

## Controle biológico de *Staphylococcus aureus* causadores de mastite bovina

Lígia Rodrigues de Oliveira<sup>1</sup>, Emanuely Gomes Alves Mariano<sup>2</sup>,  
Eduardo Robson Duarte<sup>3</sup>, Neide Judith Faria de Oliveira<sup>4</sup>

### Resumo

Terapias naturais são descritas na literatura, como potenciais na terapêutica de infecções bacterianas aplicadas a mastite bovina. *Staphylococcus aureus* é um dos patógenos mais importantes para ocorrência dessa doença. Evidencia-se o uso indiscriminado de antibióticos para o controle da enfermidade associada a esse agente, além de custos elevados para combatê-lo. A utilização do controle biológico de microrganismos pode ser alternativa, pois pode representar redução ou eliminação do uso de fármacos. Objetivou-se estudar sobre o controle biológico de *S. aureus* provenientes da mastite bovina, com ênfase na utilização de bacteriocinas e bacteriófagos. As bacteriocinas de lactobacilos apresentam importância possível aplicação na inibição de bactérias patogênicas em seres humanos e animais. Alternativa no controle biológico de cepas resistentes por não compartilham mecanismos de ação com os antimicrobianos comercialmente disponíveis. Várias características tornam o estudo de bacteriófagos e bacteriocinas importantes, por que, permitem ser aplicados como agentes terapêuticos e de controle biológico. Embora promissor o controle biológico implica em maiores estudos, uma vez que, não se conhece bem sobre as relações evolutivas e papel ecológico no controle de *S. aureus*.

**Palavras-chave:** Bacteriocinas. Bacteriófagos, Patógenos. Terapêutica.

---

<sup>1</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros-MG, Brasil. Bolsista da CAPES. e-mail: lhigiarodrigues@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Graduanda de Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros-MG, Brasil.

<sup>3</sup>Professor Adjunto - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros - MG, Brasil.

<sup>4</sup>Professor Associado - Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros - MG, Brasil.

## Introdução

A mastite é considerada uma das enfermidades mais preocupantes nos sistemas de exploração leiteira, por causa dos prejuízos econômicos vinculados à sua ocorrência (CONTRERAS; RODRÍGUEZ, 2011). As perdas na produção estão relacionadas às alterações físico-químicas do leite e a redução da vida produtiva dos animais. Acrescenta-se ainda aumento nos custos com fármacos e serviços veterinários, além da desvalorização no valor final do produto (FREITAS *et al.*, 2005; SANTOS; FONSECA, 2007).

Embora outras espécies de microrganismos colaborem para causar a mastite bovina, *Staphylococcus aureus* é um dos patógenos de maior importância (FONTANA *et al.*, 2010), em virtude da patogenicidade da forma da doença, classificada como contagiosa (MARTINS *et al.*, 2010; MICHEL *et al.*, 2011).

A dificuldade adicional no controle da infecção por esse agente é representada por frequente resistência aos antimicrobianos e dos custos para combatê-lo (AARESTRUP *et al.*, 2001; PINTO, 2000; POL *et al.*, 2007). Nas duas últimas décadas, estudos foram intensificados, principalmente em função do crescente aumento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos (DE RESINSKI, 2009, WITTEBOLE *et al.*, 2014).

Pesquisas sobre a utilização de bacteriocinas e fagos são mostradas como alternativa para a redução ou eliminação do uso de fármacos. A diversidade de agentes, assim como, as relações antagônicas desses, podem ser úteis para o controle biológico aplicado (HALFELD-VIEIRA *et al.*, 2006; RYAN *et al.*, 2008).

Trabalhos são necessários para elucidar as interações antagonistas patógeno- hospedeiros. Nesse contexto, objetivou-se estudar o controle biológico de *Staphylococcus aureus* provenientes de mastite bovina, com ênfase na utilização de bacteriocinas e bacteriófagos.

## Desenvolvimento do texto

A Mastite é uma inflamação da glândula mamária diferenciada pela forma de apresentação da enfermidade, classificada como clínica e subclínica (SANTOS *et al.*, 2011). Alterações na composição do leite secretado, além de sinais sistêmicos de infecção e clínicos locais, podem ser visualizadas na primeira. Na subclínica, não são observadas alterações macroscópicas, mas ocorrem mudanças na qualidade e volume de leite produzido (BARLOW, 2011; KOSKINEN *et al.*, 2010).

