



SUSCETIBILIDADE *IN VITRO* DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MASTITE FRENTE A ANTIBIÓTICOS

SILVA, Catiuscie Cabreira¹; VARGAS, Carolina Galarza¹; LUND, Rafael Guerra²; LADEIRA, Sílvia³; GONZALES, Helenice de Lima⁴; NASCENTE, Patrícia da Silva⁵

¹Acadêmicas do Curso de Nutrição – Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) E-mail: cathi_cabreira@hotmail.com

²Doutor - Professor, Departamento de Bioquímica – Instituto de Química e Geociências - UFPEL

³Doutora – Médica Veterinária – Laboratório Regional de Diagnóstico - UFPEL

⁴Doutora – Médica Veterinária – Professora Inspeção de Leite – Faculdade de Veterinária – UFPEL

⁵Doutora – Médica Veterinária

1. INTRODUÇÃO

Mastite é a denominação do processo inflamatório da glândula mamária (Costa, 1998), classificada quanto à forma de apresentação em clínica e subclínica e quanto à forma de transmissão, em primária (contagiosa) e secundária (ambiental) (Mendonça et al., 1999). Esta enfermidade causa alterações na composição do leite prejudicando a indústria cujos produtos passam a ter qualidade inferior, ressaltando-se mudanças de paladar e valores nutricionais igualmente comprometidos. O leite mastítico vai apresentar um número aumentado de células somáticas, diminuição no teor de caseína e aumento nas proteínas do soro, dentre outras anormalidades (Prestes et al., 2003).

Dentre todas as doenças que acometem o rebanho leiteiro e comprometem a qualidade do leite, é a mastite que ocupa lugar de destaque por possuir importância econômica e para a saúde pública (Pyorala, 2002). Ela pode ser causada por agentes oriundos do ambiente e ou do próprio animal, determinando perdas ao produtor, tanto pela redução na produção de leite das vacas quanto pelos gastos com medicamentos, principalmente, antibióticos, na tentativa de controle da doença (Larry Smith et al., 1985; Larry Smith & Hogan, 1998). São citados na literatura mais de 130 agentes envolvidos com sua etiologia (Watts, 1998), incluindo-se bactérias, fungos, algas e vírus; entretanto, as mastites de origem bacteriana são as mais frequentes (Langoni et al., 1998).

A antibioticoterapia é o procedimento mais utilizado no tratamento da mastite bovina (Pinto et al., 2001) e deve visar a eficácia terapêutica e benefícios econômicos, tanto do ponto de vista do aumento da produção como na redução das fontes de infecção (quartos infectados). A terapia tem por meta a eliminação das infecções preestabelecidas e, para tanto, é necessário que o antimicrobiano atinja concentrações no úbere maiores ou pelo menos iguais à concentração inibitória mínima (MIC) para os principais patógenos da mastite (Costa, et al 1999). Ainda deve-se ressaltar que os resíduos de antibióticos no leite de consumo representam riscos à saúde pública e interferem na produção dos derivados, inviabilizando muitas vezes a produção destes (Pinto et al., 2001).

O isolamento bacteriano e respectivo antibiograma são ferramentas imprescindíveis no dia-a-dia da granja leiteira. Além de serem úteis para confirmar o diagnóstico clínico, os resultados laboratoriais demonstram através de seus resultados erros de manejo sugerem possíveis correções, que podem reduzir sensivelmente as recidivas (Fernandes, 2006). O antibiograma é um teste que oferece como resultado padrões de resistência ou susceptibilidade, de uma bactéria específica, a antimicrobianos

(antibióticos ou quimioterápicos). Os resultados desses testes possuem grande importância e são aplicados na triagem dos fármacos, daí a necessidade da opção por um antibiótico de alto poder bactericida, que atue no maior número possível de agentes causadores de mastites. A aferição de sensibilidade é fundamental para a certeza de se estar utilizando o produto certo e que melhor se aplica no combate aos agentes de mastite em cada propriedade (Fernandes, 2006).

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de suscetibilidade de nove bactérias isoladas a partir de leite de vacas com mastite frente a múltiplos antibióticos, através da realização de antibiograma pela técnica de difusão em ágar.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionados nove isolados bacterianos frequentemente encontrados em casos de mastite em vacas leiteiras. As espécies a serem estudadas foram: *Staphylococcus coagulase negativa* (4); *Corynebacterium* spp. (2); *Streptococcus* spp. (3) e *Streptococcus beta hemolítico* (1).

Os antibióticos testados foram amoxicilina (10mcg), amoxicilina + ác. clavulânico (10mcg), cefalotina (30mcg), cefalexina (30mcg), enrofloxacina (5mcg), gentamicina (10mcg), tetraciclina (30mcg) e penicilina (10UI).

