

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA
Eixo temático: AGROPECUÁRIA E AGROECOLOGIA

PERFIL DE SENSIBILIDADE E DE APRESENTAÇÃO DO STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EM MASTITES NA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL¹

Bruna Carolina Ulsenheimer², Silvana Konageski Dalla Rosa³, Luciana Mori Viero⁴, Luciane Ribeiro Viana Martins⁵

¹ Pesquisa Institucional desenvolvida no Departamento de Estudos Agrários, da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul-UNIJUI;

² Aluna do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UNIJUI, bru.brunna@hotmail.com;

³ Funcionária do laboratório de microbiologia veterinária da UNIJUI;

⁴ Doutora do Departamento em Estudos Agrários, Professora do Curso de Medicina Veterinária da UNIJUI, luciana.viero@unijui.edu.br;

⁵ Mestre do Departamento em Estudos Agrários, Professora do Curso de Medicina Veterinária da UNIJUI, luciane.viana@unijui.edu.br;

Introdução

A glândula mamária é um órgão singular, sob o ponto de vista de sua complexidade fisiológica, biofísica e anatômica. As infecções intramamárias ocorrem quando um agente (infeccioso, químico, mecânico ou térmico) agride a glândula mamária, produzindo uma reação inflamatória e danos ao epitélio glandular, caracterizando o quadro de mastite (BANDOCH & MELO, 2011)

Há fatores determinantes que influenciam para ocorrência de mastites, como a resistência natural da glândula mamária, estágio da lactação, hereditariedade, idade do animal, espécie, infectividade e patogenicidade do agente etiológico, bem como ordenha, manejo, clima e nutrição (PRESTES et al., 2002).

As mastites, clínica e subclínica, são consideradas como um problema potencial em criações com finalidade de produção leiteira (PRESTES et al., 2002). Sendo considerada uma das doenças infecciosas mais significativas, por estar frequentemente presente na bovinocultura de leite. É considerado um processo inflamatório da glândula mamária, onde 90% dos casos, são causadas por bactérias (TOZZETI et al., 2008).

Os microrganismos que comumente causam as mastites, podem ser divididos em dois grupos, baseando-se na sua origem: patógenos contagiosos e patógenos ambientais. Os patógenos contagiosos são aqueles adaptados à sobrevivência no interior da glândula mamária. Em contraste, os patógenos ambientais são descritos como invasores oportunistas do úbere, não adaptados a sobreviver no seu interior (TOZZETI et al., 2008; QUINN et al., 2005).

Dentre os patógenos contagiosos mais importantes da mastite bovina estão *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae*. Já entre os patógenos ambientais, destacam-se a *Escherichia coli* e o *Streptococcus uberis* (COSER et al., 2012). O agente *Streptococcus agalactiae* é um dos principais *Streptococcus* causador de mastite em

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA
Eixo temático: AGROPECUÁRIA E AGROECOLOGIA

bovinos de leite. Este microrganismo é encontrado principalmente nos ductos da glândula mamária e produz infecções persistentes com crises intermitentes de mastite aguda (QUINN et al., 2005).

Existem várias formas de diagnóstico da mastite bovina, mas de acordo com Radostits et al. (2002), o exame microbiológico do leite é o método mais confiável. Além da cultura e isolamento bacteriano, é essencial a realização do antibiograma para detectar a sensibilidade do microrganismo frente aos antibióticos, com a finalidade de identificar o agente causador e os princípios ativos mais efetivos contra a bactéria (ULSENHEIMER et al., 2017).

Da mesma maneira, é crescente o número de microrganismos resistentes aos antibióticos, devido ao seu uso extensivo em práticas terapêuticas no tratamento de doenças infecciosas em animais (RIBEIRO et al., 2012; SOUZA et al., 2016).