Estudos de mastite mostram que microrganismos de origem con-

tagiosa são mais prevalentes, dentre esses, o gênero *Staphylococcus* sp. destaca-se por possuir maior frequência em casos clínicos e subclínicos da doença (ZSCHÖCK *et al.*, 2000). Nessa, *S. aureus* é um importante agente causador da enfermidade em rebanhos leiteiros, assumindo grande capacidade de resistência a antibióticos, com diminuição da taxa de cura (MELO *et al.*, 2012).

Pertencente à família Microcaccaceae, *S. aureus* é bactéria Gram-positiva capaz de causar infecções de longa duração. Possui características de virulência favoráveis a persistência no tecido mamário, com a produção de toxinas extracelulares e enzimas (LEE, 2003; SANTOS *et al.*, 2003). Pode torná-las crônicas, com baixa taxa de cura e diminuição na produção de leite (BENEDETTE *et al.*, 2008).

No tratamento dessa precisam ser considerados os fatores que interferem na cura bacteriológica com o uso de antibióticos (SANTOS *et al.*, 2011). Nesse, inclui-se as variações das respostas individuais do animal, estágio na qual é observada a infecção e a relação dos agentes infecciosos diante às cepas envolvidas (FONSECA; SANTOS, 2011). Contudo, em diversos estudos sobre a susceptibilidade aos antimicrobianos são descritos aumento crescente no padrão de resistência dos microrganismos (PRIBUL *et al.*, 2011).

O conhecimento da prevalência e distribuição dos patógenos, bem como, os fatores de risco associados à doença são pontos críticos na prevenção da mastite (PICCININI *et al.*, 2012). Muitas vezes, a utilização inadequada e indiscriminada de antibióticos tende a induzir o aparecimento de cepas multi-resistentes por comprometerem a eficiência da terapêutica, especialmente, quando causada por *S. aureus* (FREITAS *et al.*, 2005).

Explica-se que *S. aureus* apresenta adesão às células endoteliais por meio de receptores de adenosinas e as fagocitam. No ambiente intracelular as protegem dos mecanismos de defesa do hospedeiro e efeito dos antibióticos (HAMILL *et al.*, 1986). De modo que pode contribuir para o aumento da sobrevivência bacteriana e desenvolvimento de infecção persistente ou recorrente (LOWY, 1998).

Técnicas utilizam marcadores genéticos para detectar isolados com resistência a agentes microbianos, sobretudo em infecções de caráter crônico, vindo a ser auxiliares no combate às doenças bacterianas, dentre as quais a mastite bovina (FREITAS *et al.*, 2005). Atualmente a técnica de biologia molecular como *Polymerase Chain Reaction* (PCR) é aplicada para caracterizar os principais patógenos de rebanhos bovinos, embora, pouco acessível aos produtores. Entretanto, apresenta potencial para melhorar a eficácia na aplicação de antibióticos e uso de produtos naturais com propriedades antibacterianas (CUSHINE; LAMB, 2005).

Estudos de terapias naturais para o controle biológico de diversos patógenos são mostrados na literatura como potenciais na terapêutica de infecções bacterianas (CRISPIE *et al.*, 2008; KLOSTERMANN *et al.*, 2009; KUMARI *et al.*, 2010).

Para a redução ou eliminação do uso de fármacos, a diversidade de microrganismos e relações antagônicas dentre esses possibilitam ser direcionados para o controle biológico aplicado (HALFELD-VIEIRA *et al.*, 2006; RYAN *et al.*, 2008).

Produtos antagonistas microbianos são considerados importantes na aplicação dessa terapêutica. Estes constituem grande variedade de inibidores, dentre os quais, bacteriófagos e bacteriocinas.

As bacteriocinas são proteínas de baixo peso molecular, ativas biologicamente e produzidas por bactérias que inibem ou destroem espécies relacionadas, apresentam efeito bacteriostático e/ou efeito bactericida, respectivamente.

