

IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANAS DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MASTITE EM VACAS NO HOSPITAL VETERINÁRIO ROQUE QUAGLIATO

PROFILE OF ANTIMICROBIAL SENSITIVITY AND IDENTIFICATION OF MASTITE CAUSING BACTERIA IN COWS AT ROQUE QUAGLIATO VETERINARY HOSPITAL

¹DE SOUZA, Wennely Karoline da Costa; ¹VIEIRA, Susana Eduardo; ¹SILVA, Myleny Barrieli; ¹PALOSQUI, Mariana Dêgelo; ¹RIBEIRO, Ingrid Stephanie Volpe; ¹GABERLLOTTO, Marília Gabriela; ²MARTINS, Tainara de Oliveira; ²DE OLIVEIRA, Paula Lima.; ²BOSCULO, Maria Rachel Melo; ³BARROS, Luiz Daniel; ³RODRIGUES, Claudia Yumi Matsubara; ³STURION, Thiago Torrecillas; ³DE ALMEIDA, Breno Fernando Martins

¹Discente, Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio), Ourinhos, São Paulo, Brasil.

²Laboratório de Diagnóstico Veterinário, Hospital Veterinário "Roque Quagliato", Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio), Ourinhos, São Paulo, Brasil.

³Docente, Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio), Ourinhos, São Paulo, Brasil.

RESUMO

A mastite bovina é a inflamação da glândula mamária, responsável por alterações no tecido glandular e comprometimento da produção leiteira. Bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. estão entre os principais agentes etiológicos e são comumente resistentes a diversos antimicrobianos, o que pode limitar ainda mais a escolha do antibiótico para o tratamento dessa patologia, sendo um dos maiores problemas da atualidade. Nesse aspecto, o presente estudo teve como objetivo identificar os principais agentes bacterianos envolvidos nos quadros de mastite em vacas e avaliar o perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana dos agentes isolados. Foi realizado um levantamento retrospectivo a partir dos laudos dos exames de cultura e antibiograma de fêmeas bovinas com mastite atendidos no Hospital Veterinário Roque Quagliato entre dezembro de 2016 a junho de 2020 a fim de identificar o agente etiológico e observar o nível de resistência aos diferentes antibióticos, por meio de cultura e teste de sensibilidade antimicrobiana. Ao todo, foram submetidas 63 amostras de leite para cultura de vacas com suspeita de mastite, sendo que 53 amostras apresentaram crescimento bacteriano. O *Staphylococcus* spp. (28/53; 52,83%) foi o agente mais frequente isolado. Houve mais de um tipo bacteriano isolado em 47,16% das amostras. Verificou-se perfis de sensibilidade predominantemente para os antimicrobianos sulfazotrim, ceftiofur e neomicina. O maior percentual de resistência foi à cefalotina (53,48%). Conclui-se que o *Staphylococcus* spp. foi a bactéria mais isolada de amostras lácteas de vacas com mastite na região de Ourinhos-SP. Vale ressaltar a importância do perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana, sendo imprescindível a realização de testes de cultura e antibiograma, pois estes auxiliam no tratamento correto, bem como manejo e prevenção de novos casos.

Palavras-chave: Leite; Microbiologia; Resistência.

ABSTRACT

Bovine mastitis is inflammation of the mammary gland, responsible for changes in glandular tissue and impaired milk production. Bacteria of the genus *Staphylococcus* spp. they are among the main etiological agents and are commonly resistant to several antimicrobials, which may further limit the choice of antibiotics for the treatment of this pathology, being one of the biggest problems today. In this regard, the present study aimed to identify the main bacterial agents involved in mastitis in cows and to evaluate the sensitivity and antimicrobial resistance profile of the isolated agents. A retrospective survey was carried out based on the reports of the culture and antibiogram exams of bovine females with mastitis seen at the Veterinary Hospital Roque Quagliato between December 2016 and June 2020 in order to identify the etiological agent and observe the level of resistance to

different antibiotics. By means of culture and antimicrobial sensitivity test. Altogether, 63 samples of milk were submitted for cultivation of cows with suspected mastitis, with 53 samples showing bacterial growth. *Staphylococcus* spp. (28/53; 52.83%) was the most frequent agent isolated. There was more than one bacterial type isolated in 47.16% of the samples. Sensitivity profiles were found predominantly for the antimicrobials sulfazotrim, ceftiofur and neomycin. The highest percentage of resistance was to cephalothin (53.48%). It is concluded that *Staphylococcus* spp. was the most isolated bacterium from milk samples from cows with mastitis in the region of Ourinhos-SP. It is worth mentioning the importance of the antimicrobial sensitivity and resistance profile, and culture and antibiogram tests are essential, as they help in the correct treatment, as well as the management and prevention of new cases.

