

AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASE NEGATIVA FRENTE AOS ANTIMICROBIANOS EM DUAS REGIÕES DO RIO GRANDE DO SUL

JÉSSICA DAL VESCO¹; JULIANA CAROLINA SIEBEL²; JULIANA FERNANDES ROSA²; RAUL HENRIQUE DA SILVA²; NATACHA DEBONI CERESER²; HELENICE DE LIMA GONZALEZ³

¹Universidade Federal de Pelotas – jessica.dalvesco@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – julianasiebel@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – ju_fernandes.r@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – raul_demolay@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – natacha.cereser@ufpel.edu.br

³Universidade Federal de Pelotas – helenicegonzalez@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A mastite é uma doença multifatorial, que cursa com a inflamação da glândula mamária e que tem como fatores determinantes para sua ocorrência as inter-relações entre o hospedeiro, o ambiente e os agentes infecciosos, sendo a mais prevalente e economicamente relevante nos rebanhos leiteiros (FERREIRA et al., 2010; FREITAS et al., 2005; SENHORELLO et al., 2013).

Muitos agentes são responsáveis pela infecção da glândula mamária, porém, as bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. destacam-se por serem os microrganismos de origem contagiosa mais frequentemente isolados em casos de mastite. Dentro do gênero, existem as bactérias conhecidas como *Staphylococcus* coagulase negativa, que são consideradas oportunistas, e estão presentes na pele do teto do animal, na sala de ordenha e nos equipamentos utilizados para a ordenha (SANTOS et al., 2011).

A mastite causada por esses microrganismos causa fibrose interalveolar do tecido mamário, com perda da função secretória e alterações relacionadas à qualidade e quantidade de leite produzido pelos quartos afetados, o que ocasiona perdas expressivas de produção, prejuízos à indústria de laticínios, e ainda representa ameaça à saúde pública, seja pela veiculação de patógenos e suas toxinas, ou devido à presença de resíduos de antibióticos no leite (SANTOS & OLIVEIRA, 2007).

Diante do exposto, o estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a sensibilidade *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase negativa, isolados de casos de mastite subclínica em duas regiões do Rio Grande do Sul, frente aos antimicrobianos comumente utilizados como terapia para a mastite.

2. METODOLOGIA

Foram analisadas amostras de leite de quartos que apresentaram resultados positivos ao *California Mastitis Test* (CMT), coletadas em propriedades localizadas em duas regiões distintas do Rio Grande do Sul. Na Região A, foram coletadas 3120 amostras no período de maio de 2010 a dezembro de 2015, e na Região B, 291 amostras de janeiro a junho de 2016.

Após a desinfecção do teto com algodão embebido em álcool 70°GL, o leite foi coletado em tubo estéril, acondicionado em recipiente refrigerado e encaminhado ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da

UFPel, onde as amostras foram semeadas em ágar-sangue com 6% de sangue desfibrinado, incubadas, invertidas, a 37°C por 24 horas. As colônias que cresceram foram identificadas conforme a metodologia descrita por BRASIL (2000), quanto à coloração de Gram, Catalase, Hemólise e Teste da Coagulase.

Essas colônias foram inoculadas em Caldo de Infusão Cérebro e Coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após, foi preparado o inóculo, para que atingisse a concentração entre 0,5 e 0,7 na densidade óptica, para então, serem semeadas em ágar Mueller Hinton, incubadas a 37° por 24 a 48 horas, a fim de verificar a suscetibilidade aos antimicrobianos, pelo teste de disco difusão de Bauer (BRASIL, 2003).

Os antimicrobianos testados foram Ampicilina (10 µg/disco), Bacitracina (10 µg/disco), Cefalexina (30 µg/disco), Enrofloxacino (10 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).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram cultivadas 3411 amostras de leite, sendo 3120 delas pertencentes a Região A e 291 da Região B. Respectivamente, 46% e 39% dos isolados foram identificados como *Staphylococcus coagulase negativa*.

A partir do isolamento destes agentes, foi realizado o teste de sensibilidade para dez agentes antimicrobianos. Na Região A, 90% das amostras mostraram resistência a Penicilina e 70% à Gentamicina. Foram sensíveis à Bacitracina e Cefalexina. Na Região B, 59% das amostras foram resistentes à Trimetoprima e 53% à Penicilina e apenas 2% das amostras apresentaram resistência para Enrofloxacin. Na Tabela 1, o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos das duas regiões pode ser observado.

Tabela 1 - Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos para *Staphylococcus coagulase negativa* de duas regiões do Rio Grande do Sul.

Princípio Ativo	Região A		Região B	
	R	S	R	S
Ampicilina (10 µg/disco)	15%	85%	47%	53%
Bacitracina (10 µg/disco)	13%	87%	41%	59%
Cefalexina (30 µg/disco)	20%	80%	32%	68%
Enrofloxacin (10 µg/disco)	15%	85%	2%	98%
Gentamicina (10 µg/disco)	70%	30%	20%	80%
Neomicina (30 µg/disco)	57%	43%	30%	70%
Norfloxacin (10 µg/disco)	15%	85%	19%	81%
Penicilina G (10 µg/disco)	90%	10%	53%	47%
Tetraciclina (30 µg/disco)	39%	61%	29%	71%
Trimetoprima (5 µg/disco).	25%	75%	59%	41%

Os *Staphylococcus coagulase negativo* (SCN) são frequentemente isolados de rebanhos leiteiros, geralmente associados a casos subclínicos ou clínicos de intensidade leve. Por serem considerados oportunistas por alguns autores (PHILPOT & NICKERSON, 1991), são comumente encontrados em amostras de

mastite subclínica, sendo relatado por CUNHA et al. (2006), FREITAS et al. (2005) e OLIVEIRA et al. (2011), onde em propriedades leiteiras no Pará, os SCN corresponderam a 32,3% dos microorganismos encontrados.