Conforme estrutura primária, peso molecular, estabilidade ao calor e organização molecular, podem ser subdivididas em quatro grupos:

I - lantibióticas, caracterizadas pela presença de lantionina e b-metil lantionina;

II - pequenas proteínas, com peso molecular inferior a 10 kDa e relativamente estáveis ao calor, são peptídeos de membrana ativa que não contêm lantionina.

III - grandes, com peso molecular superior a 30 kDa e proteínas termo-lábeis;

IV - bacteriocinas complexas e providas de porções lipídicas ou de carboidratos, além da parte protéica.

Na maioria das vezes, as bacteriocinas são encontradas em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e normalmente codificadas por plasmídeos. Apresentam variadas formas, diversos tamanhos e mecanismos de ação (RILEY ;WERTZ, 2002).

Diferentes substâncias antimicrobianas podem ser produzidas por bactérias Gram-positivas, incluindo bactérias ácido-láticas (BAL). Essas estão amplamente distribuídas na natureza, particularmente no leite, são habitantes dos tratos digestivo, respiratório superior e urogenital inferior dos animais (HOVE *et al.*, 1999). O grupo inclui bastonetes e cocos não esporulados, aeróbios, microaerófilos ou anaeróbios facultativos, com maior parte inativada a temperaturas superiores a 70°C (SALMINEN; VON WRIGHT, 1993).

A ocorrência na literatura de pesquisas que explicam o mecanismo de ação das bacteriocinas, embora pouco comuns, apontam para um futuro promissor, principalmente em possíveis aplicações na medicina veterinária (BASTOS *et al.*, 2009 ; COELHO *et al.*, 2007).

Nesses estudos, as bacteriocinas de lactobacilos apresentam relevância por implicar em potencial aplicação para a inibição de bactérias patogênicas em seres humanos e animais (REID, 2002). Relata-se que as espécies colaboram na manutenção da qualidade do produto lácteo processado, suprimindo o crescimento tanto de microrganismos deteriorantes, quanto de bactérias potencialmente patogênicas (PRASAD; GHODEKER, 1991). Em tais condições, alguns ácidos, principalmente o lático e acético, têm sido utilizados como conservantes de alimentos, juntamente com a queda do pH, inibindo o crescimento de microrganismos contaminantes e patogênicos (SILVA, 1999).

Outras pesquisas são também realizadas para investigar o perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Staphylococcus aureus*, a partir da mastite bovina. Entre as várias bactérias do ácido lático, bacteriocinas são isoladas especialmente de cepas de *Lactobacillus* spp. (CASTILLO *et al.*, 2001).

Em trabalho realizado por Pribul *et al.* (2011) foram isoladas e caracterizadas cepas de *Lactobacillus casei* subspécie *ramnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum* e *L. rhamnosus* como produtoras de bacteriocinas, além de espectro de inibição, efeito bacteriostático ou bactericida.

Na análise do perfil de suscetibilidade às bacteriocinas, os mesmos autores avaliaram a susceptibilidade de 30 isolados de *Staphylococcus aureus* frente às cepas de *Lactobacillus* spp. Foi demonstrada sensibilidade a pelo menos uma das cepas envolvidas. Considerou-se assim, representar alternativa de controle biológico, frente à bactérias resistentes, por não compartilhar mecanismos de ação com os antimicrobianos comercialmente disponíveis.

Em dois ensaios de campo inicial desenvolvidos por Crispie *et al.* (2008) constataram-se efeito da administração da cultura viva de *Lactococcus lactis* sobre a resposta imunitária local. Demonstraram que a infusão da cultura estimula o recrutamento substancial de células polimorfonucleares (PMN) e linfócitos para o úbere.

Experiências realizadas a partir da imersão da teta foram conduzidas usando fermentado que continham bactérias vivas de *Lactococcus lactis* DPC 3251. Essas produziram lacticin 3147, classificada como lantibiótico, que demonstrou ser previamente eficaz ao eliminar bactérias gram-positivas

(KLOSTERMANN *et al.*, 2009).

