

## AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NEGATIVA* FRENTE AOS ANTIMICROBIANOS

JÉSSICA DAL VESCO<sup>1</sup>; JULIANA CAROLINA SIEBEL<sup>2</sup>; JULIANA FERNANDES ROSA<sup>2</sup>; RAUL HENRIQUE DA SILVA<sup>2</sup>; NATACHA DEBONI CERESER<sup>2</sup>; HELENICE DE LIMA GONZALEZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – jessica.dalvesco@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – julianasiebel@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – ju\_fernandes.r@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – raul\_demolay@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – natacha.cereser@ufpel.edu.br

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – helenicegonzalez@hotmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A mastite é uma doença multifatorial, caracterizada por um processo inflamatório da glândula mamária, podendo ser causada por vários patógenos, tendo a influência do meio ambiente e de fatores inerentes a cada animal (COSER et al., 2012).

A mastite pode ser classificada quanto à forma de manifestação, em mastite clínica, quando as alterações são visíveis macroscopicamente e mastite subclínica, quando as alterações não são visíveis a olho nu (FONSECA & SANTOS, 2000). De acordo com LANGONI (2015) e SANTOS et al. (2011), a mastite pode ser de origem ambiental ou contagiosa, sendo que a de origem ambiental é causada por microorganismos que estão na sala de ordenha, nas camas, no ambiente em que o animal é mantido, cuja infecção vai ocorrer principalmente após a ordenha. A mastite de origem contagiosa é aquela causada por micro-organismos que tem como reservatório a glândula mamária, onde se destacam as bactérias do gênero *Staphylococcus* spp., que são transmitidas de um animal infectado para outro durante a ordenha, através das mãos do ordenhador, dos equipamentos de ordenha e fômites utilizados. Dentro do gênero, existem as bactérias conhecidas como *Staphylococcus* coagulase negativos, que são considerados oportunistas (SANTOS et al, 2011).

A mastite bovina é um dos principais problemas na bovinocultura leiteira, causando prejuízos econômicos aos produtores rurais que praticam essa atividade em consequência da diminuição na produção e na qualidade do leite (COSER et al, 2012). O controle da enfermidade é realizado através da adoção de medidas higiênico-sanitárias, e também pelo uso da antibioticoterapia (NADER FILHO et al., 2007). Entretanto, muitas vezes os antimicrobianos são utilizados de forma errônea e abusiva, colaborando para o aumento da resistência dos patógenos (ZANETTE et al., 2010).

O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a sensibilidade *in vitro* de *Staphylococcus coagulase negativa* isolados de casos de mastite subclínica frente aos antimicrobianos comumente utilizados como terapia para a mastite

### 2. METODOLOGIA

No período de maio de 2010 a dezembro de 2015, foram coletadas 3120 amostras de leite de quartos que apresentaram resultados positivos ao *California Mastitis Test* (CMT). Após a desinfecção do teto com algodão embebido em álcool

70ºGL, 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 37ºC 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.

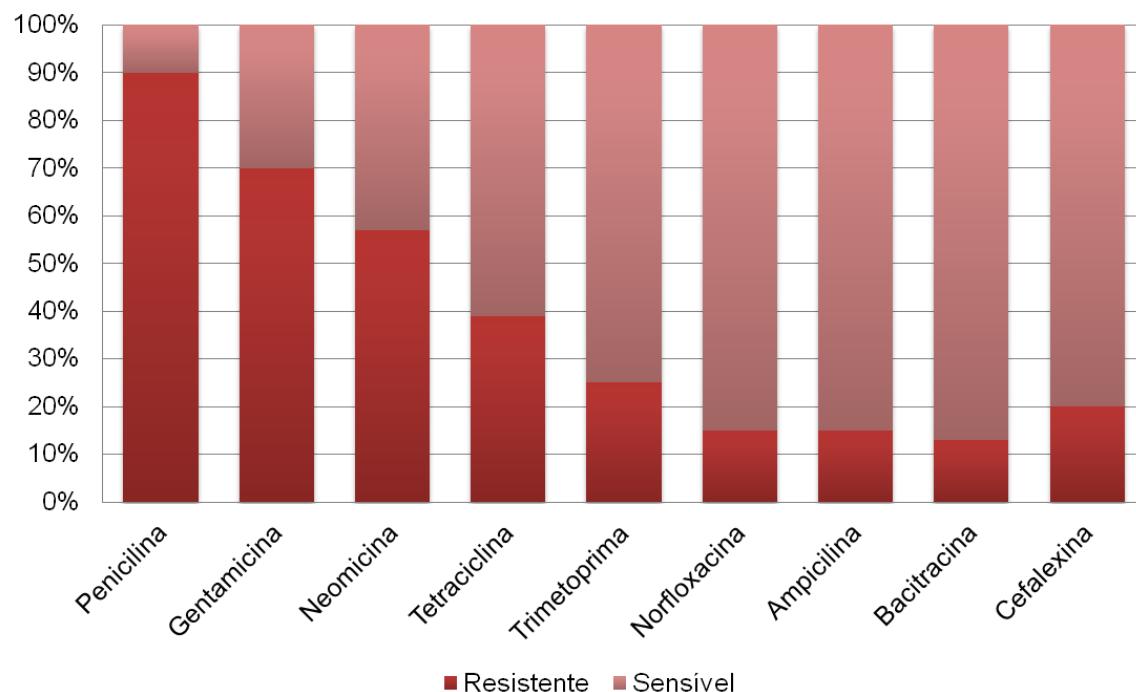
Essas colônias foram inoculadas em Caldo de Infusão Cérebro e Coração (BHI) e incubadas a 37ºC por 24 horas. Após, foi preparado o inóculo, para que atingisse a concentração entre 0,5 e 0,7 na densidade óptica, para então, serem semeadas em ágar Mueller Hinton, incubadas a 37º por 24 a 48 horas, a fim 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), Gentamicina (10 µg/disco), Neomicina (30 µg/disco), Norfloxacina (10 µg/disco), Penicilina G (10 µg/disco), Tetraciclina (30 µg/disco) e Trimetoprima (5 µg/disco).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 3120 amostras e em 46% delas foram identificados *Staphylococcus* coagulase negativa, que foram submetidas ao teste de sensibilidade para nove principios ativos antimicrobianos. Destas, 90% apresentaram resistência a Penicilina. Apresentaram resistência também a Gentamicina, Neomicina, Tetraciclina e Trimetoprima. Os *Staphylococcus* coagulase negativa apresentaram sensibilidade a Bacitracina e Cefalexina. Na Figura 1, é possível verificar o percentual de resistência para cada princípio ativo.

