



MASTITE BOVINA: AGENTES ETIOLÓGICOS E SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

BOVINE MASTITIS: ETIOLOGICAL AGENTS AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY

Katia Fabiane Zimermann¹

Maria Eugênia Moraes Araújo²

¹Acadêmica do curso de Medicina Veterinária da Faculdade Integrado de Campo Mourão – PR. Campo Mourão – PR. E-mail: katia_zimer@hotmail.com

²Professora do curso de Medicina Veterinária da Universidade Guarulhos

Artigo
Completo

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo verificar os principais agentes causadores de mastite bovina, e sua susceptibilidade aos antimicrobianos a partir de amostras encaminhadas ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade Integrado de Campo Mourão, PR durante os meses de Fevereiro a Novembro do ano de 2014. Foram recebidas 44 amostras provenientes da região de Campo Mourão/ PR, com a finalidade de identificar o agente e realizar um tratamento de forma correta, por meio de cultura e antibiograma respectivamente. As amostras foram semeadas em meios de Ágar sangue e Ágar Macconkey, e incubadas por 48 horas em 37°C. Após o crescimento foram realizadas várias provas de acordo com a identificação de cada microrganismo. Os antibiogramas foram realizados pelo método de difusão em disco. A partir dos resultados de identificação constatou-se a presença de *Staphylococcus ssp* em 58,97% das amostras, *Streptococcus spp.* em 33,33%, *Enterococcus ssp.* em 12,82 %, *Bacillus ssp.* em 10,25%, *Corynebacterium ssp.* em 10,25%, *Escherichia coli* em 5,12%, *Yersinia ssp.* em 2,56%, e *Klebsiella ssp.* em 2,56%. Verificou-se que 86,95 % dos *Staphylococcus spp.*, gênero bacteriano mais isolado, foram sensíveis a enrofloxacin. Já a penicilina mostrou-se com um maior perfil de resistência bacteriana (47,82%) entre as amostras de *Staphylococcus spp.*. Nos *Streptococcus spp.* isolados o antibiótico que obteve o melhor perfil de sensibilidade foi a enrofloxacin (69,23 %), enquanto a tetraciclina mostrou-se com um maior perfil de resistência (38,46%). Conclui-se que os testes de cultura e antibiograma auxiliam na identificação do agente e na escolha do tratamento correto, evitando a disseminação da resistência aos antimicrobianos.

Palavra-chave: antibiograma; cultura; glândula mamária; infecção; microrganismos..

ABSTRACT

This study aimed to verify the occurrence of bovine mastitis caused by different microorganisms and its antimicrobial susceptibility from samples sent to the Laboratory of Preventive Veterinary Medicine of the Faculty of Integrated Campo Mourão during the months of February to November of 2014. 44 samples were received from the field region gatepost, in order to identify the agent and perform a treatment in a correct manner, through the culture and sensitivity respectively. Samples were plated on blood agar media and MacConkey agar and incubated for 48 hours at 37 ° C. After growth of several tests were performed according to the identification of each microorganism. The antibiograms were performed by disk diffusion method. From the identification results revealed the presence of *Staphylococcus ssp* in 58.97% of the samples, *Streptococcus spp.* 33.33%, *Enterococcus spp.* of 12.82%, *Bacillus ssp.* at 10.25%, *Corynebacterium spp.* at 10.25%, 5.12% in *Escherichia Colli*, *Yersinia spp.* at 2.56%, and *Klebsiella spp.* of 2.56%. It was found that 86.95% of *Staphylococcus spp.*, More isolated bacterial genus, were sensitive to enrofloxacin. Since

Revista Campo Digit@l, v. 12, n. 1, p.1-7, jan./jul., 2017.

<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital>

ISSN: 1981-092X

penicillin was shown with a greater bacterial resistance profile (47.82%) between samples of *Staphylococcus* spp. In *Streptococcus* spp. isolated antibiotic which obtained the best sensitivity profile was enrofloxacin (69.23%), whereas tetracycline showed with a greater resistance profile (38.46%). We conclude that the culture and sensitivity tests help to identify agents and in choosing the right treatment, preventing the spread of antimicrobial resistance.

Key Words: antibiotic susceptibility; culture; mammary gland; infection; microorganisms.