Keywords: Microbiology; Milk; Resistance.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é a inflamação da glândula mamária, responsável por alterações no tecido glandular (OLIVEIRA *et al.*, 2011). É a principal afecção do gado leiteiro, estabelecendo um fator limitante na produção rural, já que causa diminuição significativa da produção de leite (LAZZARI *et al.*, 2014), causando perda de 15% da produção (LADEIRA, 2007).

Existem duas formas de apresentação da doença, a clínica e a subclínica. A primeira é definida por alterações visíveis no leite como presença de grumos somado ou não ao processo inflamatório da glândula mamária com sinais que incluem dor, rubor, calor e edema. A mastite ambiental é causada por microrganismos não adaptados ao animal que atuam como patógenos oportunistas. Os principais patógenos nesse caso são *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Streptococcus uberis* e *Streptococcus dysgalactiae* (MULLER, 2002).

Já a mastite subclínica é caracterizada por um elevado número de leucócitos (células somáticas) na glândula acometida. Testes para diagnóstico nessa fase incluem o *California Mastitis Test* (CMT), Contagem de Células Somáticas (CCS) ou cultura bacteriana (SMITH, 1994). A maior causa de prejuízos está justamente na fase subclínica da doença, haja vista que, por ser silenciosa, não desperta a atenção do proprietário em relação aos animais doentes. A mastite pode ainda ser contagiosa, quando a glândula mamária acometida é fonte de infecção para as demais glândulas saudáveis, sendo que patógenos frequentemente associados incluem *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Mycoplasma* spp. (COSER *et al.*, 2012).

Bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. estão entre os principais agentes etiológicos e são comumente resistentes a diversos antimicrobianos, o que limita ainda mais a escolha do antibiótico para o tratamento (COELHO *et al.* 2009). A

prevalência do *Staphylococcus* spp. causando mastite no rebanho leiteiro varia de 7% a 40%, sendo então o gênero mais observado (RADOSTITS *et al.*, 2002; MENDONÇA *et al.*, 2012; MORITZ e MORITZ, 2016).

Um dos maiores problemas da atualidade é o desenvolvimento de cepas resistentes aos antibióticos, ou seja, que não apresentam resposta satisfatória ao tratamento, aumentando assim o risco de morte do animal (ALEKISH *et al.*, 2013). Mateu e Martin (2001) demonstraram que ao longo dos anos houve grande aumento de resistência aos antimicrobianos em vacas leiteiras com mastite, cerca de 20% para gentamicina (aumento de 17%) e 86% para penicilina (aumento de 46%).

Há um grande impacto na saúde pública em relação ao antibiótico usado para o tratamento da mastite, visto que a presença de resíduos no leite interfere com o processo de produção de queijos e produtos fermentáveis, além de causar problemas na saúde nos consumidores (TOZZETTI *et al.*, 2008).

Nesse aspecto, o presente estudo teve como objetivo identificar os principais agentes bacterianos envolvidos nos quadros de mastite em fêmeas bovinas e avaliar o perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um levantamento retrospectivo a partir dos laudos dos exames de cultura e antibiograma de vacas com mastite atendidas no Hospital Veterinário Roque Quagliato entre dezembro de 2016 a junho de 2020 a fim de identificar o agente etiológico e o perfil de sensibilidade antimicrobiana de amostras de leite de vacas para confirmação de mastite. Ao todo, foram submetidas 63 amostras de leite para cultura de vacas com sinais clínicos compatíveis com mastite como tetos inchados e presença de grumos no teste da caneca de fundo preto (BENEDETTE *et al.*, 2008), sendo que 53 apresentaram crescimento bacteriano.