Estudos anteriores indicaram, além disso, que a incorporação de lacticin 3147 na vedação das tetas melhorou a proteção dos animais contra *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus dysgalactiae* (CRISPIE *et al.*, 2005; TWOMEY *et al.*, 2000). Nos ensaios, foi verificado que as preparações da cultura viva produzidas foram tão eficazes quanto os antibióticos usados para o tratamento de infecções intramamárias. Estas poderiam então ser capazes de reduzir os patógenos causadores de mastite nas tetas de vacas em lactação.

Sierna *et al.* (2011) ao avaliar a atividade antimicrobiana de quatro cepas identificadas bioquimicamente como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum* e *Weissella confusa* isoladas de bovinos em estado de acidose, verificou atividade antimicrobiana superior para *Weissella confusa*. Sugerindo ser usada contra os principais patógenos causadores da mastite bovina

Do mesmo modo, Aerocinas têm sido avaliadas contra agentes da mastite. Esta bacteriocina é produzida pela estirpe *S. aureus* A53, isolada de leite comercial ecodificada pelo plasmídeo PRJ9 de 10,4 kb (SASS; BIERBAUM, 2007). Possui amplo espectro de ação contra bactérias dos gêneros *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, estirpes de *L. monocytogenes* e outras estirpes de *S. aureus*, além de resistência à ação de proteases, como a tripsina. Quando testada revelou potencial de aplicação no tratamento, visto que, inibiu 82% das estirpes de *Staphylococcus aureus* e 68% *Streptococcus* (COELHO *et al.*, 2007).

Estirpes de *S. aureus* MB50 avaliadas, exibiram maior porcentagem de inibição (91%) contra estirpes de *S. agalactiae* e de *S. aureus* de mastite bovina. Pôde ser observado que bacteriocinas sozinhas não são capazes de inibir essas estirpes. Entretanto, o sinergismo entre as mesmas foi confirmado pela verificação da ação inibitória das bacteriocinas combinadas (MARTINS *et al.*, 2010).

Na medicina veterinária, igualmente, a Nisina vem sendo pesquisada para o controle da mastite causada por *S. aureus* (BARKEMA *et al.*, 2006). Essa é comercializada como agente ativo que promove a limpeza das tetas, prevenindo a doença (COTTER *et al.*, 2005). No entanto, estudos revelam que para essa aplicação o Lacticin apresenta vantagens sobre a Nisina, uma vez que é mais ativa em pH fisiológico. De forma que provaram ser incapazes de inibir o crescimento de *Streptococcus dysgalactiae* a pH neutro quando incorporado a formulação de tampão da teta, enquanto Lacticin foi capaz de mostrar uma zona clara de inibição (SOBRINO-LOPEZ; MARTIN-BELLOSO, 2006).

Os Bacteriófagos ou fagos são vírus que infectam hospedeiros e requerem uma bactéria com um receptor específico para se multiplicar. Pertencentes aos domínios Archea e bactéria, possuem natureza similar a de outros vírus (ACKERMANN, 2003; GREGORACCI *et al.*, 2006).

A principal vantagem do uso dos bacteriófagos como ferramenta complementar no controle de bactérias patogênicas reside na propriedade dos mesmos se replicarem somente na presença da célula hospedeira específica. Assim, bacteriófagos atacam apenas um tipo específico de bactéria interagindo com um receptor na superfície celular para iniciar a replicação (VONASEK *et al.*, 2014). Referido processo termina com a lise celular e liberação de novos fagos, que mantém o ciclo de lise enquanto existir células bacterianas disponíveis. Esses não afetam o hospedeiro infectado, porque sua atividade cessa quando as células bacterianas morrem (HANLON, 2007).

A especificidade viral é, pois, característica que permite atuarem sobre os microrganismos. Além disso, fagos não são susceptíveis ao aparecimento de resistência bacteriana, porque têm a capacidade de evoluir com o hospedeiro (WITTEBOLE *et al.*, 2014).

Bacteriófagos são classificados como líticos e lisogênicos, conforme ciclo de replicação. O primeiro é de maior interesse para o controle biológico, pois lisam a célula hospedeira e, a progênie resultante continua esse ciclo lítico (ACKERMANN; PRANGISHVILI, 2012). No ciclo lisogênico, ácidos nucleicos do fago se recombina com o da bactéria formando um profago, que se reproduz com a célula hospedeira e confere imunidade contra a infecção pelo mesmo tipo de fago (CHOI *et al.*, 2011).