INTRODUÇÃO

A mastite é definida como uma inflamação da glândula mamária que leva a alterações no tecido glandular e/ou físicas, químicas e bacteriológicas (OLIVEIRA et al., 2011). Existem vários agentes envolvidos nas mastites, entre eles, estão: bactérias, algas, fungos e vírus (LANGONI, 2013).

A mastite está entre as principais doenças que comprometem a rentabilidade das pecuárias leiteiras, devido ao fato de levar a redução da produção, e alterar a composição físico-química do leite (KREWER et al., 2013). Além disso, a doença constitui um risco a saúde pública, devido à veiculação de patógenos e suas toxinas, ou pela presença de resíduos de antibióticos no leite (COSTA et al., 2013)

Dentre os microrganismos encontrados, as bactérias são responsáveis por 80 a 90% dos casos de mastite, sendo que 95% das infecções são originadas por *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*. O restante dos microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium* spp, *Nocardia* spp e *Bacillus* spp. representam 5% das infecções (RODRIGUES, 2009).

Os microrganismos da mastite contagiosa sobrevivem dentro do hospedeiro, e na maioria das vezes, determinam infecções subclínicas. Os microrganismos ambientais são descritos como invasores oportunistas, e não estão adaptados à sobrevivência no hospedeiro, desencadeando normalmente infecções clínicas (COSER; LOPES; COSTA, 2012).

As mastites podem ser classificadas em clínicas e subclínicas. A mastite clínica exibe sinais evidentes, como: pus, grumos, edema, endurecimento e aumento de temperatura (LOPES et al., 2012). A mastite subclínica leva ao aumento de células somáticas no leite (OLIVEIRA et al., 2011).

Para evitar a transmissão dos microrganismos na mastite contagiosa é necessário tomar algumas medidas como forma de prevenção, destacando-se principalmente a lavagem das mãos dos trabalhadores, com água e sabão antes da ordenha, higiene correta das teteiras e uso de papel toalha ou pano individual para cada animal (KREWER et al., 2013).

Um dos problemas preocupantes atualmente é a propagação de cepas resistentes às drogas de “primeira linha”, levando a consequências graves. Pois as infecções causadas por cepas resistentes não respondem ao tratamento, podendo ocasionar prolongamento da doença e maior risco de descarte e morte do animal. Além de causar insucesso nos tratamentos, e expor todo o rebanho a se infectar com uma estirpe resistente (ALEKISH; QUDAH; SALEH, 2013).

Um meio de distinguir o estado microbiológico do rebanho é com a realização de cultura dos quartos mamários das vacas em lactação, pois irá permitir a identificação dos agentes e a verificação do nível de infecção dos animais (BRITO, 2007). O antibiograma é um teste que possibilita obter resultados padrões de resistência e suscetibilidade de uma bactéria específica a antimicrobianos. A aferição de

sensibilidade é fundamental, para a segurança no momento do tratamento (COSTA, 2010).

Desta forma, este trabalho objetivou determinar os principais agentes causadores de mastite bovina isoladas a partir de amostras de leite recebidas no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade Integrado de Campo Mourão-PR no ano de 2014, além de determinar o perfil de sensibilidade e resistência a diferentes antibióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram recebidas 44 amostras de leite, de vacas com mastite, no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade Integrado de Campo Mourão-PR durante os meses de Fevereiro a Novembro do ano de 2014, a fim de identificar o agente etiológico e observar o nível de resistência aos diferentes antibióticos, por meio de cultura e antibiograma. As amostras foram provenientes de propriedades da região de Campo Mourão –PR.

Em todas as amostras recebidas no laboratório foi realizada a cultura bacteriana através de semeadura nos meios Ágar sangue e ágar MacConkey e incubação por até 48 horas a 37 °C. Após o crescimento das colônias inicialmente foram observadas algumas características morfológicas como tamanho, tipo, coloração e presença de hemólise, de acordo com as técnicas apresentadas por Aplostil, Zocolli e Tobouti et al. (2010).

Foram realizadas outras provas de identificação de acordo com o tipo de bactéria, para isso inicialmente foi realizada a coloração de gram. As bactérias gram-positivas foram identificadas com base do teste da Catalase, crescimento em caldo BHI com 6,5% de NaCl, crescimento em caldo BHI à 45°C. As bactérias gram-negativas foram identificadas a partir do teste de oxidase e testes bioquímicos realizados por meio de um kit comercial (Bactray®¹) específico para bactérias gram-negativas.

