

## MASTITE BOVINA: DIAGNÓSTICO ATRAVÉS DE CULTURA E ANTIBIOGRAMA DO LEITE EM PROPRIEDADES DA REGIÃO SUL DO RS

Mirele Bragato<sup>1</sup>; Taís Scheffer Del Pino<sup>2</sup>, Vinicius Copes<sup>2</sup>, Cristina Peter<sup>3</sup>; Tony Picoli<sup>4</sup>; João Luiz Zani<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Aluna de graduação em Medicina Veterinária, UFPEL, Bolsista PROBEC–  
mirelli\_bragatto@hotmail.com

<sup>2</sup>Aluno de graduação em Medicina Veterinária, UFPEL – tais.pino@gmail.com

<sup>3</sup>Aluna de Residência em Saúde Coletiva, Programa de Residência Multiprofissional e em Área da Saúde, UFPEL – cristina\_peter@hotmail.com

<sup>4</sup>Aluno de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPEL–picolivet@gmail.com

<sup>5</sup>Professor adjunto da Faculdade de Veterinária, UFPEL – jluizzani@ig.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

A mastite bovina caracteriza-se como o processo inflamatório da glândula mamária, geralmente de caráter infeccioso, classificada como mastite clínica ou mastite subclínica (OLIVEIRA et al., 2011). A doença pode ser subdividida em duas grandes categorias: contagiosa e ambiental; no caso da contagiosa, as principais bactérias envolvidas são *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus aureus* e *Mycoplasma* spp. Os patógenos ambientais incluem a espécie de estreptococos (*Streptococcus uberis* e o *Streptococcus dysgalactiae*) no grupo de coliformes ambientais, podem-se incluir bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*). Além destes patógenos, fungos, leveduras e algas, podem estar associados à etiologia da mastite (PINTO, 2001; RADOSTITS et al., 2000).

Os prejuízos causados pela mastite bovina correspondem aproximadamente a 25% de todas as doenças de importância econômica (BUSATO et al., 2000). O impacto dessa enfermidade está associado à redução da produção de leite, ao descarte de matrizes, à redução do valor comercial desses animais, às perdas na evolução genética do rebanho, aos gastos com medicamentos e a mão de obra extra (DÜRR et al., 2004).

Os antibióticos são amplamente utilizados no tratamento de afecções da glândula mamária e seu uso errôneo pode acarretar diversos problemas, dentre eles pode-se mencionar a possibilidade de resíduos no leite e resistência de algumas cepas bacterianas (NERO et al., 2007). Na maioria dos casos, a utilização de forma inadequada pode acarretar, na resistência tanto das drogas consideradas clássicas como aquelas recentemente disponíveis no comércio (DA SILVA et al., 2012). Nesse contexto, o antibiograma é um teste muito importante no tratamento dos animais com mastite, pois serve para auxiliar na escolha do antibiótico adequado o que aumenta as possibilidades de cura.

Desse modo, este trabalho teve como objetivo realizar o isolamento, identificação e verificar perfil de sensibilidade dos agentes bacterianos causadores da mastite bovina, a partir do leite bovino de dois rebanhos distintos de duas propriedades localizadas no município de Rio Grande/RS.

### 2. METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho, amostras de leite bovino foram coletadas em duas propriedades distintas (Propriedade A e B) localizadas no município de Rio Grande/RS. O período experimental concentrou-se nos meses de abril e maio de 2015. Para diagnóstico de mastite clínica e subclínica foram realizados os Testes da Caneca de Fundo Escuro e *California Mastitis Test* (CMT), respectivamente.

Nos casos em que a amostra de leite apresentou resultado positivo ao (s) teste(s), foram coletados e armazenados em caixas isotérmicas e encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia e Saúde Populacional UFPEL.

A Propriedade A constava com 28 vacas da raça Holandesa em lactação, com média de produção de 30 litros/dia. Ao total foram coletados leite de 19 vacas, 41 tetos, totalizando 41 amostras coletadas. A propriedade possuía sistema de ordenha mecânico canalizado com tanque de refrigeração de expansão, a sala de ordenha possuía estrutura em madeira e piso cimentado. Realizava pré-dipping e pós-dipping e uma vez por semana o Teste da Caneca de Fundo Escuro, porém não realiza o CMT. Fazia-se uso de tratamento homeopático nas vacas que apresentavam mastite.

