

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS DOS AGENTES CAUSADORES DE MASTITE NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL

ANDRETTA, Milimani¹; SUZIN, Giuliano Orlandi¹; SIEBEL, Juliana Carolina¹;PIVA, Natália Vanoni¹; NASCENTE, Patrícia da Silva²; SANTOS, Luiz Adilson dos³; TIMM, Claudio Dias¹, GONZALEZ, Helenice de Lima¹

¹ *Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal(LIPOA), Faculdade de Medicina Veterinária, UFPEL.* ² *Instituto de Biologia, UFPEL.* ³ *EMATER?ASCAR Escritório Municipal Pelotas*
mili_andretta@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

Dentre as doenças que acometem o rebanho leiteiro e comprometem a qualidade do leite, segundo Pyorala,2002, a mastite ocupa lugar de destaque por possuir maior importância na saúde pública e econômica. É uma doença causada por agentes infecciosos que se multiplicam na glândula mamária e no teto, podendo ser transmitida, de um quarto contaminado para outro sadio, ou de vaca para vaca. Classificando-se como clínica, a mastite apresenta sinais visíveis; caso for subclínica ocorre um aumento na contagem de células somáticas no leite (CCS); de acordo com Mendonça,1999, a forma de transmissão pode ser contagiosa e ambiental.

Micro-organismos patogênicos ambientais e resistentes a antibióticos são os principais causadores da doença, no entanto Scarlatelli, 1998, já constatou que esses podem ser controlados por medidas higiênicas e profiláticas. Essas, quando seguidas corretamente garantem o sucesso das prevenções contra a mastite, causando assim, uma grande evolução na área alimentícia, diminuindo os custos na produção e aumentando a produtividade, uma vez que Vargas, 2004, constatou que mais de 25% das perdas econômicas são diretamente atribuídas à mastite.

Diante do exposto, esse trabalho teve o objetivo de identificar os agentes infecciosos mais frequentes em casos de mastite bovina e avaliar a resistência desses pelo menos a seis antibióticos, enfatizando a eficácia de cada antimicrobiano para com essas bactérias resistentes. Contribuindo então, para o controle dessa doença em diferentes propriedades da região Sul do Rio Grande do Sul.

2 MATERIAL E MÉTODOS

No período de agosto de 2011 a julho de 2012 acompanhou-se a qualidade de leite de cinco propriedades da região Sul do Rio Grande do Sul, sendo coletadas 131 amostras. Após o pré-dipping e o teste da caneca de fundo preto foi executado o California Mastitis Test (CMT). Feita a antisepsia das mãos e do teto com algodão embebido em álcool 70%, as amostras de leite dos quartos que apresentaram reação ao teste foram coletadas em tubos estéreis com tampa de borracha, e mantidas refrigeradas até a chegada ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Universidade Federal de Pelotas-UFPEL.

Já no laboratório tais amostras eram submetidas à semeadura por esgotamento em placas de Agar Sangue (enriquecido com 6% de sangue ovino), permanecendo estas incubadas de 24 a 48 horas na estufa a 37°C. Após esse período, fez-se a identificação macroscópica das colônias, observando a presença

ou não de hemólise, e o teste da catalase; microscopicamente identificaram-se as características morfológicas e tintoriais de cada uma, através da técnica de coloração de Gram. Inoculadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) as colônias foram depositadas na estufa a 37°C por 24 horas. Decorrido esse tempo, fez-se o teste da coagulase (também macroscópico), o qual consiste na homogeneização de 0,3 ml de plasma equino com 0,3 ml do caldo, observado durante 6 horas a formação ou não de coagulo. Baseado na técnica de difusão em disco (Bauer et al. 1966), o antibiograma feito em placas de Petri contendo Agar Müeller-Hinton, o inócuo foi submetido a semeadura por superfície, e em seguida foram depositados os discos contendo os antibióticos a serem testados, essas placas permaneceram na estufa de 37°C de 24 a 48 horas. Os halos formados foram medidos e classificados como sensíveis ou resistentes. Foram onze os antibióticos utilizados: Amoxicilina (10 µg/disco), Bacitracina (10 µg/disco), Cefalexina (30 µg/disco), Enrofloxacina (5 µg/disco), Gentamicina (10 µg/disco), Neomicina (30 µg/disco), Norfloxacina (10 µg/disco), Penicilina G (10 µg/disco), Tetraciclina (30 µg/disco), Trimetoprima (5 µg/disco) e Ceftiofur (30 µg/disco).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 131 amostras, vinte e uma não obtiveram crescimento em Agar sangue. Dos outros quartos, oito agentes infecciosos foram identificados, onde os mais significativos foram: *Staphylococcus* coagulase negativa com 46%, *Staphylococcus* coagulase positiva com 35% e *Streptococcus* sp. com 12%. Segundo GENTILINI, 2002, o *Staphylococcus* coagulase negativa tem recebido maior importância como causador de infecções intramamárias em todo o mundo.

