

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADOS EM MASTITES BOVINAS NA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL¹

Tassiéli Senger Kaiser², Karine Fernandes Possebon³, Luciana Mori Viero⁴, Luciane Viana Martins⁵.

¹ Trabalho desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UNIJUI.

² Bolsista PROBIC/FAPERGS Graduanda do curso de Medicina Veterinária da UNIJUI, tassieli.kaiser@hotmail.com

³ Bolsista PIBIC/UNIJUI Colaboradora do Projeto de Pesquisa Graduanda do curso de Medicina Veterinária da UNIJUI, Karineposebon_4@hotmail.com

⁴ Professora Coordenadora do Projeto de Pesquisa, luciana.viero@unijui.edu.br

⁵ Professora Coordenadora e orientadora do Projeto de Pesquisa, luciane.viana@unijui.edu.br

Introdução

A mastite bovina é uma doença que acarreta prejuízos econômicos à produção leiteira pela redução da quantidade produzida (em até 50%) e pelo comprometimento da qualidade do leite, levando até mesmo à perda total da capacidade secretora da glândula mamária, diminuindo a vida produtiva da vaca (CORREA, et. al., 2001 e RIBEIRO, et. al., 2003).

Ela caracteriza-se por uma inflamação da glândula mamária, geralmente de caráter infeccioso. É uma das principais doenças da bovinocultura de leite tendo como principal agente infeccioso bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. (FREITAS, et. al., 2005 e RIBEIRO, et. al., 2003). Neste gênero, destaca-se o *Staphylococcus aureus* sendo um dos principais agentes das mastites do rebanho leiteiro em vários países do mundo, tendo caráter contagioso a infecção se mantém nas vacas e é transmitida de uma para outra.

De acordo com Freitas et. al. (2005), muitos proprietários não realizam o diagnóstico das mastites através de cultura e isolamento dos agentes etiológicos e acabam utilizando medicamentos de forma inadequada ou ineficazes aumentando o custo do tratamento e favorecendo a aquisição de resistência aos antimicrobianos por parte dos microrganismos.

O aparecimento de cepas multirresistentes a antibióticos tem dificultado o tratamento dessas infecções, então, a análise antimicrobiana *in vitro* deve ser empregada pelos proprietários rurais para auxiliar a reduzir perdas na produção leiteira e em programas de controle da mastite (ZANETTE, et. al. 2010).

O objetivo deste trabalho é analisar o perfil de sensibilidade *in vitro* de cepas de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite recebidas no laboratório de microbiologia veterinária da

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

UNIJUÍ, provenientes de municípios da região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, frente aos antimicrobianos comumente utilizados em tratamentos para mastite bovina.

Metodologia

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UNIJUÍ (LAMIVET) com de amostras de leite recebidas de municípios da região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. As amostras foram semeadas em meios de específicos para o cultivo bacteriano e mantidas em temperatura controlada em 36°C na estufa bacteriológica por período de 24 e 48 horas. Havendo crescimento do microrganismo, confeccionou-se esfregaço em lâmina corando-o em Gram (GRAM-1884). A lâmina então foi observada em microscópio ótico para identificação da forma e coloração do microrganismo para posterior identificação do gênero e espécie do mesmo através de testes bioquímicos.

As análises laboratoriais seguiram os critérios de identificação fenotípica descritos por Becton Dickinson (1984) e Mc Fadidin (1980). Após a identificação da espécie, foi realizado o teste de sensibilidade “in vitro” através de antibiograma frente aos antimicrobianos ampicilina (10 μg), cefalotina (30 μg), eritromicina (15 μg), penicilina (10 UI) e tetraciclina (30 μg) baseando-se na técnica da difusão em ágar segundo Bauer, et. al. (1966), finalizando os testes.

Resultados e discussão

Foram analisadas 459 amostras de leite provenientes de municípios pertencentes à região do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, obtendo-se 381 culturas microbiológicas distintas e em 106 cultivos, ausência de microrganismos. Destas culturas obtidas, em 84 das amostras analisadas foram isoladas cepas de *Staphylococcus aureus*, representando 22,05% do total.