Os antibiogramas foram realizados pelo método de difusão em disco em meio Müller-Hinton. Foram testados diferentes tipos de antimicrobianos entre as 44 amostras. Os antibióticos testados eram escolhidos no Laboratório de Medicina Preventiva, mas era aberto ao Médico Veterinário que estava solicitando o exame à possibilidade de escolha. Em cada placa eram testados até sete (7) antimicrobianos diferentes, porém neste trabalho 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, os seguintes: enrofloxacin, cefalexina, tetraciclina e penicilina.

Para realização deste trabalho foi feita uma análise dos resultados obtidos na identificação dos agentes e também do perfil de resistência dos mesmos. Esses resultados foram apresentados por meio de porcentagem mostrando quais microrganismos foram mais isolados e também para quais antibióticos eles foram mais sensíveis e mais resistentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados de identificação constatou-se a presença de *Staphylococcus spp* em 58,97% das amostras, *Streptococcus spp.* em 33,33%, *Enterococcus spp.* em 12,82%, *Bacillus spp.* em 10,25%, *Corynebacterium spp.* em 10,25%, *Escherichia coli* em 5,12%, *Yersinia spp.* em 2,56%, e *Klebsiela spp.* em 2,56% (Tabela1).

Tabela 1. Microrganismos identificados em amostras de leite com mastite.

Micro-organismos	Número	%
<i>Staphylococcus spp</i>	23	58,97
<i>Streptococcus spp</i>	13	33,33
<i>Enterococcus spp</i>	05	12,82
<i>Bacillus spp</i>	04	10,25
<i>Corynebacterium spp</i>	04	10,25
<i>Escherichia coli spp</i>	02	5,12
<i>Yersinia spp</i>	01	2,56
<i>Klebsiela spp</i>	01	2,56

Em 7,47 % das amostras mais de um tipo bacteriano foi isolado, o que justifica o total em números de bactérias isoladas ser de 53 em 44 das amostras. Isso pode ocorrer por infecções mistas, contaminação durante a coleta ou ainda pela coleta do leite de mais de um quarto mamário na mesma amostra.

Os resultados observados concordam com os resultados apresentados por Zanette, Scapin, e Rossi (2010), onde os *Staphylococcus* spp. são citados como os principais patógenos associados a mastite subclínica no Brasil, seguidos por *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., e o grupo dos coliformes com menor frequência. *Staphylococcus* spp. estão entre os microrganismos mais encontrados em casos de mastite, a prevalência de *Staphylococcus aureus* em um rebanho leiteiro varia de 7% a 40%.

Os *Streptococcus* spp. representam outra classe de microrganismo que possui relevância na infecção, sendo que o *Streptococcus agalactiae*, está entre os mais encontrados, representando um número que varia de 1% a 8% dos animais (SCHVARZ ; SANTOS, 2012).

O *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. foram às bactérias encontradas com maior frequência nos casos de mastite bovina nos animais estudados. Para Saeki et al., (2011) o gênero *Staphylococcus* , está presente em 74,6 % dos casos de mastite. O gênero *Streptococcus*,

está dentre os mais isolados nas infecções da glândula mamária (SANTOS et al., 2007).

A identificação destes microrganismos evidencia a carência de adoção de boas práticas de higiene, pois são agentes comuns de mastite contagiosa. A transmissão da mastite contagiosa ocorre principalmente durante a ordenha, devido ao pré-*dipping* ineficaz, ou a utilização de toalhas usadas em comum para todos os animais no momento da secagem dos tetos (LANGONI, 2013).

Avalia-se que para cada caso de mastite clínica existam entre 15 a 40 casos de mastite subclínica, portanto, diminuir a duração dessas infecções é um importante artifício para o tratamento da mastite (SIMÕES; OLIVEIRA, 2012). Alguns estudos relacionados à mastite bovina demonstraram que os microrganismos de origem contagiosa são os mais prevalentes, e entre esses, o gênero *Staphylococcus* sp., destaca-se (LOPES; LACERDA; RONDA, 2014).

Verificou-se que 86,95% dos *Staphylococcus* spp., gênero bacteriano mais isolado, foram sensíveis a enrofloxacin, sendo esta a mais eficiente entre todos os antibióticos. Já a penicilina mostrou-se com um maior perfil de resistência bacteriana (47,82%) entre as amostras de *Staphylococcus* spp (Tabela 2).