A Propriedade B constava com 15 vacas da raça Holandesa em lactação, com média de produção 10 litros/dia/animal. A propriedade possui ordenha mecânica tipo transferidor de leite, tanque de refrigeração de expansão. A propriedade não realizava pré e pós-dipping, apenas lavagem dos tetos. A estrutura da sala de ordenha era de madeira, com piso cimentado, pouca iluminação e permitia o acesso de outras espécies de animais ao local. Para o tratamento de algumas vacas, o produtor fazia o uso de Babosa (*Aloe vera*) e Tansagem (*Plantago major*) e não utilizava-se nenhum medicamento antibiótico. Ao total foram coletados leite de 9 vacas, totalizando 18 tetos e 18 amostras.

O isolamento e identificação das amostras positivas de leite ao CMT foram realizados conforme Krieg & Holt (1994) e para a prova de suscetibilidade a antimicrobianos, os isolados foram submetidos ao teste de suscetibilidade frente aos seguintes antimicrobianos: Oxacilina (01 µg), gentamicina (10 µg), ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), ceftriaxona (30 µg), amicacina (30 µg), vancomicina (30 µg), clindamicina (02 µg). O método usado foi disco-difusão preconizado pelo (NCCLS, 2003) e para leitura dos diâmetros obtidos em milímetros (CLSI, 2005).

Na propriedade A foram coletadas amostras de 41 tetos positivos ao CMT, e na propriedade B, 18 tetos. Estes resultados foram analisados a partir de porcentagens de acordo com cada agente isolado das amostras nas respectivas propriedades, sendo a ocorrência em relação ao total de tetos coletados.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora os gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* sp. sejam os principais causadores de mastite (RANJAN et al., 2006), observou-se uma grande ocorrência do gênero *Corynebacterium* sp. na propriedade A, em 25% dos casos. De acordo com Brito et al. (2009), por se tratar de uma bactéria de crescimento lento, não se recomenda a realização do antibiograma para este gênero. Entretanto, em virtude de ter sido isolado em grande quantidade na propriedade A, fez-se necessário e de grande valia a realização do teste para verificar o perfil de sensibilidade desta bactéria frente aos antimicrobianos testados.

Foram analisadas cinco cepas de *Corynebacterium* sp., sendo possível observar que houve uma significativa sensibilidade dos princípios ativos frente a este patógeno, ocorrendo assim 100% de eficácia de amicacina, ampicilina com

sulbactam, ceftriaxona e vancomocina. Quanto aos resistentes foi observado 40% frente a oxacilina e 20% frente a gentamicina, clindamicina e cefalotina

Na propriedade B o microrganismo de maior ocorrência foi *Streptococcus* spp., foi realizado antibiograma para este microrganismo, totalizando 15 tetos submetidos a tal método. Nessa propriedade também foi isolado o microrganismo *Staphylococcus aureus*, mas com menor ocorrência, apenas um teto.

Para o gênero *Streptococcus* sp., os antimicrobianos testados tiveram significativa resistência foram amicacina e gentamicina com 53,33%, seguidas por oxacilina, vancomocina e ceftriaxona com 13,33% de resistência.

No que refere-se a sensibilidade ao mesmo patógeno, dentre os antimicrobianos sensíveis destacam-se, ampicilina com sulbactam, cefalotina e clindamicina com 100% de eficácia. Ferreira et al. (2010) mostram uma relevante eficácia da cefalotina frente a este patógeno.

Para o gênero *Staphylococcus* sp. obteve-se 100% de sensibilidade frente a todos antimicrobianos testados. Fogaça et al. (2011) também obteve resultados semelhantes em seu estudo, verificou resistência frente à oxacilina (90,3%) e a vancomicina (87,1)..

Ambas propriedades utilizavam tratamento alternativo, sendo que a propriedade A realizava tratamento homeopático e a propriedade B utilizava fitoterapia a base de babosa (*aloe vera*) e tansagen (*Plantago Major*). A homeopatia contribui com a purificação do leite deixando-o livre de resíduos. Pode-se comentar também que no tratamento convencional o animal só é tratado quando apresenta sinais clínicos ou subclínicos. Além disso, a forma de aplicação na maioria das vezes é a intra-mamária, o que se torna estressante e invasivo para o animal.

Em sua pesquisa, OLIVEIRA et al. (2013) demonstrou uma significativa confiabilidade de produtores frente a métodos alternativos, tanto na homeopatia como fitoterápicos no tratamento da mastite, ocorrendo assim uma adesão significativa (maior de 50%) na utilização destes métodos no seus rebanhos.