O cultivo bacteriano foi realizado semeando-se a amostra de leite nos meios de cultura ágar base enriquecido com sangue de carneiro a 5% e ágar MacConkey. As placas foram mantidas em condições de aerobiose a 37°C por 18 a 48 h. Após o crescimento bacteriano, as amostras foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana utilizando a técnica de difusão em disco com ágar Mueller Hinton, segundo metodologia previamente estabelecida (Bauer *et al.* 1966) e utilizando-se discos de antibióticos comerciais (LaborClin, Pinhais-PR, Brasil) segundo seleção do médico veterinário responsável pelo caso. A identificação dos microrganismos foi

realizada segundo as características da colônia bacteriana e pela utilização de reagentes comerciais para identificação bioquímica (Sistema Bactray de identificação bacteriana, LaborClin, Pinhais-PR, Brasil), segundo as instruções do fabricante. Após adequada identificação, pela avaliação do halo de inibição no teste de sensibilidade antimicrobiana, as bactérias causadoras de mastite foram consideradas sensíveis (S), intermediárias (I) ou resistentes (R) aos antibióticos testados de acordo com critérios previamente estabelecidos (NCCLS, 2003).

Dos antibióticos testados, foram considerados apenas os antimicrobianos que foram testados em todas as amostras utilizadas para o estudo, de forma que fosse possível a comparação, sendo, portanto, selecionados os seguintes antibióticos: cefalotina, cefalexina, ceftiofur, ciprofloxacina, enrofloxacino, estreptomicina, gentamicina, neomicina, sulfazotrim e tetraciclina.

RESULTADO E DISCUSSÃO

No presente estudo, *Staphylococcus* spp. estavam em todas as 53 amostras (53/63), sendo que dessas, em 28/53 apenas *Staphylococcus* spp. foram isolados (Tab. 1). De fato, a maioria dos casos de mastite no Brasil está associada à infecção por *Staphylococcus* spp. coagulase negativos (ZANETTE *et al.*, 2010), o que também corrobora com vários outros estudos (MARQUES *et al.*, 2013; MENDONÇA *et al.*, 2012; MORITZ e MORITZ, 2016). Saeki *et al.* (2011) afirmam que o gênero *Staphylococcus* spp. está presente em 74,6% dos casos de mastite.

Tabela 1 – Agentes bacterianos isolados de vacas com mastite atendidos no Hospital Veterinário Roque Quagliato entre dezembro de 2016 a junho de 2020.

Bactérias isoladas	Número de amostras	%
<i>Staphylococcus</i> spp.	28	52,83
<i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Streptococcus</i> spp.	17	32,07
<i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Klebsiella oxytoca</i>	5	9,43
<i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Escherichia coli</i>	3	5,67
Total	53	100

Houve mais de um tipo bacteriano isolado em 47,16% das amostras. Zimmerman e Araujo (2017) relataram que cerca de 47,47% das amostras tinham mais de um tipo bacteriano isolado sendo justificado pelo fato de ocorrer infecções

mistas, possível contaminação na hora da coleta do leite ou ainda pela coleta de mais de um quarto mamário.

Tabela 2 – Perfil de sensibilidade a antimicrobianos de microrganismos isolados de vacas com mastite atendidos no Hospital Veterinário Roque Quagliato entre dezembro de 2016 a junho de 2020.

Antimicrobiano	Sensível	Intermediário	Resistente
Cefalotina	46,52% (20/43)	-	53,48% (23/43)
Cefalexina	69,76% (30/43)	6,97% (3/43)	23,27% (10/43)
Ceftiofur	93,03% (40/43)	-	6,97% (3/43)
Ciprofloxacina	90,03% (40/43)	2,32% (1/43)	7,65% (2/43)
Enrofloxacina	86,04% (37/43)	2,32% (1/43)	11,64% (5/43)
Estreptomicina	62,79% (27/43)	-	37,21% (16/43)
Gentamicina	69,77% (30/43)	-	30,23% (13/43)
Neomicina	90,69% (39/43)	-	9,31% (4/43)
Sulfazotrim	93,03% (40/43)	-	6,97% (3/43)
Tetraciclina	81,38% (35/43)	9,31% (4/43)	9,31% (4/43)

Verificou-se que 86,04% dos *Staphylococcus* spp., gênero bacteriano mais frequentemente isolado, foram sensíveis à enrofloxacina (Tab. 2), corroborando com Zimmerman e Araujo (2017), que verificaram que 86,95% dos isolados eram sensíveis à enrofloxacina, sendo o antibiótico mais eficiente entre os testados pelos autores. Já no presente estudo, a melhor eficácia antimicrobiana foi verificada para sulfazotrim (93,03%), ceftiofur (90,03%) e neomicina (90,69%).