O antibiograma foi realizado pelo método de difusão em ágar Muller-Hillton, através da disposição de discos comerciais impregnados com antibiótico, em placas com o meio de cultivo, onde previamente foi semeado o agente bacteriano a ser testado. Após a realização do procedimento as placas foram incubadas a 36^oC por 24 horas.

A leitura do antibiograma foi realizada através da medida dos halos formados ao redor dos discos com antibióticos (Torres, 2002; Trabulsi & Alterthum, 2004). O resultado foi expresso como: resistente (R), intermediário (I) ou sensível (S) aos antibióticos, de acordo com a recomendação do fabricante dos discos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados observados estão expressos na tabela 1.

Tabela 1: Descrição da suscetibilidade dos isolados de *Staphylococcus coagulase negativa*, *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. frente a oito antibióticos

Antibióticos	1	2	3	4	5	6	7	8*	9	10
Amoxicilina (10mcg)	S	I	S	I	S	S	I	I	S	I
Amoxicilina + Ac. clavulânico (10mcg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cefalotina (30mcg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cefalexina (30mcg)	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
Enrofloxacina (5mcg)	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
Gentamicina (10mcg)	S	S	I	I	R	R	R	R	S	I
Tetraciclina (30mcg)	S	I	I	I	I	I	I	I	S	S
Penicilina (10UI)	S	R	I	I	I	I	I	I	S	I

S – sensível; I - sensibilidade intermediária; R - resistente.

1,2,3,4 – Amostras de *Staphylococcus coagulase negativa*. 5, 6, 7- Amostras de *Streptococcus* sp.

8*- *Streptococcus beta hemolítico* 9,10 - *Corynebacterium* sp.

Conforme pode ser observado na Tabela 1, todos os isolados bacterianos foram sensíveis a amoxicilina com ácido clavulânico e a cefalotina, entretanto entre os demais antibióticos houve variação de acordo com a bactéria estudada.

Dois isolados de *Staphylococcus* spp., dois de *Streptococcus* spp. e um de *Corynebacterium* sp. apresentaram sensibilidade intermediária à amoxicilina pura, sendo

que as demais bactérias foram sensíveis a este. Quanto à cefalexina apenas um isolado de *Staphylococcus* sp. apresentou sensibilidade intermediária.

Com exceção de uma cepa de *Streptococcus* spp., que apresentou sensibilidade intermediária à enrofloxacin, as demais bactérias foram sensíveis a este antibiótico. A gentamicina foi o antibiótico ao qual o maior número de isolados foram resistentes, sendo sensíveis a ela apenas dois isolados de *Staphylococcus* spp. e um de *Corynebacterium* sp. A tetraciclina foi efetiva contra dois isolados de *Staphylococcus* spp. e um de *Corynebacterium* sp., apresentando os demais isolados, sensibilidade intermediária. E finalmente a penicilina foi efetiva apenas frente a um isolado de *Staphylococcus* sp. e um de *Corynebacterium* sp.

De acordo com a literatura, os microrganismos isolados em casos de mastite bovina que se destacam são os *Staphylococcus* sp, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae* *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium* spp e *Escherichia coli* (Brabes et al., 1999; Brito et al., 1999, Brito et al, 2001; Rabello, 2003) e dentre estes foram selecionadas as bactérias aqui estudadas. O *Staphylococcus* spp. tem sido o mais freqüentemente isolado, tanto em infecções clínicas como subclínicas, em vacas leiteiras e se destaca pela capacidade de ser ou se tornar resistente a um grande número de antibióticos (Freitas et al., 2005).

Observou-se apenas um caso de resistência dentre os isolados de *Staphylococcus* aqui estudados; entretanto, de acordo com Fagundes e Oliveira (2004), *Staphylococcus aureus* seria a bactéria causadora de mastite de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antibióticos. E ainda no Brasil, Fontana (2002) avaliou amostras de leite mastítico de 96 vacas leiteiras da região de Jataí-GO e isolou 85 amostras de *Staphylococcus* spp. que demonstraram 100% de resistência aos betalactâmicos penicilina, ampicilina e a oxacilina, sendo a penicilina o antibiótico aqui estudado que também se observou resistência.

Em decorrência da diversidade de agentes etiológicos envolvidos nas mastites, se constata a necessidade da utilização de exames microbiológicos e testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* como medidas para indicar o tratamento. A seleção de medicamentos específicos deve ter como base o agente etiológico da mastite.

A realização de antibiograma prévio ao tratamento de uma mastite bacteriana é importante uma vez que o uso indiscriminado de fármacos para essa enfermidade vem aumentando a resistência desses patógenos frente aos antibióticos de uso rotineiro. Martins et al. (1998) associaram o agravamento da resistência bacteriana ao uso freqüente e indiscriminado de antibióticos e aos mecanismos de transferência de resistência entre os microrganismos.