Portanto, os gêneros encontrados nas propriedades foram, *Corynebacterium*, *Streptococcus* sp e *Staphylococcus* sp. Sendo na propriedade A, o *Corynebacterium*, com 100% de eficácia na amicacina, ampicilina com sulbactam, ceftriaxona e vancomocina e de resistência foi observado 40% frente a oxacilina e 20% frente a gentamicina, clindamicina e cefalotina. E na propriedade B o *Streptococcus* sp., com resistência a amicacina e gentamicina com 53,33%, seguidas por oxacilina, vancomocina e ceftriaxona com 13,33% de resistência e o gênero *Staphylococcus* sp. onde obteve-se 100% de sensibilidade frente a todos antimicrobianos testados.

#### 4. CONCLUSÕES

Através dos dados obtidos das propriedades 1 e 2, conclui-se que há uma grande variabilidade de sensibilidade e resistência dos isolados entre as propriedade. Fato este justificado pelos diferentes tipos de tratamentos adotados entre as propriedades conforme descrito. Dessa forma, ressalta-se a importância antibiograma da realização do teste de sensibilidade, já que este é essencial na busca pelo fármaco correto a ser utilizado no tratamento da mastite bovina e deste modo evitar a ocorrência de resistência bacteriana e diminuir custos com o tratamento.

Como também, realização do teste de sensibilidade para gênero *Corynebacterium*, apesar de não ser indicado, mostra-se de suma importância sua

realização, uma vez que a grande houve ocorrência em uma das propriedades visitadas, sendo que este agente já foi isolado em casos de mastite clínica persistente, e por isso, responsável por alterações da CCS.

Através dos resultados alcançados pode-se observar que os agentes isolados foram mais sensíveis, isso pode ser explicado pela utilização da homeopatia, além disso, as formas alternativas de tratamento, como a homeopatia, vêm ganhando espaço na atividade leiteira pelo desenvolvimento da resistência dos microrganismos em consequência do uso excessivo ou incorreto de antibióticos, o que reforça a sua importância. Porém, essas formas alternativas devem ser realizadas corretamente para ter-se o resultado esperado.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRITO, M.A.V.P. Diagnóstico Microbiológico da Mastite Bovina. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2009, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Ciência Animal Brasileira, 2009. Suplemento 1, p. 1-12.
- DA SILVA MALUF, R; RIBEIRO, A. B. resíduos de antibióticos em leite. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 7, n. 1, 2012.
- DELLA, Camila Pereira Possamai et al. **Adesão à métodos alternativos no manejo sanitário do rebanho leiteiro** em propriedades da região do Planalto Norte de Santa Catarina.
- DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora UPF, 2004. p.38-55.
- FERREIRA, J. L. Bactérias causadoras de mastite subclínica em rebanhos leiteiros no município de Teresina, Piauí. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária ano viii-número**.
- FOGAÇA JÚNIOR, F. A. et al. Sensibilidade antimicrobiana de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas no leite de vacas com mastite subclínica. In: **Embrapa Caprinos e Ovinos-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. Higiene Alimentar, v. 25, n. 194/195, p. 966-968, mar./abr., 2011., 2011.
- FREITAS, M. F. L., et al. "Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus coagulase* positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco." **Biológico, São Paulo** 72.2 (2005): 171-177..
- NERO, L. A. et al. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Cienc Tecnol Aliment**, v. 27, n. 2, p. 391-393, 2007.
- OLIVEIRA, C.M.C.; SOUSA, M.G.S.; SILVA, N.S.; MENDONÇA, C.L.; SILVEIRA, J.A.S.; OAIGEN, R.P.; ANDRADE,S.J.T; BARBOSA, J. D. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**.v.31, n.2, p.104-110. 2011.
- 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 of Veterinary Research and Animal Science**, 2001.
- RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C., HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária – Um tratado de Doenças dos Bovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 9ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 541-629.
- RANJAN, R.; SWARUP, D.; PATRA, R.C. Bovine protothecal mastitis: a review. **Perspectives in Agriculture, Veterinary Sciences, Nutrition and Natural Resources**, v.1, n.17, p.1-7, 2006.

**[C1] Comentário:** Minha sugestão é tirar algumas referências do texto e daqui...tem muitas, como também elas não estão conforme as normas...marquei em amarelo...por exemplo quando colocamos a Revista pode-se abreviar ou não, depende das normas para onde estamos escrevendo. Porém é um ou outro, não os dois como está aqui