Pesquisa por fagos como agentes terapêuticos ou de controle biológico ainda é incipiente, uma vez que o principal foco dos estudos concentra-se na detecção de partículas virais como indicadores biológicos de contaminação ambiental (LIN; GANESH, 2013) e na liberação de vírus patogênicos no ambiente (LUCENA *et al.*, 2004, SHAPIRO; KUSHMARO, 2011).

Estudos descrevem o emprego de bacteriófagos para combater *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* resistentes a antibióticos. Embora para Deresinski (2009) e Wittebole *et al.* (2014) esse ainda seja assunto controverso.

Pereira (2010) para averiguar a prevalência da mastite bovina na região da Zona da mata mineira realizou isolamento e identificação de bactérias a partir de animais com mastite e prevalência de *S. aureus*. Nesse estudo foram verificados dez bacteriófagos capazes de infectar *S. aureus*, avaliados quanto ao potencial lítico, especificidade e termoestabilidade. Quando testados apresentaram resultados variáveis na eficiência da lise para as diferentes

cepas bacterianas. Mesmo aqueles que apresentaram resultados inferiores, mostraram-se capazes de lisar a grande maioria das cepas avaliadas.

Yacoby *et al.* (2006; 2007) estudaram uma nova aplicação de bacteriófagos filamentosos (M13) como plataforma para carreamento de drogas em bactéria alvo, afim de inibir parcialmente a multiplicação de bactérias como *S. aureus*. Nesse trabalho testou a capacidade da droga alvo (Clorafenicol) ao ser transportada por nanopartículas de fago, inibir o crescimento de bactérias patogênicas mais comuns, como o *S. aureus* resistente a metilina.

Os autores em 2006 concluíram que a conjugação de cloranfenicol e fago não foram eficazes, por causa da característica hidrofóbica. A droga provocou precipitação dos bacteriófagos e retardou o crescimento da bactéria. Em 2007, novo modelo de conjugação química foi proposto, adicionando Neomicina. Essa causou a solvatação de materiais hidrofóbicos obtendo dessa forma resultados mais satisfatórios ao inibir o crescimento bacteriano.

Sass e Bierbaum (2006) mostraram nova aplicação do uso de fagos como agentes de controle biológico por meio da utilização de endolisinas (endopeptidase e amidase) para destruição de biofilmes de *S. aureus*. Os pesquisadores clonaram o gene que codifica as endolisinas 11 e 12 (enzimas hidrolases da parede celular bacteriana). A endolisina 12 não apresentou nenhuma atividade hidrolítica em biofilmes, entretanto, a endolisina 11 demonstrou-se eficaz na redução do biofilme. Na qual caracteriza possível aplicação no combate a *S. aureus* e infecções mediadas por biofilmes.

### Considerações finais

O controle biológico, embora promissor, implica ainda em maiores estudos, por se desconhecer relações evolutivas e papel ecológico no controle de patógenos.

As bacteriocinas e bacteriófagos ainda representam um dos mecanismos menos explorados na terapia antimicrobiana. São necessárias mais pesquisas para direcionar aplicações no controle biológico de *Staphylococcus aureus* frente à mastite bovina.

A biodiversidade de fagos e bacteriocinas podem indicar serem possíveis auxiliares no controle microbiano ou como coadjuvantes na antibioterapia.