A importância no tratamento da mastite está também na sua alta transmissibilidade, pois pode ser transmitida de uma vaca infectada para outra sadia, principalmente, durante a ordenha (Costa, 1998; Prestes et al., 2003). Entretanto outros cuidados se fazem necessários, pois segundo o *National Mastitis Council Research Committee Report* (2004) o tratamento da mastite é a causa mais comum de resíduos de antibióticos no leite, entrando em discussão a capacidade que esses resíduos apresentam quando consumidos de poderem induzir resistência a antimicrobianos em humanos.

4. CONCLUSÕES

Em decorrência da diversidade de agentes etiológicos envolvidos em mastites, a utilização de exames microbiológicos e posteriormente testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* são medidas indicadas antes da eleição do tratamento, pois esta diversidade microbiológica pode ter diferentes respostas frente ao medicamento a ser utilizado. E os resultados de resistência e sensibilidade intermediária com algumas

bactérias observados neste trabalho confirmam a importância da realização de antibiograma, para evitar o uso de antibióticos ineficientes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do Brasil. **Revista de Educação Continuada do CMRV-SP**. São Paulo, v.1, p.3-9, 1998.
- COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNADI, M. M.; **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 422-434.
- BRABES, K. C. S.; ANDRADE, N. J.; MENDONÇA, R. C. S.; LIMA, J. C.; LOPES, F. A. Identificação e Classificação de Enterotoxinas Produzidas por *Staphylococcus* spp. Isolados de Ar de Ambiente, Manipuladores e de Superfícies em uma Indústria de Laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 58, n. 333, p. 33-38, 2003.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.51, n.2, p.129-135, 1999.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; SILVA, M. A. S.; CARMO, R. A. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.53, n.5, p.531-537, 2001.
- BRITO, M. A.; BRITO, J. R.; ARCURI, E.; LANGE, C.; SILVA, M.; SOUZA, G. In: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_208_21720039247.html.
- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 34, n.4, p. 1315-1320, 2004.
- FERNANDES, D. Diagnóstico laboratorial em mastites bovinas: Sua real importância e aplicação prática. Atualização Técnica 33, **Div. Agropec. Pfizer**, 2006.
- FONTANA, V. L. D. S. **Etiologia da mastite bovina subclínica da região de Jataí/GO. Padrão genética e de suscetibilidade à drogas antimicrobianas com ênfase ao gênero *Staphylococcus***. Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlia de Mesquita Filho, 2002. 61p.
- FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; STAMFORD, T. L. M.; RABELO, S. S. de A.; SILVA, D. R. da.; SILVEIRA FILHO, V. M. da; SANTOS, F. G. B.; SENA, M. J. de; 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**. Arquivo Instituto Biologia, São Paulo, v. 72, n.2, p.171-177, 2005.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; SILVA, A.V. et al. Aspectos etiológicos na mastite bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.20, p.204-210, 1998.
- LARRY SMITH, K.; HOGAN, J.S. Milk quality - A worldwide perspective. In: **National Mastitis Council**, v.37. 1998, Madison. Proceedings... Madison: NMC, 1998. p.3-9.
- LARRY SMITH, K.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. **Journal of Dairy Science**, v.68, n.6, p.1531-53, 1985.
- MARTINS, S. C. S.; FELIX, P. R.; NASCIMENTO, G. G. F. Isolamento e caracterização de bactérias de diferentes ambientes hospitalares. Perfil da sensibilidade a quimioterápicos. **Higiene Alimentar**, Piracicaba, v.12, n.56, p.45-48, 1998.
- 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.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL RESEARCH COMMITTEE REPORT. Bovine Mastitis Pathogens and Trends in Resistance to Antibacterial Drugs. In : **NMC Annual Meeting Proceedings**, p. 400-414, 2004.
- PINTO, M. S.; FARIA, J. E. de; 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. **Braz. J. vet. Reserch animal Science**, v. 38, n.6, p.278-283, 2001.
- PRESTES, D. S.; FILATI, A.; CECIM, M. S. Suscetibilidade à mastite: Fatores que a influenciam- Uma revisão. **Revista Faculdade Zootecnia Veterinária e Agronomia**. v.9, n.1, p-48-59, 2003.

- PYORALA, S. New strategies to prevent mastitis. *Reproduction in Domestic Animals*, Belfast, v.37, n.4, p.211-216, 2002.
- RABELLO, R. F. Susceptibilidade aos antimicrobianos e diversidade genética de amostras de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* isoladas de casos de mastite subclínica no Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2003. 100p.
- TRABULSI, LR; ALTERTHUM, F (Eds.). *Microbiologia*. 4ª Ed. São Paulo: Atheneu, 2004.
- TORRES, C. Lectura interpretativa del antibiograma de cocos grampositivos. ***Enferm. Infec. Microbiol. Clin.***, v. 20, n. 7, p. 354-364. 2002.
- WATTS, J. L. Etiological agents of bovine mastitis. ***Veterinary Microbiology***, v.16, p.41-46, 1998.