

IDENTIFICAÇÃO DOS AGENTES CAUSADORES DE MASTITE E DA RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

SIEBEL, Juliana Carolina¹; PIVA, Natalia Vanoni¹; SUZIN, Giuliano Orlandi¹; SANTOS, Adilson²; NASCENTE, Patricia da Silva³; TIMM, Cláudio Dias⁴; GONZALEZ, Helenice de Lima⁵

¹Universidade Federal de Pelotas, graduandos em Medicina Veterinária;

²Emater/Ascar Escritório Municipal. ³Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia.

⁴Universidade Federal de Pelotas, Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal.

⁵Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Veterinária Preventiva.

h.gonzalez@terra.com.br

1 INTRODUÇÃO

O leite, produto considerado nobre devido as suas características nutracêuticas, é uma mistura complexa, nutritiva e estável de gordura, proteínas e outros elementos sólidos, que se encontram suspensos em água e constituem o parâmetro de composição que define a qualidade do leite. Além deste parâmetro, temos o aspecto higiênico que é influenciado pelo 'status' sanitário do rebanho, presença de micro-organismos, resíduos estranhos, entre outros fatores (GIANOLA, 2004).

A mastite, inflamação na glândula mamária, é a doença que mais acomete os rebanhos leiteiros brasileiros, acarretando na perda de qualidade e produtividade do leite, podendo ser classificada em clínica e subclínica. A mastite clínica apresenta sinais evidentes, tais como edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor na glândula mamária, grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite (FONSECA & SANTOS, 2000). Na forma subclínica não se observam alterações macroscópicas e sim alterações na composição do leite; portanto, não apresenta sinais visíveis de inflamação do úbere (CULLOR et al., 1994).

O uso continuado de um determinado antimicrobiano no tratamento dos animais desencadeia um processo de seleção nos micro-organismos que mantém linhagens resistentes ao princípio ativo. Isso obriga a indústria a sintetizar continuamente novos produtos químicos, gerando dependência destes insumos no processo produtivo, com consequências indesejáveis no custo de produção e na saúde pública. Outra ocorrência comum é o não cumprimento do período de carência recomendado quando se utilizam antibióticos, para o aproveitamento do leite (COSTA et al., 2002). O antibiograma é um teste que oferece resultados padrões de resistência ou sensibilidade a um agente bacteriano a vários antimicrobianos e é também muito solicitado no diagnóstico da mastite para auxiliar na escolha do melhor tratamento. Este teste realizado previamente ao tratamento aumenta as possibilidades de cura, principalmente em casos que não apresentam melhora e sugerem problemas de resistência ao antimicrobiano administrado (BRITO, 2009).

O objetivo deste estudo foi identificar os principais agentes Gram positivos envolvidos na mastite subclínica e avaliar a sensibilidade destes frente aos antimicrobianos mais utilizados nos tratamentos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em dez Unidades Experimentais Participantes do interior do município de Pelotas de maio de 2010 a junho de 2012. Durante as visitas mensais para diagnóstico de mastite subclínica, foi realizado o teste da raquete, o *California Mastitis Test* (CMT), onde a classificação é dada conforme a intensidade da reação formada: leve (+), moderada (++) e intensa (+++) (FONSECA & SANTOS, 2000). Os quartos que apresentaram reação positiva ao teste foram coletados em tubos estéreis identificados de forma asséptica, onde se utilizou algodão embebido em álcool 70°GL para desinfecção da extremidade do teto.

Após coletadas, as amostras foram refrigeradas e encaminhadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária da UFPel. As amostras foram semeadas em placas de Petri contendo ágar-sangue com 6% de sangue de equino desfibrinado, incubados a 37°C e posterior leitura em 48 horas. Logo após, as colônias que cresceram foram identificadas através de coloração de Gram, Catalase, Hemólise e Teste da Coagulase.