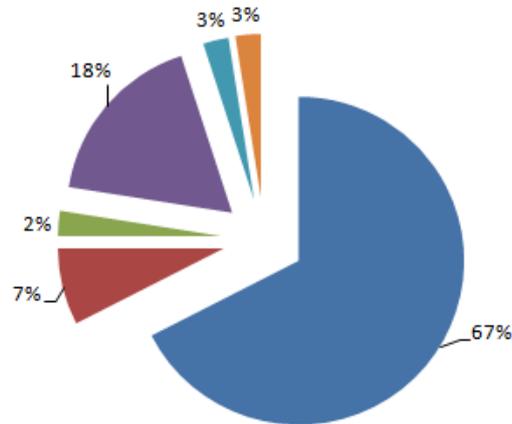
Sendo assim, nota-se que é preciso diminuir os casos de mastite na região, adequando o manejo da propriedade, dos animais, e do leite. Caso contrário, qualquer falha no processo de produção pode resultar no surgimento de novos casos.

Mesmo apresentando resultado negativo para o CMT, por prevenção, esse teste deve ser feito rotineiramente, já que os micro-organismos ambientais são oportunistas e de fácil transmissão.

O uso indevido de antibióticos, o fornecimento do leite tratado às terneiras e erros de manejo em geral, ocasionaram um aumento significativo de bactérias resistentes. Dessa forma, observou-se que 32,82% dos micro-organismos são resistentes a pelo menos 6 antibióticos, comprovando que as falhas que ocorrem no processo produtivo vem sendo rotineiras. O gráfico 1 demonstra que todos os agentes isolados apresentaram resistência, onde o menos sensível foi o *Staphylococcus* coagulase positiva. Uma situação preocupante, já que os medicamentos tornam-se menos eficazes, resultando em maiores perdas econômicas aos produtores.

Micro-organismos Resistentes

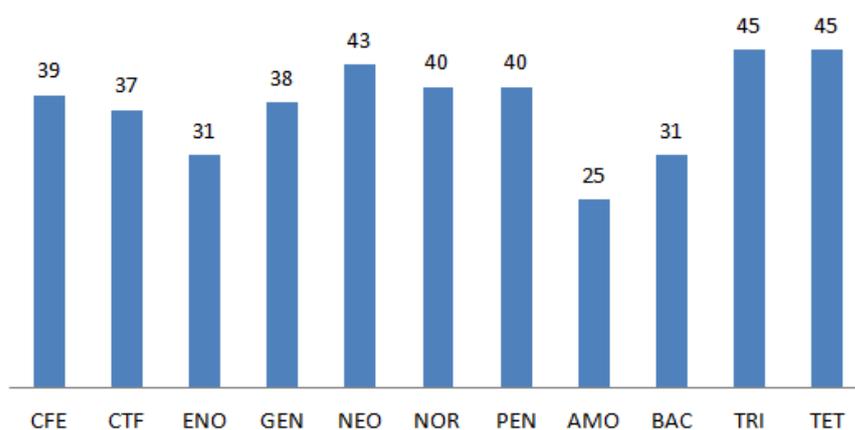
■ *Staphylococcus coagulase positiva*
 ■ *Kocuria kristinae*
 ■ *Streptococcus spp*
■ *Staphylococcus coag. Negativa*
 ■ *Enterococcus casseliflavus*
 ■ *Staphylococcus lentus*



(Gráfico 1 - Micro-organismos que apresentaram resistência a pelo menos seis antibióticos, num total de 40 agentes, onde o *Staphylococcus coagulase positiva* foi o mais significativo, tendo de 38, 27 cepas resistentes.)

Conforme o gráfico 2, percebe-se que nenhum dos antibióticos apresentou 100% de sensibilidade, mas que de forma geral, os mais eficazes foram amoxicilina, enrofloxanina, e bacitracina, sendo que todos os outros apresentaram uma quantidade elevada de cepas com resistência, destacando-se a trimetopima, e a tetraciclina como as mais ineficazes.

Resistência das Cepas



(Gráfico 2 - Apresenta a quantidade de cepas resistentes a cada um dos antibióticos.)

4 CONCLUSÃO

De acordo com as propriedades estudadas, os agentes que obtiveram prevalência como causadores da mastite subclínica foram *Staphylococcus coagulase negativa* e *Staphylococcus coagulase positiva*, respectivamente.

É significativa a quantidade de micro-organismos resistentes, com destaque ao *Staphylococcus* coagulase positiva que além de ser o mais resistente, é o mais contagioso. Foi visível que todos os antibióticos testados apresentaram ineficácia pelo menos a vinte e cinco bactérias, o que dificulta o tratamento da doença.

5 REFERÊNCIAS

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology** - v.45, n.4, p.493-496, 1966.

GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR, A. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. **Journal of Dairy Science** - v.85, p.1913-1917, 2002

MENDONÇA, C.L.; FIORAVANT, M.C.S.; SILVA, J.A.B.A. Etiologia da mastite bovina. **Veterinária Notícias** - v.5, n.1, p.107-118, 1999.

PYÖRÄLÄ, S. New strategies to prevent mastitis. **Reproduction in Domestic Animals** - v.211, n.216, p.211-216, 2002.

SCARLATELLI, F.P. **Mamite ou mastite**. Uberaba : Raca Girolando - 1998.

VARGAS, R.T.; CAERQUEIRA, M.M.P.; SANTOS, M.A.V.P. et al. Avaliação econômica e qualitativa do leite de novilhas submetidas a antibioticoterapia e vacinação no período préparto (resultados parciais). In: **Congresso Brasileiro de Qualidade do leite**, 2004. Passo Fundo. Passo Fundo: Conselho Brasileiro de Qualidade de Leite - 4f, 2004. CD-ROM.