Essas bactérias estão amplamente distribuídas no mundo como comensais da pele de animais e humanos podendo atuar como patógenos oportunistas causando infecções (QUINN et. al., 2005). *Staphylococcus aureus*, é o microorganismo mais isolado no leite e causador da mastite subclínica contagiosa crônica sendo de difícil tratamento devido à elevada resistência aos antibióticos (FAGUNDES e OLIVEIRA, 2004).

Na pesquisa realizada por Muller et. al. (2004) no município de Londrina no Paraná, o agente etiológico mais isolado foi o *S. aureus*, em 43 (50,59%) das amostras mastísticas. Em Curitiba Mato Grosso, Martins, et. al. (2010) encontrou o *S. aureus* em 21,5% das amostras que analisou, revelando-se um dos principais agentes etiológicos causadores de mastite da região. No extremo Oeste de Santa Catarina, Bonora e Rossi (2015), examinaram 49 amostras de leite proveniente de vacas com mastite, destas, 27 (55%) se apresentaram positivas para *S. aureus*. Estes estudos demonstram uma elevada prevalência do agente nas regiões estudadas e pode-se verificar certa concordância com os isolamentos bacterianos encontrados no Noroeste do Estado do Rio grande do

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

Sul, enfatizando que o *S. aureus* é um dos principais agentes etiológicos responsáveis por causar mastite, que está altamente disseminado e de difícil controle.

Em relação à sensibilidade “in vitro” frente aos antimicrobianos testados, observamos os resultados de acordo com a figura 1. onde o *Staphylococcus aureus* apresentou maior sensibilidade in vitro à tetraciclina (79%) e cefalotina (78%) e menor sensibilidade aos antibióticos ampicilina (56%), penicilina (45%) e eritromicina (29%).

Bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. são frequentemente resistentes aos antimicrobianos, especialmente aos beta-lactâmicos, como ampicilina e penicilina. Seu uso inadequado no tratamento de mastite pode selecionar cepas resistentes e comprometer a eficiência do tratamento. Isso ocorre principalmente por dois mecanismos distintos: a produção da enzima extracelular beta-lactamase que inativa o princípio ativo, e a produção de uma proteína ligante de penicilina de baixa afinidade (MENDONÇA et. al., 2012 e SPINOSA, et. al. 2011). O amplo uso de penicilinas na Medicina Veterinária pode favorecer o desenvolvimento de resistência e explicar a maior prevalência de amostras resistentes a este princípio ativo. Outro fator relacionado à dificuldade de tratamento de mastites causadas por esta bactéria é a instalação de infecções crônicas, com formação de micro abscessos submucosos, onde o microorganismo possivelmente é encapsulado, assim, ele não é alcançado pelos antimicrobianos, contribuindo desta forma para o menor eficiência nos tratamentos (FARIA, et. al. 1997).

A sensibilidade antimicrobiana das amostras de *S. aureus* isoladas por Bonora e Rossi (2015) em Santa Catarina foram: 0% para penicilina, 19% para ampicilina e 11% para eritromicina sendo compatíveis com esta pesquisa que também encontrou baixa sensibilidade aos mesmos antibióticos. Avaliando o perfil de sensibilidade de 83 amostras de *S. aureus* em rebanhos leiteiros do município de Garanhuns-PE, Silva, et. al. (2012) encontrou taxas baixas de sensibilidade observadas para penicilina G (5%) e ampicilina (12%) e as amostras foram sensíveis à tetraciclina (93%) e cefalotina (100%). Em todos esses estudos os resultados encontrados coincidem com o perfil de sensibilidade encontrado na Região Noroeste – RS, comprovando que principalmente os antimicrobianos beta-lactâmicos estão sendo utilizados de forma indiscriminada facilitando a aquisição de resistência a esses princípios ativos pelas cepas de *S. aureus*, revelando-se uma realidade preocupante, acentuando a importância da realização de cultura e antibiograma sempre que possível, de forma a evitar a disseminação de uma maior quantidade de cepas resistentes na área Veterinária.