Figura 1: Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* coagulase negativa



O estudo apresentou elevada ocorrência de *Staphylococcus* coagulase negativa em isolados de mastite subclínica, o que está de acordo com estudos

realizados por CUNHA et al. (2006) e LANGONI (2015), evidenciando a importância destes agentes no processo infeccioso da glândula mamária.

A resistência aos antibióticos beta-lactâmicos, como a apresentada nesse estudo à Penicilina, é comumente encontrada em diversos rebanhos leiteiros, demonstrando eficácia limitada no tratamento da mastite bovina (ZANETTE et al., 2010). A baixa eficiência dessa droga frente às bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. foi relatada por CUNHA et al. (2006), onde 90% das amostras apresentaram resistência à Penicilina e por SOARES et al. (2012), que identificou 100 isolados de *Staphylococcus* coagulase negativa em amostras coletadas no Rio de Janeiro, onde os princípios ativos Penicilina, Ampicilina e Tetraciclina apresentaram maiores taxas de resistência.

Em estudo realizado na microrregião Ilhéus-Itabuna, na Bahia, OLIVEIRA et al. (2012) relatou que a Gentamicina foi o antibiótico que apresentou o menor percentual de resistência a todos os microorganismos testados, sendo observada em apenas três das 45 colônias de *Staphylococcus* coagulase negativa. Em desacordo com este trabalho, onde 70% das amostras foram resistentes à Gentamicina.

O aparecimento da multirresistência desses microorganismos foi relatado por SCHULTZ (2004) e SOARES et al. (2012), onde os isolados de *Staphylococcus* coagulase negativa apresentaram resistência a dois ou mais agentes antimicrobianos. Por essa razão, destaca-se a importância do uso correto desses medicamentos, evitando a subdosagem, a realização de tratamentos ineficazes e assim, o aparecimento de cepas resistentes, que não respondem aos tratamentos disponíveis para o tratamento de mastite.

#### 4. CONCLUSÕES

A determinação da suscetibilidade dos agentes isolados em vacas com mastite e da resistência a antimicrobianos comumente indicados no tratamento de infecções da glândula mamária revela a necessidade da realização periódica de testes de sensibilidade *in vitro*, a fim de realizar o isolamento do agente, identificá-lo e aplicar a terapia adequada, evitando assim o desenvolvimento de resistência dos microrganismos frente aos medicamentos mais utilizados, o que pode comprometer o controle de mastite no rebanho.

## 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.

COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M.. **Mastite Bovina: Controle e Prevenção.** Boletim técnico- n.º 93, p. 1-30, Lavras-MG, 2012.

CUNHA, A.P.; SILVA, L.B.G.; PINHEIRO, 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. *Arq. Inst. Biol.*, 73 : 17-21, 2006.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite.** São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

LANGONI, H.; GUIMARÃES, F.F.; COSTA, E.O.; JOAQUIM, S.F. & MENOZZI, B.D. Celularidade do leite e Unidades Formadoras de Colônias nas mastites causadas por *Staphylococcus coagulase positiva* e *coagulase negativa*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, 35(6):518-524, 2015.

NADER F.A.; FERREIRA, L.M.; AMARAL, L.A.; JUNIOR, O.R. & OLIVEIRA, R.P. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Arqs Inst. Biológico**, São Paulo, 74(1):1-4, 2007.

OLIVEIRA, U.V.de ; GALVÃO, G. da S.; RIBEIRO, A.R. da P.; ANDREOLI, J.L. & MUNHOZ, A.D. Eficácia in vitro da gentamicina sobre bactérias isoladas de vacas com mastite subclínica na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 34(3): 213-218, 2012.

SANTOS, L.L dos; COSTA, G.M.; PEREIRA, U.P.; SILVA, M.A.; SILVA, N.A. Mastites clínicas e subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus coagulase-negativa*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.70, n.1, p.1-7, 2011.

SCHULTZ, R.P.J.; SMITH, K.L.; HOGAN, J.S.; LOVE, B.C. Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogenens from first lactation and older cows. **Vet. Microbiol.** v.102, p. 33-42, 2004.

SOARES, L.C.; PEREIRA, I.A.; PRIBUL, B.R.; OLIVA, M.S.; COELHO, S.M.O.; SOUZA, M.M.S. Antimicrobial resistance and detection of *mec* and *blaZ* genes in coagulase-negative *Staphylococcus* isolated from bovine mastitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.32, n.8, p. 692-696, 2012.

ZANETTE, E.; SCAPIN, D.; ROSSI, E.M. Suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de bovinos com suspeita de mastite. **Unoesc & Ciência – ACBS**, Joaçaba, v.1, n.1, p. 65-70, 2010.