Os objetivos deste trabalho são identificar os agentes bacterianos causadores da mastite bovina nas amostras de leite recebidas para análise no Laboratório de Microbiologia Veterinária, provenientes da região Noroeste do Rio Grande do Sul, isolar o *Streptococcus agalactiae* e determinar o seu perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos, comumente utilizados na rotina do laboratório, para demonstrar o seu perfil de apresentação e de sensibilidade nesta região.

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UNIJUI, a partir das amostras de leite encaminhadas por produtores e Médicos Veterinários da região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 2012 a maio de 2018, totalizando 917 amostras de leite analisadas. Foi realizado cultivo, identificação bacteriana e análise do perfil de sensibilidade antimicrobiana de antibióticos, comumente utilizados na rotina laboratorial, ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), cefalexina (30 µg), cefalotina (30 µg), eritromicina (15 µg), enrofloxacina (5µg), gentamicina (10 µg), norfloxacina (10 µg), penicilina (10 UI), sulfazotrim (25 µg) e tetraciclina (30 µg).

Cada amostra foi identificada, e posteriormente semeada em meio específico, ágar sangue ovino 5% e ágar McConkey e incubadas a 36°C em estufa bacteriológica por um período de 48 horas. Após este período, fez-se a observação visual das colônias crescidas nos meios de cultura e a partir daí realizou-se a confecção de esfregaços em lâminas e coloração de Gram, para a primeira identificação morfo-tintorial. Posteriormente, a lâmina foi examinada em microscópio óptico, onde observou-se as características morfológicas do microrganismo encontrado, então, as amostras foram transferidas para meios contendo substâncias que

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA
Eixo temático: AGROPECUÁRIA E AGROECOLOGIA

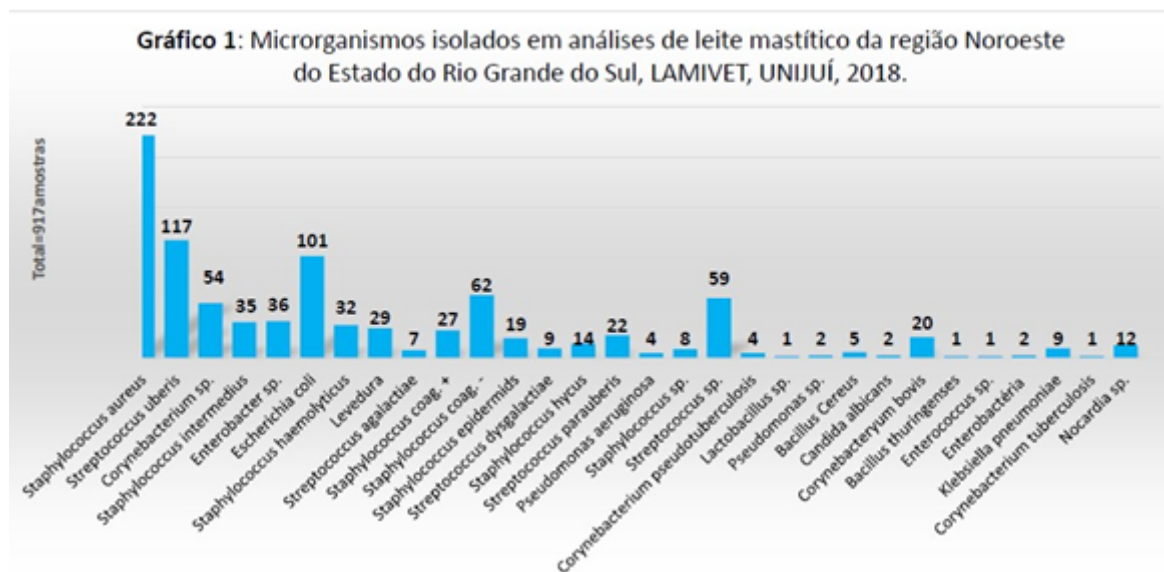
evidenciam o metabolismo e a presença de enzimas, possibilitando assim a identificação bacteriana, presente na amostra de leite.