Tabela 2. Resultado do antibiograma para *Staphylococcus* spp.

Antibióticos	Sensível (%)	Intermediário (%)	Resistente (%)
Enrofloxacin	86,95	13,04	---
Cefalexina	82,60	4,34	13,04
Tetraciclina	73,91	8,69	17,39
Penicilina	47,82	4,34	47,82

Zafalon et al (2008), também referiam-se a uma maior resistência por parte dos *Staphylococcus* spp., em relação aos antimicrobianos do grupo dos betalactâmicos penicilina. Pois estes microrganismos produzem

betalactamases, permitindo que tenha a capacidade de cindir o anel betalactâmico da estrutura do antimicrobiano, caracterizando-se no principal mecanismo de resistência.

Outros autores confirmam com os resultados obtidos e citam a resistência de *Staphylococcus* spp. à penicilina (CHAGAS; et al., 2012).

Estudos in vitro utilizando-se a enrofloxacin nos diversos microrganismos envolvidos na etiologia das mastites, demonstraram resultados favoráveis quanto a sensibilidade, observando-se que 90% das cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite mastítico foram sensíveis à enrofloxacin (LANGONI, 2000).

O aparecimento de cepas resistentes deve-se ao uso inadequado de antibióticos, o que pode levar a ineficiência do tratamento (MENDONÇA et al., 2012).

Nos *Streptococcus* spp. isolados o antibiótico que obteve o melhor perfil de sensibilidade foi a enrofloxacin (69,23 %), enquanto a tetraciclina mostrou-se com um maior perfil de resistência (38,46%) (Tabela 3).

Tabela 3. Resultado do antibiograma para *Streptococcus* spp.

Antibióticos	Sensível (%)	Intermediário (%)	Resistente (%)
Enrofloxacin	69,23	23,07	7,69
Tetraciclina	61,53	---	38,46

Resultados semelhantes foram obtidos por Chagas et al., (2012), com 45,1% das cepas resistentes à tetraciclina. A ampicilina, penicilina e a tetraciclina são betalactâmicos vastamente empregados nos tratamentos de mastite e de outros processos infecciosos em bovinos, e demonstram-se ineficientes quando comparados com os demais antimicrobianos (SANTOS; et al., 2011).

Nos casos de ocorrência de resistência pela tetraciclina, acontece a produção de uma proteína chamada *Tet*, a qual é responsável pelo transporte do antibiótico para fora da célula bacteriana (MEDEIROS, et al., 2009).

A alteração nos níveis de sensibilidade deve-se ao uso inadequado de antimicrobianos, possibilitando a seleção de cepas resistentes, pela eliminação de cepas sensíveis (CHAGAS; et al., 2012). Tanto as durações como doses erradas podem contribuir para que haja um aumento da resistência antimicrobiana, diminuindo assim, a possibilidade de melhora ao tratamento (IDRISS et al., 2014).

CONCLUSÕES

Conclui-se que o *Staphylococcus* spp. foi a bactéria mais isolada nas amostras analisadas neste estudo, seguido pelo *Streptococcus* spp. A penicilina foi o antimicrobiano no qual as amostras de *Staphylococcus* spp. apresentaram uma maior porcentagem de resistência, já as amostras de *Streptococcus* spp. foram mais resistentes a tetraciclina. Esses resultados são relevantes para orientar o tratamento mais eficaz em cada caso de mastite.