A resistência aos beta-lactâmicos, como a penicilina e ampicilina, e à tetraciclina, que são antimicrobianos comumente utilizados no tratamento de processos infecciosos da glândula mamária, foi identificada nas duas regiões, o que demonstra a baixa efetividade *in vitro* contra SCN se comparados aos outros princípios ativos testados (SANTOS et al., 2011). Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores (FERREIRA et al., 2010; SENHORELLO et al., 2013), concordando que a utilização desses antimicrobianos deve ser avaliada com critério, a fim de garantir a eficácia do tratamento contra os agentes presentes no rebanho.

SANTOS et al. (2011) relatou índices de resistência inferiores a 5% para princípios ativos como as cefalosporinas, gentamicina, novobiocina, cloranfenicol, nitrofurantoína, polimixina B e para as associações de sulfametoxazol e trimetoprim e de neomicina, bacitracina e tetraciclina. Em desacordo, na região A, a gentamicina apresentou resistência a 70% dos isolados, e na região B, o trimetoprim apresentou o maior índice de resistência. A utilização de bacitracina também mostrou eficácia em estudo de SENHORELLO et al. (2013), podendo ainda ser associada a neomicina e tetraciclina (NEVES et al., 2010), concordando com os resultados obtidos na região A, onde ela apresenta baixo índice de resistência.

Em conformidade com SANTOS et al. (2011), onde o enrofloxacinol apresentou efetividade *in vitro* de 100% frente aos isolados testados, nas duas regiões estudadas ele apresentou alta sensibilidade, chegando a 98% na região B. Sendo assim, este se torna opção de tratamento em mastites ocasionadas por SCN.

As diferenças encontradas nos resultados de diferentes estudos podem ser atribuídas a fatores genéticos, ambientais ou ainda relacionadas ao manejo dos animais durante a ordenha, higiene das instalações e equipamentos e sanidade do rebanho, sendo esse o motivo da mastite ser considerada uma doença multifatorial, que é controlada com a adoção de boas práticas de higiene associada à terapia antimicrobiana. A realização de antibiogramas é de extrema importância na rotina de controle da mastite subclínica no rebanho, pois permite a escolha do agente antimicrobiano mais apropriado, reduz custos com tratamento e reduz o aparecimento de cepas resistentes.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que a mastite é uma doença importante na bovinocultura leiteira, pois é responsável por prejuízos econômicos para o produtor, com gastos em medicamentos, mão de obra, e por ocasionar queda da produção de leite e diminuição da qualidade e do rendimento do produto na indústria.

Observa-se que existe o aparecimento de resistência aos antimicrobianos comumente utilizados para o controle de mastite bovina, por isso, deve ser ressaltada a importância da identificação do agente, da realização do teste de sensibilidade e da escolha adequada da droga antimicrobiana, a fim de diminuir a pressão seletiva dos microrganismos frente a elas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

CUNHA, A. P.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; SILVA, D. R.; OLIVEIRA, A. A. F.; SILVA, K. P. C.; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de agentes contagiosos e ambientais isolados de mastite clínica e subclínica de búfalas. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.73, n.1, p.17-21, 2006.

FERREIRA, J. L.; PIGATTO, C. P.; LINS, J. L. F. H. A.; AGUIAR FILHO, J. L. C.; CAVALCANTE, T.V. Bactérias causadoras de mastite subclínica em rebanhos leiteiros no município de Teresina, Piauí. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. n.14, 2010.

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JR, J. W.; STAMFORD, T. L. M.; RABELO, S. S. A.; SILVA, D. R.; SILVEIRA FILHO, V. M. S.; SANTOS, F. G. B.; SENA, M. J.; 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. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.2, p.171-177, 2005.

NEVES P. B.; MEDEIROS E. S.; SÁ V. V.; CAMBOIM E. K. A.; GARINO JR F.; MOTA R. A.; AZEVEDO S. S. Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30 n.5, p.379-384, 2010.

OLIVEIRA, C.M.C.; SOUSA, M.G.S.; SILVA, N.S.; MENDONÇA, C.L.; SILVEIRA, J.A.S.; OAIGEN, R.; ANDRADE, S. J. T. & BARBOSA, J. D. Prevalência e etiologia da mastite bovina em rebanhos leiteiros na região de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 31(2): 104-110. 2011.

SANTOS, M.V; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2007, 314p.

PHILPOT,W.N. & NICKERSON, S.C. **Mastitis counter attack: A strategy to combat mastitis**. Babson Bros, Naperville. 150p. 1991.

SANTOS, L. L. dos; COSTA, G. M. Da; PEREIRA, U. P; SILVA, M. A.; SILVA, N. Mastites clínicas e subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus coagulase-negativa*. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 70, n. 1, 2011.

SENHORELLO, I.L.S; BEZERRA, A. O.; SANTOS, R. P. S.; FERREIRA, P. G.; STARLING, R.Z.C.; DONATELE, D.M.; CLIPES, R.C. Prevalência, etiologia, sensibilidade microbiana e fatores de risco associados à mastite no rebanho leiteiro bovino do Município de Alegre, Espírito Santo, Brasil. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 22, Ed. 245, Art. 1619, Novembro, 2013.