Após este processo de identificação, foi realizado o perfil de sensibilidade antimicrobiana, onde alíquotas da amostra bacteriana isolada de *Streptococcus agalactiae* foram passadas para placas com ágar Mueller Hinton, e espalhadas por toda sua superfície. Após, foram colocados os discos de antibióticos sobre o ágar semeado. Estas placas foram mantidas em estufa bacteriológica a 36°C por 24 horas.

Posteriormente foram feitas análises e medidas do tamanho dos halos de sensibilidade aos antibióticos, classificando-o em sensível, quando foi efetivo no combate a bactéria, intermediário, quando possui ação parcial no combate aos microrganismos, e resistente, se for um medicamento que não haja sobre a bactéria causadora da mastite.

Resultados

Dos microrganismos isolados no Laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí, o *Streptococcus agalactiae* foi o agente etiológico encontrado em 07 das amostras de leite analisadas de 2012 á 2018, conforme apresentado no gráfico 1.



Neste trabalho foram identificados 30 diferentes espécies bacterianas causadoras de mastite na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Sendo que a maioria dos agentes são contagiosos, dentre eles está o *Streptococcus agalactiae*.

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA
Eixo temático: AGROPECUÁRIA E AGROECOLOGIA

Porém dos agentes causadores das mastites contagiosas, o *Staphylococcus aureus* foi o mais isolado, seguido do *Streptococcus dysgalactiae*, e logo após do *Streptococcus agalactiae*. Martins et al., (2010), constatou que em seu estudo houve predomínio do *S. aureus* como agente causal contagioso de mastite. Indicando desta forma, a ocorrência de falhas de higiene durante a ordenha e alerta para o risco de animais portadores de mastites, atuantes como fonte de infecção para o rebanho.

Oliveira et al., (2009) encontrou em seus estudos, *Streptococcus agalactiae*, em 67 das amostras analisadas, representando 7,50%. Sendo que neste trabalho, se observou menor percentual do agente em casos de mastite na região Noroeste do RS, com presença em 1% das amostras.

Em estudo realizado por Harmon (1994), com mais de 80 diferentes microrganismos foram identificados como agentes causadores de mastite bovina, sendo que as espécies mais frequentemente isoladas são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*.

Segundo Hillerton (1996), os *Streptococcus agalactiae* são os microrganismos melhor adaptados à glândula mamária, raramente são encontrados fora dela, geralmente estão envolvidos em doenças clínicas agudas e infecções subclínicas persistentes.

Mahzounieh et al., (2003) observaram, com maior frequência entre os casos de mastite, *Staphylococcus coagulase positiva* (SCP) (51%) e *S. agalactiae* (24.62%).

Pitkälä et al., (2004) informam uma redução da prevalência de patógenos clássicos como o *S. agalactiae* e o *S. aureus* ao longo dos anos em rebanhos finlandeses. Conforme visto nesse trabalho com as análises de 2012 a 2018 vem ocorrendo uma diminuição do número de mastites causadas por *S. agalactiae*.

Com relação ao perfil de sensibilidade apresentado pelo *Streptococcus agalactiae* em relação ao antimicrobianos comumente utilizados na rotina do laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí, está demonstrado no quadro 1.

Quadro 1: Perfil de sensibilidade do *Streptococcus agalactiae*.

ANTIBIÓTICOS

AGENTE
ETIOLÓGICO AMP¹ CIP² CFX³ CFL⁴ ENO⁵ ERI⁶ GEN⁷ NOR⁸ PEN⁹ SUT¹⁰ TET¹¹

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA
Eixo temático: AGROPECUÁRIA E AGROECOLOGIA

Streptococcus agalactiae 43% 100% 57% 73% 86% 43% 100% 86% 29% 33% 50%

¹Ampicilina, ²Ciprofloxacina, ³Cefalexina, ⁴Cefalotina, ⁵Enrofloxacina, ⁶Eritromicina, ⁷Gentamicina, ⁸Norfloxacina, ⁹Penicilina, ¹⁰Sulfazotrim, ¹¹Tetraciclina.