Observou-se apenas 9,31% de resistência à tetraciclina (Tab. 2), resultado semelhante ao observado por Oliveira e Medeiros (2015), que detectaram 9,3% de resistência a esse antibiótico em 118 amostras.

O maior percentual de resistência foi da cefalotina (53,48%) (Tab. 2). Silva et al. (2012) observaram que cerca de 100% das amostras oriundas de vacas com mastite testadas eram sensíveis à cefalotina, porém esse resultado deve ser avaliado com cautela visto que este antibiótico é um beta-lactâmico (ANON, 2008).

CONCLUSÃO

Conclui-se que os *Staphylococcus* spp. foram o gênero bacteriano mais frequentemente isolados nas amostras lácteas de vacas com mastite e que os antimicrobianos que apresentaram melhor eficácia foram sulfazotrim, ceftiofur e

neomicina para amostras provenientes da região de Ourinhos-SP. Vale ressaltar a importância do perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana, sendo imprescindível a realização de testes de cultura e antibiograma, pois estes auxiliam no tratamento correto, bem como manejo e prevenção de novos casos.

REFERÊNCIAS

ALEKISH, M.O.; QUDAH, K.M.A.; SALEH, A.A. Prevalence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens isolated from mastitis in northern Jordan. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Jordan, v.164, n.6, p.319-326, 2013.

ANON. Clinical Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**. 3th ed. Wayne: CLSI, p. 116, 2008.

BENEDETTE, M. F.; SILVA, D.; ROCHA, F.P.C. Mastite bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 7, n. 11, p. 9, 2008.

COELHO, S.M.O. et al. Virulence factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Rio de Janeiro. **Pesq. Vet. Bras.** v. 29, p. 369-374, 2009.

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

LADEIRA, S.R.L. Mastite bovina. In: RIET-CORREA F., SCHILD A.L., LEMOS R.A.A. & BORGES J.R.J. (Eds), **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**. Vol.1. 3ª ed. Editora Pallotti, Santa Maria, 2007. p.359-370.

LAZZARI, A.M. et al. Produção de interleucina -1 beta e severidade da mastite pós - inoculação de *S. aureus* na glândula mamária de bovinos e bubalinos. **Ciência Rural**, v. 44, n. 10, p. 1816-1822, 2014.

MARQUES, V.F. et al. Análise fenotípica e genotípica da virulência de *S. spp.* e de sua dispersão clonal como contribuição ao estudo da mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 161-170, 2013.

MATEU, E.; MARTIN, M. Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? **Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, Berlin, v. 48, n. 8, p. 569-581, 2001.

MENDONÇA, E.C.L. et al. Caracterização fenogenotípica da resistência antimicrobiana em *Staphylococcus spp.* Isolados de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 859-864, 2012.

MORITZ, F.; MORITZ, C.M.F. Resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus spp.* associados à mastite bovina. **Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.**, v. 3, n. 2, p. 132-13, 2016.

MULLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. II Sul-Leite, **Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil**, Maringá, PR, p.206-217, 2002.

OLIVEIRA, C.M. et al. 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.

OLIVEIRA, M.R.M.; MEDEIROS, M. Agentes causadores de mastite e resistência bacteriana. **REJET - Revista Científica de Medicina Veterinária**. v.2, n. 1, p. 45-50, 2015.

RADOSTITS, O.M. et al. Mastite. In: **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, caprinos e equinos**. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan. Cap. 15, p. 541-629, 2002.

SAEKI, E. K. et al. Mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: Sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. **Acta Veterinária Brasilica**, Londrina, v. 5, n. 3, p. 284-290, 2011.

SILVA, E.R. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus aureus* isolado de mastite subclínica bovina. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** v.13, n. 3, p. 701-711, 2012.

SMITH, B. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**, v. 2, São Paulo: Manole, p. 1784, 1994.

TOZZETTI, D.S.; BATAIER, M.B.N.; ALEMIDA, L.R. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas: revisão de literatura. **Revta Cient. Eletron. Med. Vet.** v. 6, n. 10, p. 1-7, 2008.

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

ZIMMERMAN, F.K.; ARAUJO, M.E.M. Mastite bovina: agentes etiológicos e susceptibilidade a antimicrobianos. **Rev. Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 12, n. 1, p.1-7, 2017.