

## PREVALÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* EM AMOSTRAS DE LEITE ORIUNDAS DE PEQUENAS PROPRIEDADES LEITEIRAS DA REGIÃO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL E SUA SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

**COPPOLA, Mario de Menezes<sup>1, 2\*</sup>; FENALTE, Mariele Pletsch<sup>3, 4</sup>; DASSO, Maurício Gautério<sup>1</sup>; CENCI, Alexander<sup>1</sup>**

1. Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, pesquisador veterinário.
  2. Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Veterinária.
  3. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal.
  4. Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, estagiária.
- \*mdm\_coppola@yahoo.com.br

### 1 INTRODUÇÃO

A produção de leite no Brasil em 2009 atingiu o volume de 19,597 bilhões de litros, sendo o Rio Grande do Sul o 2º maior produtor no país, contribuindo com 14,1% do volume total produzido (IBGE, 2010).

Um dos grandes desafios para os países produtores de leite é a mastite, uma doença endêmica de distribuição mundial que acarreta em baixa eficiência na produção de leite (Radostits et al., 2002), sendo considerada a doença de gado leiteiro economicamente mais importante (Bradley, 2002).

O termo mastite refere-se à inflamação da glândula mamária, provocada principalmente por microrganismos infecciosos, a qual se apresenta sob a forma clínica ou subclínica (Bradley, 2002). Na mastite clínica, há sinais de manifestação da doença na glândula mamária, tais como edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor, podendo também haver alteração das características do leite, com aparecimento de grumos e pus (Fonseca e Santos, 2001). Já a forma subclínica caracteriza-se por alterações na composição do leite sem sinais evidentes da doença (Fonseca e Santos, 2001).

O *Staphylococcus aureus* foi considerado o principal agente etiológico desta doença no Brasil (Brito e Brito, 1996). Para provocar a mastite, *S. aureus* precisa ser capaz de colonizar o interior da glândula mamária e escapar das células fagocitárias do hospedeiro (Fox et al., 2001).

Antibióticos são utilizados mundialmente para tratamento de mastite por *S. aureus* (De Oliveira et al., 2000), porém sua utilização indiscriminada foi considerada uma condição para o surgimento de cepas resistentes (Errecalde, 2004). Em função disso, testes de suscetibilidade a antimicrobianos auxiliam na seleção do antibiótico mais apropriado para o tratamento da doença (De Oliveira et al., 2000).

Os objetivos desse trabalho foram estabelecer a prevalência de *S. aureus* em amostras de leite oriundas de pequenas propriedades leiteiras na região Noroeste do Rio Grande do Sul e determinar a suscetibilidade dos isolados obtidos a cinco agentes antimicrobianos.

### 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado o exame bacteriológico de 174 amostras de leite provenientes de criações de gado leiteiro de pequeno porte, localizadas na região Noroeste do

Rio Grande do Sul, abrangendo os municípios de Tenente Portela, Derrubadas e Barra do Guarita.

O leite foi semeado em placas de Petri contendo ágar sangue ovino e ágar Baird Parker para isolamento de *Staphylococcus* sp.. As placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas e quando não houve crescimento bacteriano, permaneceram em incubação por até 48 horas. Quando ocorreu crescimento de três ou mais tipos diferentes de colônias, a cultura foi considerada contaminada, conforme o critério descrito por Brito e Brito (1999). Nas culturas identificadas como não contaminadas foram preparados esfregaços em lâmina para coloração de Gram e as amostras identificadas como cocos Gram-positivos foram submetidas à prova da catalase.

As amostras catalase positiva foram caracterizadas bioquimicamente através da fermentação de maltose, fermentação de manitol e produção da coagulase, verificada pela capacidade da bactéria em coagular plasma de coelho. Os isolados com reação positiva na prova da coagulase e na fermentação de maltose e manitol foram classificadas como *Staphylococcus aureus*, conforme descrito por Barrow e Feltham (2004). Amostras coagulase positiva, mas que não fermentaram maltose e manitol foram identificadas como *Staphylococcus hyicus* de acordo com Barrow e Feltham (2004).

As amostras de *S. aureus* foram testadas quanto à suscetibilidade a antimicrobianos através do método de Kirby-Bauer de difusão em disco realizado a partir de pré-enriquecimento do inóculo em caldo “brain heart infusion” (BHI) com posterior inoculação em ágar Mueller-Hinton (NCCLS, 2003). Foram utilizados como antimicrobianos: Amoxicilina, Enrofloxacin, Gentamicina, Penicilina G e Tetraciclina. Após a distribuição dos discos, as placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas e examinadas para mensuração do diâmetro do halo de inibição conforme NCCLS (2003).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame bacteriológico revelou presença de *S. aureus* em 43,1% das amostras; de *Staphylococcus* sp. coagulase negativa (SCN) em 10,35% das amostras e de *S. hyicus* em 2,3% das amostras; sendo isolados outros microrganismos identificados como *Streptococcus* sp., bacilos Gram-positivos e bacilos Gram-negativos em 22 amostras (Tabela 1).

Tabela 1: Resultado do exame bacteriológico das amostras de leite de pequenas propriedades leiteiras da região noroeste do Rio Grande do Sul em 2009.