O resultado referente ao perfil de sensibilidade do *Streptococcus agalactiae*, indica antibióticos que ainda possuem alta eficiência antimicrobiana relacionada às cepas da região. Sendo que a Ciprofloxacina, Cefalotina, Enrofloxacina, Gentamicina e Norfloxacina, apresentaram maior potencial antimicrobiano com relação às cepas testadas.

Já os antibióticos com menor eficiência antimicrobiana consecutivamente foram a Penicilina, Sulfazotrim, Ampicilina, Eritromicina, Tetraciclina e Cefalexina. Que segundo Ulsenheimer et al., (2017) também foram os antimicrobianos com menor eficiência em seu estudo com vários microrganismos causadores de mastite.

Conclusão

A prevalência de mastite bovina causada por agentes contagiosos encontrada na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul é alta, sendo o *Streptococcus agalactiae* um destes agentes, porém não é o mais encontrado, mas apresenta elevado índice de resistência a alguns antimicrobianos como a Penicilina e ao Sulfazotrim.

Referências

BANDOCH, P.; MELO, L. D. S. D. Prevalência de mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: uma revisão bibliográfica. **Publication UEPG: biological and Health Sciences**, Ponta Grossa, v. 17, n. 1, p. 47-51, 2011.

COSER, M. S.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M. Mastite bovina: controle e prevenção. **Boletim Técnico**, Lavras- MG, n. 93, p. 1-30, 2012.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **J Dairy Sci**, v.77, p.2103-2112, 1994.

HILLERTON, J.E. **Controle da mastite bovina**. In: workshop sobre programa de controle integrado da mastite bovina, Juiz de Fora, 1996. Anais... Juiz de Fora: Embrapa, 1996. p. 6-21.

Modalidade do trabalho: TRABALHO DE PESQUISA
Eixo temático: AGROPECUÁRIA E AGROECOLOGIA

MAHZOUNIEH, M.; ZADFAR, G.; MAQAMI, S. G.; SHAMS, M. Bacteriological and epidemiological aspects of mastitis in Arak area dairy herds (Iran). In: international conference on production diseases in farm animals. Michigan. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Suppl. 98, 2003.

MARTINS, R. P. et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 11, n. 1, p. 181-187, jan./mar. 2010.

OLIVEIRA, A. A.; MELO, C. B.; AZEVEDO, H. C. Diagnóstico e determinação microbiológica da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos tabuleiros costeiros de sergipe. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 226-230, jan./mar. 2009.

PITKÄLÄ, A., et al. Bovine mastites in Finland 2001: Prevalence, distribution of bactéria, and antimicrobial resistance. **Journal of Dairy Science**, v. 8, p. 2433-2441, 2004.

PRESTES, D. S.; FILAPPI, A.; CECIM, M. Susceptibilidade à mastite: Fatores que influenciam - Uma revisão. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.9, n. 1, p. 118-132, 2002.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre, Artmed, 2005.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RIBEIRO, D. S., MELO, D. B., GUIMARÃES, A. G., & VELOZO, E. D. S. Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 687-696, 2012.

SOUZA, K. S. S. Resistência a antimicrobianos de bactérias isoladas de vacas leiteiras com mastite subclínica. **Cad. Ciênc. Agrá.**, v. 8, n. 2, p. 83-89, 2016.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas - revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano XI, n. 10, Jan., 2008.

ULSENHEIMER, B. C. et al. Perfil microbiológico do leite bovino analisado no laboratório de microbiologia veterinária da Unijuí. In: Seminário de Iniciação Científica, **Anais do Salão do Conhecimento Unijuí**, Ijuí, set., 2017.