

## SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE QUARTOS BOVINOS NO INTERIOR DO MUNICÍPIO DE PELOTAS

FRIGOTTO, Dante Ferrari<sup>1</sup>; PIVA, Natalia Vanoni<sup>1</sup>; TIMM, Cláudio Dias<sup>1</sup>; SANTOS, Luiz Adilson<sup>2</sup>; GONZALEZ, Helenice de Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, FVet, UFPEL,, <sup>2</sup> Chefe do Escritório Municipal de Pelotas, EMATER/RS.  
[danteferrarifrigotto@yahoo.com.br](mailto:danteferrarifrigotto@yahoo.com.br)

### 1 INTRODUÇÃO

Mastite, inflamação na glândula mamária, é a doença que mais acomete os rebanhos leiteiros brasileiros, acarretando a perda de qualidade e produtividade do leite, podendo ser classificada em clínica e subclínica. São os principais agentes causadores de mastite as bactérias dos gêneros *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e *Streptococcus* spp.

Segundo Harmon (1994) e Laffranchi (2001), os microrganismos envolvidos na etiologia da mastite bovina podem ser classificados em patógenos “maiores” e “menores”. Na primeira categoria estão incluídos os agentes que provocam maiores Contagem de Células Somáticas (CCS), alterações significativas na composição do leite e, conseqüentemente, grande impacto econômico. Os principais patógenos “maiores” são os *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, Coliformes, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Actinomyces pyogenes* e *Serratia* spp.

A mastite clínica apresenta sinais evidentes, tais como: edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor na glândula mamária, assim como, 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, a mastite subclínica não apresenta sinais visíveis de inflamação do úbere (CULLOR et al., 1994).

O antibiograma é um teste que oferece resultados padrões de resistência ou sensibilidade de uma amostra bacteriana a vários antimicrobianos. 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 avaliar a sensibilidade de mastite subclínica causada por *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e *Streptococcus* spp., frente aos antimicrobianos: 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).

### 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Este estudo foi realizado em cinco Unidades Experimentais Participantes (UEPs) do interior do município de Pelotas no período de Maio a Julho de 2010.

Os rebanhos eram constituídos de bovinos da raça Jersey e Holandês, sendo esta última a predominante. O sistema de alimentação era constituído de silagem de

milho, concentrado e pastagem anual de azevém e aveia e perene de tifton, com sistema de criação semi-extensivo.

As ordenhas eram realizadas de forma mecânica em quatro UEPs e manual em uma das UEPs, duas vezes ao dia. Durante as visitas mensais para diagnóstico de mastite subclínica foi realizado o teste da raquete, *California Mastitis Test* (CMT) e classificado de acordo com a intensidade da reação negativa (0), reações positivas: 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 as coletas, as amostras foram mantidas sobre refrigeração em caixas isotérmicas e encaminhadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) 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 (BRASIL, 2000).

As colônias que cresceram foram identificadas através de coloração de Gram, Catalase, Hemólise e Teste da Coagulase (BRASIL, 2000).

As colônias Gram positivas foram inoculadas em Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) e este incubado a 37°C por 48 horas. Posteriormente foram semeadas em Agar Miller-Hinton para o teste de suscetibilidade a antimicrobianos. A técnica utilizada foi a de disco de difusão de Bauer (BRASIL, 2003).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram avaliados 535 quartos mamários, sendo 109 positivos ao CMT. Destes foram coletados 90 que apresentaram reações positivas.

Das 90 amostras analisadas em laboratório, foram isolados 70 amostras com crescimento de *Staphylococcus* spp. (63,6%) sendo que destes onze foram coagulase positiva e 59 coagulase negativa, sete foram *Corynebacterium* spp.(6,4%), três foram *Streptococcus* spp.(2,73%), 24 foram Bactérias Gram-Negativas (BGN)(21,8%) e 6 não apresentaram crescimento (SC) (5,5%).

Ribeiro et al. (2009), isolaram em animais infectados por mastite 25,7% *Staphylococcus aureus*, 21,4% *Streptococcus* spp., 12,9% *Corynebacterium bovis*, 4,3% *Streptococcus agalactiae* e 4,3% *Staphylococcus* spp., em cultura pura ou em associação.