---



## Referências

- AARESTRUP, F. M.; SEYFARTH, A. M.; EMBORBG, H. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. **Antimicrobiology Agents Chemother**, v. 45, n. 7, p. 2054-2059, 2001.
- ACKERMANN, H. W. Bacteriophage observations and evolution. **Research in Microbiology**, v. 154, n. 4, p. 245-251, 2003.
- ACKERMANN, H. W.; PRANGISHVILI, D. Prokaryote viruses studied by electron microscopy. **Archives of Virology**, v. 157, p. 1843-1849, 2012.
- BARHEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H.; ZADOKS, R. N. Invited Review: The Role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 6, p. 1877-1895, 2008.
- BARLOW, J. Mastitis Therapy and Antimicrobial Susceptibility: a Multi species Review with a Focus on Antibiotic Treatment of Mastitis in Dairy Cattle. **Journal of Mammary Gland, Biology and Neoplasia**, v. 16, n. 4, p.383-407, 2011.
- BENEDETTE, M. F.; IL, V A, D.; ROCHA, F.P.C. Mastite bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 6, n. 11, p. 1-5, 2008.
- C.; SKRABER, S.; JOFRE, J. Reduction of bacterial indicators and bacteriophages infecting faecal bacteria in primary and secondary wastewater treatments. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, p. 1069-1076, 2004.
- CASTILLO, A.; LUCIA, L. M.; ROBERSON, D. B.; STEVENSON, T. H.; MERCADO, I.; ACUFF, G. R. Lactic acid sprays reduce bacterial pathogens on cold beef carcass surfaces and in subsequently produced ground beef. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 1, p. 58-62, 2001.
- CHOI, J.; KOTAY, S. M.; GOEL, R. Bacteriophage-based biocontrol of biological sludge bulking in wastewater. **Bioengineered Bugs**, v. 2, n. 4, p. 214-217, 2011.
- COELHO, S. M. O.; MENEZES, R. A.; SOARES, L.C. Mapeamento do perfil de resistência e detecção do gene *mec A* em *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus intermedius* oxacilina resistentes isolados de espécies humanas e animais. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 195-200, 2007.
- CONTRERAS, G. A.; RODRÍGUEZ, J. M. Mastitis: comparative etiology and epidemiology. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 16, p. 339-356, 2011.
- COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, P. R. Bacteriocins: developing immunity for food. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n.10, p. 777-788, 2005.
- CRISPIE, F.; ALONSO-GÓMEZ, M.; O'LOUGHLIN, C.; KLOSTERMANN, K.; FLYNN, L.; ARKINS, S.; MEANEY, W.; ROSS, R. P.; HILL, C. Intramammary infusion of a live culture for treatment of bovine mastitis: effect of live lactococci on the mammary immune response. **Journal of Dairy Research**, v. 75, n. 3, p. 374-378, 2008.
- CRISPIE, F.; TWOMEY, D. P.; FLYNN, J.; MEANEY, W. J.; HILL, C. ROSS, R. P. The lantibiotic lactacin 3147 produced in a milk-based medium improved the efficacy of a bismuth-based teat seal in cattle deliberately infected with *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Research**, v. 2, n. 3, p. 159-167, 2005.

CUSHINE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26, n. 5, p. 343-356, 2005.

DERESINSKI, S. Bacteriophage Therapy: Exploiting Smaller Fleas. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, p. 1096-1101, 2009.

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

FONTANA, V. L. D. S.; GIANNINI M. J. S. M.; LEITE, C. Q. F.; MIRANDA E. T.; ALMEIDA A. M. F., FONTANA C. A. P.; SOUZA C. M.; STELLA A. E. Etiologia da mastite bovina subclínica, sensibilidade dos agentes às drogas antimicrobianas e detecção do gene da 0-lactamase em *Staphylococcus aureus*. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v. 17; n. 4, p. 552-559, 2010.

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; STAMFORD T. L. M., REBELO A., SILVA D. R.; SILVEIRA FILHO V. M.; SANTOS F. G. B.; DE SENA M. J.; MOTA R. A. 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**, v. 72, n. 2, p. 171-177, 2005.

GREGORACCI, G. B.; SILVEIRA, W. D.; BROCCHI, M. The biology of bacteriophages. In: HALFELD- VIEIRA, B. A.; VIEIRA, J. R.; ROMEIRO, R. S.; SILVA, S. A.; BARACAT PEREIRA, M. C. Induction of systemic resistance in tomato by the autochthonous resident *Bacillus cereus*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 41, n. 8, p. 1247-1252, 2006.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; VIEIRA, J. R.; ROMEIRO, R. S.; SILVA, H. S. A.; BARACATPEREIRA, M. C. Induction of systemic resistance in tomato by the autochthonous phylloplane resident *Bacillus cereus*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 41, p. 1247-1252, 2006.

