PICHARA, N. L et al. Incidência e significado clínico-epidemiológico de infecções dermatológicas piogênicas de origem comunitária causadas por estafilococos multirresistentes. In: SEMIC – SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIFENAS, 9. 2005, Alfenas, Minas Gerais, **Anais...**Alfenas: Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, 2005.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 325 p.

POL, M.; RUEGG, P. L. Relationship between antimicrobial drug usage and antimicrobial susceptibility of Gram-positive mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science.**, Madison, v. 90, n. 3, p. 262–273, mar. 2007.

QUIXABEIRA, E. S. **Mastite**. 2006. 94 f. Trabalho de conclusão de curso (Medicina Veterinária). Área de Clínica e Cirurgia de Animais de Grande Porte, UPIS Faculdades Integradas, Brasília – DF, 2006.

RAIMUNDO, O et al. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* of bovine origin by polymorphisms of the coagulase gene. **Veterinary microbiology**, Austrália, v. 66, n. 4, p. 275-284, abr. 1999.

RANGEL, P. M. **Perfil genético e microbiológico de cepas de *Escherichia coli* isoladas de leite mastítico bovino**. 2007. 43 f. Dissertação. (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, SP, 2007.

RIBEIRO, C. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

RIBEIRO, M et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na Região Sul. **R. bras. Agrociência.**, Porto Alegre, v. 9, n. 3, p.287-290, jul./set. 2003.

SÁ, M. E. P et al. Etiologia da mastite subclínica em bovinos leiteiros do agreste meridional do Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Pernambuco, v. 7, n. 2, p. 100-103, fev. 2000.

_____. et al. Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, Botucatu, v. 41, n. 5, p. 321-326, maio. 2004.

SABOUR, P. M et al. Molecular typing and distribution of *S. aureus* isolates in eastern canadian dairy herds. **J. Clin. Microbiol.**, Canadá, v. 42, n. 8, p. 3449–3455, ago. 2004.

SAEKI, E. K et al. Mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. **Revista Acta Veterinária Brasília**, Paraná, v. 5, n. 3, p. 284-290, mar. 2011.

SALIX, C. E. E.; RODRIGUEZ, F. J. M. Tintura de folhas de *Psidium Guajava* L. em pacientes com diarreia aguda simples. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, México, v. 9, n. 3, p 12-18, set. 2004.

SANCHES, N. R et al. Na evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* L.. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, Maringá, v. 48, n. 3, p. 429-436, maio. 2005.

SANTOS, M. V. Impacto econômico da mastite bovina. **Revista A Hora Veterinária**, Pirassununga, v. 22 n. 131, p.31- 34, jan./fev. 2003.

SCHALM, O. W; CARROLL, E. J; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. Cap. 11. p. 249-282.

SCHUCH, L. F. D et al. Cinética da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a micro-organismos relacionados à mastite bovina. **Revista Ciência Animal Brasileira**, Pelotas, v. 9, n. 1, p. 161-169, jan./mar. 2008.

TAVARES, W. Bactérias Gram positivas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Teresópolis, v. 33, n. 3, p. 281-301, mar. 2000.

TERASAWA, L. B. **Caracterização da resistência à oxacilina em estafilococos coagulase negativa isolados no hospital de clínicas de Curitiba – Paraná**. 2006. 109 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

TORTORA, J. G et al. **Microbiologia: an introduction**. São Paulo: Ed. Artmed, 2000. 135 p.

TURUTOGLU, H.; ERCELIK, S.; OZTURK, D. Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**., Turquia, v. 50, n. 2, p. 41-45, fev. 2006.

VARGAS, A. C et al. Agentes infecciosos mais prevalentes em mastite bovina na região de Santa Maria, RS – Perfil de sensibilidade “in vitro”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1996, Goiânia, **Anais...** Goiânia: Sociedade Goiana de Medicina Veterinária, 1996.

VIANNI, M. C. E et al. Frequência de isolamento de *Staphylococcus coagulase positiva* e coagulase negativa na mastite subclínica em bovinos e sua influência na produção láctea. **Arq. Univ. Fed. Rur. RJ.**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 2, p. 187-192, fev. 1992.

WANZALA, W et al. Ethnoveterinary medicine: a critical review of its evolution, perception, understanding and the way forward. **Livestock Research for Rural Development.**, Livestock, v. 17, n. 5, p. 20-26, nov. 2005.

ZAFALON, L. F et al. Estafilococos resistentes à oxacilina isolados em casos de mastite subclínica em ovinos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 79, n. 1, p. 1-7, jan./mar. 2012.

_____. et al. Investigação de perfis de resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados na ordenha de vacas em lactação. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 118-125, fev. 2008.

_____. et al. Mastite subclínica por *Staphylococcus aureus*: custo-benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, São Paulo, v. 59, p. 577-585, jan. 2007.

_____. 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. **B. indústr.anim.**, Nova Odessa, v. 62, n. 1, p. 63-69, jan. 2005.

ZANETTE, E.; SCAPIN, D.; ROSSI, E. M. Suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de bovinos com suspeita de mastite. **Unoesc & Ciência – ACBS**, Santa Catarina, v. 1, n. 1, p. 65-70, jan. 2010.