Estas colônias foram inoculadas em tubos contendo Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) e estes cultivos foram incubados a 37°C por 48 horas. Posteriormente, foram semeadas em Agar Muller-Hinton para o teste de suscetibilidade a antimicrobianos. A técnica utilizada foi a de disco de difusão de Kirby-Bauer (BRASIL, 2003). Os antimicrobianos testados foram Amoxicilina (10 µg/disco), Bacitracina (10 µg/disco), Cefalexina (30 µg/disco), Enrofloxacin (5 µg/disco), Gentamicina (10 µg/disco), Neomicina (30 µg/disco), Norfloxacin (10 µg/disco), Penicilina G (10 µg/disco), Tetraciclina (30 µg/disco) e Trimetoprima (5 µg/disco).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 634 amostras coletadas, 41,6% dos isolados foram identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa, 28,1% como *Staphylococcus* coagulase positiva, 9,1% como *Streptococcus* spp. e 7,4% foram outras bactérias diversas, como *Kocuria kristinae*, *Aerococcus* spp. e *Enterococcus* spp.; em 12,3% das amostras não houve crescimento e em 1,4% das colônias foram identificadas bactérias Gram negativas. As bactérias *Staphylococcus* coagulase positiva apresentaram maior resistência a Cefalexina, Gentamicina, Neomicina, Tetraciclina e Trimetoprima e com maior sensibilidade a Bacitracina. No que se refere à *Staphylococcus* coagulase negativa, os antimicrobianos em que estas cepas se mostraram com maior resistência foram a Amoxicilina e Penicilina G e maior sensibilidade a Bacitracina e Cefalexina. Para *Streptococcus* spp., não foram observadas resistências relevante frente aos antimicrobianos utilizados.

Dentre os diversos tipos de micro-organismos patogênicos, que podem ser transmitidos através do leite e seus derivados, destaca-se o *Staphylococcus aureus*. Este agente tem importância devido a sua alta prevalência e risco de produção de toxinas causadoras de gastroenterites

alimentares que não são inativadas pelos processos industriais (ZECCONI & HAHN, 2000). Os *Staphylococcus* coagulase positiva são importante também, tendo maior ocorrência nos rebanhos mundiais e por sua característica de patogenicidade e resistência a B-lactâmicos. Portanto, é de difícil controle, pois já apresenta resistência a muitos medicamentos antes eficazes (RIBEIRO, 2008).

Estudos que tratam da sensibilidade a antimicrobianos de micro-organismos causadores de mastite em vacas leiteiras no Brasil, apontam para o crescente aumento dos padrões de resistência, principalmente por parte de *Staphylococcus aureus*. Infecções por *Staphylococcus* coagulase negativa podem ocorrer, porém, não são muito virulentas. Machado (2008) relata que de 752 amostras coletadas em 9 estados do Brasil, 14,5% foram confirmadas como *Staphylococcus* coagulase negativa. Todas as cepas foram testadas frente a 18 diferentes antimicrobianos, e todas apresentaram resistência pelo menos a um deles. A penicilina foi o antimicrobiano que apresentou maior resistência, observada em 93,5% dos isolados.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que no período do presente estudo foram encontradas bactérias que possuem resistência a alguns antimicrobianos utilizados no tratamento de mastite clínica. Cabe destacar que estes devem ser utilizados de forma correta e com prescrição de profissionais habilitados, os quais deverão orientar os proprietários, a fim de que os principais agentes de mastite não criem resistência e sejam controlados nas propriedades, evitando maiores perdas de produção e qualidade de leite.

5 REFERÊNCIAS

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada. 8ª Edição, Janeiro de 2003.

BRITO, M. A. V. P. **Diagnóstico** microbiológico da mastite bovina. In: **VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA**, Belo Horizonte-MG, outubro de 2009.

COSTA, E.O.; SPNOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. Uso de antimicrobianos na mastite. In: **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.443-455, 2002.

CULLOR, J. S., TYLER, J. W., SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: **Tratado de Medicina Interna dos Grandes Animais**. São Paulo, 1994. v.2, p.1041-1060.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

GIANOLA, D., HERINGSTAD, B., KLEMETSDAL, G., CHANG, Y. M. 2004. Longitudinal analysis of clinical mastitis at different stages of lactation in Norwegian cattle. **Livestock Production Science**.88:251-261.

MACHADO, T. R. O., CORREA M. G.; MARIN, J. M. Susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulase-negativa isolados de leite de bovinos com mastite no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.60, n.1, fevereiro, 2008.

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. **Journal: Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 2001.

RIBEIRO, E.; SILVA, M. H.; VIEGAS, S. A. A.; RAMALHO, E. J.; RIBEIRO, M. D.; OLIVEIRA, F. C. S.. California Mastitis Test (CMT) e White side como métodos de diagnóstico indireto da mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v.9, n.4, p.680-686, out/dez, 2008.

ZECCONI, A.; HAHN, G. **Staphylococcus aureus** in raw milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, v.345, p.15-18, 2000.