HAMILL, R.J.; VANN J. M.; PROCTOR, R. A. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by culture bovine aortic endothelial cells: models for postadherence events in endovascular infections. **Infection Immunology**, v. 54, n. 3, p. 833-836, 1986.

HANLON, G. W. Bacteriophage: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, n. 2, p. 118-128, 2007.

HOVE, H.; NORGAARD, H.; MORTENSEN, P. B. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 339-350, 1999.

KLOSTERMANN, K.; CRISPIE, F.; FLYNN, F.; ROSS, R. HILL, C.; MEANEY, W. Intramammary infusion of a live culture of *Lactococcus lactis* for treatment of bovine mastitis: comparison with antibiotic treatment in field trials. **Journal of Dairy Research**, v. 75, n. 3, p. 365-373, 2009.

KLOSTERMANN, K.; CRISPIE, F.; FLYNN, J.; MEANEY, W.J.; PAUL ROSS, R.; HILL, C. Efficacy of a teat dip containing the bacteriocin lacticin 3147 to eliminate Gram-positive pathogens associated with bovine mastitis. **Journal of Dairy Research**, v. 77, n. 2, p. 231-238. 2010.

KOSKINEN, M. T.; WELLENBERG, G. J.; SAMPIMON, C. O.; HOLOPAINEN, L.; ROTHKAMP, A.; SALMIVIKI, L.; VAN HAERINGEN, W. A.; LAM, T. J. G. M.; PYÖTÄLÄ, S. Fiel comparison of real-time polymerase chain reaction and bacterial culture for identification of bovine mastitis bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 12, p. 5707-5715, 2010.

KUMARI, S.; HARJAI, K.; CHHIBBER, S. Isolation and characterization of *Klesiella pneumoniae* Specific bacteriophages from sewage samples. **Folia Microbiology**, v. 55, n. 3, p. 221-227, 2010.

LIN, J.; GANESH, A. Water quality indicators: bacteria, coliphages, enteric viruses. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 23, p. 484-506, 2013.

LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* infections. **New England Journal Medicine**, v. 339, n. 8, p.520-532, 1998.

LUCENA, F.; DURAN, A. E.; MORON, A.; CALDERON, E.; CAMPOS, C.; GANTZER, MARTINS, R. P.; SILVA J. A. G., NAKAZATO L., DUTRA V.; ALMEIDA FILHO E.S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**. v. 11, n.1, p.181-187, 2010.

MELO, P. C. *et al.* Análise fenotípica e molecular da produção de biofilmes por estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos de mastite subclínica bovina. **Biosci. J.**,Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 94-99, 2012.

MICHEL, A.; SYRING, C.; STEINER, A.; GRABER, H. U. Intramammary infections with the contagious *Staphylococcus aureus* genotype B in Swiss dairy cows are associated with low prevalence of coagulase-negative staphylococci and *Streptococcus* spp. **The Veterinary Journal**, Londres , v. 188, p. 313-317, 2011.

PEREIRA, A. L. **Isolamento e caracterização de bacteriófagos líticos de bactérias patogênicas associadas com mastite bovina**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

PICCININI, R.; TASSI, R.; V, D.; PILLA, R.; FENNER, J.; CARTER, B.; ANJUM, M. Study of *Staphylococcus aureus* collected at slaughter from dairy cows with chronic mastitis. **Journal of Dairy Research**, v. 79, n 2. p. 1-7, 2012.

PINTO, M. S.; FARIA, J. E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T. A.; PEREIRA, C. S.; GIOSO, M. M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 38, n. 6, 2001.

POL, M.; RUEGG; P. L. Relationship between antimicrobial drug usage and antimicrobial susceptibility of Gram-positive mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 1, p. 262-273. 2007.

PRASAD, M. M.; GHODECKER D. R. Antimicrobial activity of lactobacilli isolated from fermented milk products. **Cultured Dairy Products Journal**, Washington, v. 26, n. 2, p. 22-28, 1991.

PRIBUL, B. R.; PEREIRA, L. A; SOARES, L. C.; COELHO, S. M. O.; BARBERIS, L. L.; PASCUAL, L.; SOUZA, M. M. S. Resistência bacteriana e ação das bacteriocinas de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63,n. 3, p. 744-748, 2011.