Souza et al. (2009), de 3753 quartos analisados encontraram 1.139 (30,3%) amostras que não apresentaram crescimento bacteriano e em 2.614 (69,7%) identificaram a presença de pelo menos um patógeno de mastite. Do total de amostras que apresentaram crescimento bacteriano, foi observada infecção mista em 404 (15,5%) amostras. Entre as amostras de leite que apresentaram crescimento bacteriano, foram isolados 826 (31,6%) *Corynebacterium* spp., 790 (30,2%) *S. aureus*, 551 (21,1%) *S. agalactiae*, 466 (17,8%) *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e 351 (13,4%) *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*.

Tabela 1: Número de bactérias Identificadas.

UEPs	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	BGN	SC
1	0	23	2	1	6	1
2	4	24	3	1	10	0
3	0	4	1	1	8	0
4	3	4	0	0	0	5
5	4	4	1	0	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>11</b>	<b>59</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>24</b>	<b>6</b>

Bactérias *Staphylococcus coagulase negativa* apresentaram maior resistência aos seguintes antimicrobianos: Amoxicilina e Penicilina G e maior sensibilidade a Cefalexina; em relação à *Staphylococcus coagulase positiva*, os antimicrobianos em que estas se mostraram com maior resistência foram Cefalexina, Gentamicina, Neomicina, Tetraciclina e Trimetoprima e com maior sensibilidade destaca-se a Amoxicilina.

Com relação aos microorganismos do gênero *Corynebacterium spp.*, observou-se maior resistência frente a Trimetoprima e maior sensibilidade observou-se em Bacitracina e Gentamicina. Com relação ao gênero *Streptococcus spp.*, não foi observada resistência relevante frente aos antimicrobianos utilizados.

Ribeiro et al. (2009) de maneira similar também encontraram maiores taxas de resistência frente a Penicilina e Neomicina e de sensibilidade a Gentamicina. A presença de linhagens resistentes a três ou mais antimicrobianos foi observada em 40 (39,6%) dentre 101 isolados de vacas Girolanda do interior do Estado de São Paulo.

Tabela 2: Percentagem de bactérias sensíveis e resistentes aos antimicrobianos

Antimicrobianos	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>		<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>		<i>Corynebacterium spp.</i>		<i>Streptococcus spp.</i>	
	R*	S*	R*	S*	R*	S*	R*	S*
Amoxicilina	0	100	22	78	14	86	0	100
Bacitracina	27,3	72,7	5	95	0	100	0	100
Cefalexina	63,6	36,4	0	100	14	86	0	100
Enrofloxacin	18,2	81,8	7	93	14	86	0	100
Gentamicina	81,8	18,2	2	98	0	100	0	100
Neomicina	100	0	5	95	14	86	0	100
Norfloxacin	45,4	54,6	8,5	91,5	14	86	0	100
Penicilina G	9,1	90,9	41	59	14	86	0	100
Tetraciclina	90,9	9,1	8,5	91,5	28,5	71,5	33,5	66,5
Trimetoprima	63,6	36,4	12	88	43	57	33,5	66,5

\*R= resistente S= sensível

#### 4 CONCLUSÕES

Conclui-se que no período de estudo foram encontradas bactérias que possuem resistência a alguns antimicrobianos, os quais são constituintes mais comuns de medicamentos utilizados no tratamento de mastite clínica. Cabe destacar que estes devem ser utilizados de forma correta e com prescrição de profissionais habilitados, a fim de que os principais agentes de mastite não criem resistência.

## 5 REFERÊNCIAS

**BRASIL.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica, Módulo V. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde, 2000.**

**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.

CULLOR, J. S., TYLER, J. W., SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: SMITH, B. P. **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.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.

LAFFRANCHI, A.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C.; PRETTO-GIORDANO, L. G.; DIAS, J. A.; SALVADOR, R. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, v.31, n.6, p.1027-1032, 2001.

Ribeiro M.G., Geraldo J.S., Langoni H., Lara G.H.B., Siqueira A.K., Salerno T. & Fernandes M.C. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesq. Vet. Bras.** 29(1): p. 52-58, 2009.

SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C.; BRITO, M.A.V.P. Brito; SILVA, M. V. G. B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.5, p.1015-1020, 2009.