Microrganismos	Quantidade (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	75 (43,1)
<i>Staphylococcus</i> sp. coagulase negativa	18 (10,35)
<i>Staphylococcus hyicus</i>	4 (2,3)
Outros microrganismos	22 (12,65)
Amostras contaminadas	23 (13,2)
Ausência	32 (18,4)
<b>Total</b>	<b>174 (100)</b>

Os resultados dos antibiogramas (Tabela 2) revelam que 30 (52,6%) das 57 amostras de *S. aureus* foram resistentes à pelo menos um dos antimicrobianos testados. O antibiótico que apresentou maior percentual de isolados resistentes foi a Penicilina G (43,85%), seguida pela Amoxicilina em (29,8%) e Tetraciclina (19,3%).

No entanto, Enrofloxacina e Gentamicina apresentaram taxas de resistência muito baixas (3,5% e 1,75%, respectivamente).

Tabela 2: Perfil de resistência *in vitro* de 57 amostras de *S. aureus* isoladas de amostras de leite de pequenas propriedades da região noroeste do Rio Grande do Sul em 2009.

Antimicrobiano	Número de isolados e resultado do antibiograma								Total de isolados resistentes (%)
	1	5	11	1	7	4	1	27	
Amoxicilina	R	R	R	-	-	-	-	-	17 (29,8)
Enrofloxacina	R	-	-	-	-	-	R	-	2 (3,5)
Gentamicina	R	-	-	-	-	-	-	-	1 (1,75)
Penicilina G	R	R	R	R	R	-	-	-	25 (43,85)
Tetraciclina	R	R	-	R	-	R	-	-	11 (19,3)

R: resistente; (-): sensível.

O *S. aureus* foi o patógeno predominante nas amostras, assim como descrito por outros autores no Brasil, embora a prevalência tenha sido numericamente superior. Langoni et al. (1991) relataram a presença de *S. aureus* em 35,53% amostras de leite e Ribeiro et al. (2009) isolaram *S. aureus* em 25,7% amostras de leite. A presença de *S. aureus* está relacionada a práticas deficientes de higiene e manejo durante a ordenha (Fox et al., 2001; Radostits et al., 2002). A diferenciação entre *S. aureus* e outras espécies de *Staphylococcus* é importante para o controle da mastite. SCN é considerado um agente oportunista e menos patogênico (Taponen e Pyörälä, 2009). Já o *S. hyicus* pode causar infecções intramamárias de baixa intensidade (Radostits et al., 2002).

As taxas de resistência a antimicrobianos observadas nesse trabalho foram similares às encontradas por Coelho et al. (2009), que relataram a presença de 57% de isolados de *S. aureus* resistentes a um ou mais antibióticos e que 47% das amostras foram resistentes a Penicilina G. Esses resultados sugerem a disseminação de cepas resistentes nas criações leiteiras de pequeno porte na região estudada. Para utilização adequada de um antibiótico no tratamento, deve-se levar em consideração o resultado do antibiograma e suas propriedades farmacocinéticas (Errecalde, 2004; Radostits et al., 2002).

#### 4 CONCLUSÕES

Os resultados ressaltam a importância do exame microbiológico para identificar os patógenos causadores da mastite e destacam a necessidade da utilização racional de antimicrobianos. Esses fatores são fundamentais para estabelecer medidas de manejo e controle sanitário adequadas às pequenas propriedades leiteiras, a fim de reduzir suas perdas econômicas e melhorar a qualidade da produção.

Financiado pelo CNPq (processo 576761/2008-7).

#### 5 REFERÊNCIAS

BARROW, G. I.; FELTHAM, R. K. A. **Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria**. Cambridge: Cambridge University Press, 2004. 331p..

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **The Veterinary Journal**, Amsterdam, v.163 , n.1, p.1-13, 2002.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. Produção científica brasileira sobre mastite bovina. In: BRITO, J. R. F.; BRESSAN, M. **Controle integrado da mastite bovina**. Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1996. P.68-96.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. **Diagnóstico microbiológico da mastite**. Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, Circular Técnica, n.55, 1999. 26p..

COELHO, S. M. O.; REINOSO, E.; PEREIRA, I. A.; SOARES, L. C.; DEMO, M.; BOGNI, C.; SOUZA, M. M. S. Virulence factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.29, n.5, p.369-374, 2009.

DE OLIVEIRA, A. P.; WATTS, J. L.; SALMON, S. A.; AARESTRUP, F. M. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.83, n.45, p.855-862, 2000.

ERRECALDE, J. O. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. **Estudios FAO: producción y sanidad animal**, Roma, n.162, 2001. 61p..

FONSECA, L. F L., SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2001. 176p..

FOX, L. K.; BAYLES, K. W.; BOHACH, G. A. *Staphylococcus aureus* mastitis In: HONEYMAN, A.; FRIEDMAN, H.; BENDINELLI, M. **Staphylococcus aureus infection and disease**. New York: Kluwer academic/ Plenum publishers, 2001. 13, p.271-294.

LANGONI, H.; PINTO, M. P.; DOMINGUES, P. F.; LISTONI, F. J. P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.43, n.6, p.507-515, 1991.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Online. Disponível em <http://www.ibge.gov.br> acesso em 01 agosto de 2010.

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão**. Wayne: NCCLS, 2003. 58p..

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHICLIFF, K. W. Clínica Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 9ed., p.541-629, 2002.

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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.29, n.1, p. 52-58, 2009.

TAPONEN, S.; PYÖRÄLÄ, S. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis—Not so different from *Staphylococcus aureus*? **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.134, p.29-36, 2009.