REID, G. Probiotic for urogenital health. **Nutrition in Clinical Care**, v. 5, n. 9, p.13-18, 2002.

RILEY, M. A.; WERTZ, J. E. Bacteriocins: evolution, ecology, and application. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 56, n. 9, p. 117-137, 2002.

RYAN, R. P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D. J.; DOWLING, D. N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **FEMS Microbiology Letters**, v. 278, p. 1-9, 2008.

SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A. **Lactic acid bacteria**. New York: Marcel Dekker, 442p, 1993.

SANTOS, F. G. B.; MOTA, R. A.; SILVEIRA-FILHO, V. M.; SOUZA, H. M.; OLIVEIRA, M. B. M.; JOHNER, J. M. Q.; LEAL, N. C.; ALMEIDA A. M. P.; LEAL-ALBINO T. C. Tipagem molecular de *Staphylococcus aureus* isolados do leite de vacas com mastite subclínica e equipamento de ordenha precedente do estado de Pernambuco. **Revista NAPGAMA**, São Paulo v. 6, n. 1, p 19-23, 2003.

SANTOS, L. L.; COSTA, G. M.; PEREIRA, U. P.; SILVA, M. A.; SILVA, N. Mastites clínicas e

subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus* coagulase-negativa. **Revista Instituto Adolfo Luiz**, v. 70, n. 1, p. 1-7, 2011.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007. 314 p.

SASS P, BIERBAUM G. Lytic Activity of Recombinant Bacteriophage 11 and 12 Endolysins on Whole Cells and Biofilms of *Staphylococcus aureus*. **Applied Environmental Microbiology**. n. 1, p. 347-352, v. 73, 2007.

SHAPIRO, O. H.; KUSHMARO, A. Bacteriophage ecology in environmental biotechnology processes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, p. 449-455, 2011.

SIERNA, C. L.; VALENCIA, H. L. L.; CAMPOS, G. R. Bacterias ácido laticas con actividad antimicrobiana contra patógenos causantes de mastitis bovina. **Biocnologia em el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, v. 9, n. 1, p. 97-104, 2011.

SILVA, J. A. Sanitização da carne bovina com ácidos orgânicos- Parte I. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 60, p. 55-62, 1999.

SOBRINO-LOPEZ, A.; MARTIN-BELLOSO, O. Enhancing inactivation of *Staphylococcus aureus* in skim milk by combining high-intensity pulsed electric fields and nisin. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 2, p. 345-353, 2006.

TWOMEY, D. P.; WHEELLOCK, A.I.; FLYNN, J.; MEANEY, W.J.; HILL, C., ROSS, R. P. "Protection against *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy cows using a bismuth-based teat seal containing the bacteriocin, Lacticin 3147, **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 9, p. 1981- 1988, 2000.

VANCRAYNEST, D.; HERMANS. MARTEL A.; VANEECHOVTTE, M.;DEVRIESE, L. A.; HAESBROUCK, F. Antimicrobial resistance and resistance genes in *Staphylococcus aureus* strains from rabbits. **Veterinary Microbiology**, v. 101, n. 4, p. 245-251, 2004.

WITTEBOLE, X.; De ROOCK, S.; OPAL, S. M. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 226-235, 2014.

YACOBY, I., BAR, H., BENHAR, I. Targeted drug bacteriophages. As antibacterial Nanomedicines. **Antimicrobiology Agents Chemother**, p. 2156-2163, 2007.

YACOBY, I.; SHAMIS, M.; BAR, H.; SHABAT, D.; BENHAR, I. Targeting antibacterial agents by using drug-carrying filamentous bacteriophages. **Antimicrobiology Agents Chemother**, v. 50, p. 2087-2097, 2006.

ZSCHÖCK, M.; BOTZLER, D.; BLÖCHER, S.; SOMMERHÄUSEN, J.; HAMANN, H. P. Detection of genes for enterotoxins (ent) and toxic shock syndrome toxin-1 (tst) in mammary isolates of *Staphylococcus aureus* by polymerase-chain-reaction. **International Dairy Journal**, Berling, v. 10, p. 569-574, 2000.