A ocorrência de resistência bacteriana pode levar ao comprometimento da eficiência dos antimicrobianos no tratamento da mastite. Sendo assim, vale ressaltar que uma forma de evitar a disseminação desta resistência deverá ser por meio da realização de testes de cultura e antibiograma, pois estes auxiliam na identificação do agente e na escolha do tratamento correto, e fornecem informações relevantes para a determinação de estratégias de 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
- BRITO, M. A. V. P. **Diagnóstico Microbiológico da Mastite Bovina**. Embrapa Gado de Leite - Pesquisadora, Minas Gerais, 2007. p.01-13.
- CHAGAS, L. G. S.; MELO P. C.; BARBOSA, N. G.; et al. Ocorrência de Mastite Bovina Causada por *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. E *Candida* sp. Em uma propriedade rural no Município de Indianópolis - Minas Gerais, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.6, p.1007-1014, Nov/Dez, 2012.
- COSTA, A. C. **Mastite subclínica: patógenos isolados e respectiva sensibilidade antimicrobiana, variação da contagem de células somáticas e fatores de risco**. 2010, 102f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.
- COSTA, G. M.; BARROS, R.A.; CUSTÓDIO, D. A.C. et al. Resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite em bovinos leiteiros de Minas Gerais, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.80, n.3, p.297-302, Jul/set., 2013.
- COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M. **Mastite bovina: controle e prevenção**. (Boletim Técnico). Universidade Federal de Lavras, n.93, p.1-30, 2012.
- IDRISS, S. E.; FOLTYS, V.; TANCIN, V. et al.. Mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in nitra, slovakia. **Slovak Journal of Animal Science**, Eslováquia, v.47, n.1, p.33-38, Sept., 2014.
- KREWER, C. C.; LACERDA, I. P. S.; AMANSO, E. S. et al. Etiology, antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus* spp. and risk factors associated with bovine mastitis in the states of Bahia and Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.33, n.5, p.601-606, May, 2013.
- LANGONI, H. Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.33, n.5, p.620-626, Maio, 2013.
- LANGONI, H.; CABRAL, K. G.; DOMINGUES, P. F. et al. Utilização da enrofloxacin (Baytril) no tratamento da mastite bovina estafilocócica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.167-170, Jan/Marc, 2000.
- LOPES, L. O.; LACERDA, M. S.; RONDA, J. B. Controle e profilaxia de mastite causada por *Staphylococcus* sp. em vacas leiteiras: revisão de literatura. **Revista científica de Medicina Veterinária**, São Paulo, Ano XII, n. 22, 2014.
- LOPES, M. A.; DEMEU, F. A.; ROCHA, C. M. B. M. et al. Avaliação do Impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.4, p.477-483, out/dez., 2012.
- MENDONÇA, E. C. L.; MARQUES, V. F.; MELO, D. A. et al. Caracterização fenogenotípica da resistência antimicrobiana em *Staphylococcus spp.* isolados de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.32, n.9, p. 859-864, Set, 2012.
- MEDEIROS, E. S.; MOTA, R. A.; SANTOS, M.V. et al. Perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* de linhagens de *Staphylococcus spp.* isoladas de vacas com mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.29, p.569-574, 2009.

OLIVEIRA, C. M.C.; SOUSA, M. G. S.; SILVA, N. S. et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.31, n.2, p. 104-110, fev. 2011.

OPLUSTIL, C.A.; ZOCCOLI, C.M.; TOBOUTI, N.R. et al. **Procedimentos básicos em Microbiologia Clínica**. São Paulo, 2010.

RODRIGUES, M. G. R. **Mastite Bovina e suas Consequências na Qualidade do Leite**. 2009, 48f. Dissertação (Especialização Lato Sensu em Defesa e Vigilância Sanitária Animal). Universidade Castelo Branco, Vitória, 2009.

SANTOS, M. P.; BRITO, V.P.; LANGE, M. et al. *Streptococcus* e gêneros relacionados como agentes etiológicos de mastite bovina. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.35, n.1, p. 17-27, Nov., 2007.

SANTOS, L. L.; COSTA, G. M.; PEREIRA, U. P. et al. Mastites clínicas e subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus* coagulase-negativa. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.70, n.1, p. 01-07, 2011.

SAEKI, E. K.; PEIXOTO, E. C. T M.; MATSUMOTO, L. S 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.

SCHVARZ, D. W.; SANTOS, J. M. G. Mastite Bovina em Rebanhos Leiteiros: Ocorrência e Métodos de Controle e Prevenção. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Maringá, v.5, n.3, p. 453-473, 2012.

SILVA, T. T. **Mastite Bovina e sua Relação com a Produção e Composição do Leite**. 2014, 38 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal de Goiás Escola de Veterinária e Zootecnia. Goiânia, 2014.

SIMÕES, T. V. M .D.; OLIVEIRA, A. A. **Mastite Bovina, Considerações e Impactos Econômicos**. Documentos (170) EMBRAPA, Aracaju, 2012.

ZAFALON, L. F.; ARCARO, J. R. P.; FILHO, A. N. et al. Investigação de perfis de resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados na ordenha de vacas em lactação. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.67, n.2, p. 118-125, 2008.

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

Recebido: 24/08/2015
Aceito: 21/03/2016