Já na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais Brito, et. al. (2001), encontraram elevada sensibilidade de *S. aureus* a antimicrobianos onde 65% das amostras eram sensíveis a ampicilina, e penicilina, 91% eram sensíveis a tetraciclina e 100% das amostras eram sensíveis a cefalotina. Com esses resultados é possível concluir que o perfil de sensibilidade varia conforme a região estudada e que os antimicrobianos beta-lactâmicos ainda podem ser utilizados de forma efetiva, desde que se determinem quais cepas não adquiriram resistência através da realização de antibiograma, neste

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

sentido, Freitas et. al. (2005) afirmam que os testes de sensibilidade “in vitro” possibilitam identificar os estafilococos sensíveis às penicilinas podendo ser recomendadas no tratamento in vivo das mastites ao invés de sugerir um medicamento de última geração. O *Staphylococcus aureus* possui várias formas de apresentação de resistência aos antimicrobianos, desta forma, com os resultados desta pesquisa, é possível afirmar que a utilização de antibióticos sem o prévio isolamento do agente etiológico e avaliação da sensibilidade in vitro contribuem para aquisição de resistência por parte dos microrganismos, além de favorecer a disseminação de cepas resistentes aos princípios ativos mais utilizados na Medicina Veterinária. Desta forma, destaca-se a grande importância da realização do isolamento do microrganismo e teste de sensibilidade in vitro frente aos antimicrobianos sempre que possível.

Conclusão

Neste estudo isolamos várias cepas de *Staphylococcus aureus* com perfil de alta resistência a antimicrobianos, principalmente a eritromicina, a penicilina e a ampicilina, indicando que alguns princípios ativos estão sendo amplamente utilizados na região, provavelmente sem a prévia análise de sensibilidade in vitro dos agentes etiológicos, favorecendo assim a aquisição de resistência. Desta forma, os resultados obtidos nesse estudo ressaltam a grande importância da avaliação in vitro da sensibilidade a antimicrobianos antes do tratamento de mastites bovinas, reduzindo o risco de disseminação de cepas patogênicas altamente resistentes a antibióticos que já são uma grande preocupação na Medicina Veterinária.

Palavras-chave: leite, antibiograma, resistência, prejuízos econômicos.

Referências bibliográficas

- BAUER, A. W., et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, v.45, n.4, p.493-496, 1966.
- BECTON DICKINSON and COMPANY. Manual DIFCO. Ed. Detroit, 1984. 10th.
- BONORA, J. e ROSSI, E. M Avaliação do perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* isolados de leite de bovinos com mastite no extremo Oeste de Santa Catarina. Programa de bolsas universitárias de Santa Catarina – UNIEDU, 2015.
- BRITO, M. A. V. P., et. al. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia, v. 53, n. 5, p. 531-537, 2001.
- CORREA, F. R. et. al. Doenças de ruminantes e equinos. 2ª ed. São Paulo – SP: Varela 2001.
- FARIA, J. E. et. al. Prevenção e controle de infecção estafilocócica da glândula mamária com penicilina e estreptomicina associadas ao dimetilsulfóxido. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 4, n. 3, 1997.
- FAGUNDES, H, OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *S. aureus* e suas implicações em saúde pública. Ciência Rural v. 34, n. 4, p. 315-1320, 2004.

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

FREITAS, M. F. L. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. *Biológico*, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 171-177, 2005.

GRAM, C. *Fortschr d. Med.*, 2, 185, 1884.

MARTINS, R. P. et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá-MT. *Ciência Animal Brasileira*, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.

Mc. FADDIN, J. F. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Ed. William & Wilkins Co., Baltimore, 1980.

MENDONÇA, E. C. L. et al. Caracterização fenotípica da resistência antimicrobiana em *Staphylococcus spp.* isolados de mastite bovina. *Pesq Vet Bras*, v. 32, n. 9, p. 859-864, 2012.

MULLER, E. E. Estudo da prevalência de mastite bovina. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, v. 1, n. 1, p. 47-48, 2004.

QUINN, P. J., et al. *Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. Porto Alegre: Artmed, 2005.

RIBEIRO, M. et al. Relação Entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. *Revista brasileira de Agrociência*, v.9, n3, p. 287-290, 2003.

SILVA, E. R. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus aureus* isolado de mastite subclínica bovina. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 13, n. 3, 2012.

SPINOSA, H. S.; et al. *Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 5ª ed. 2011.

ZANETTE, E. S., et al. 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, jan./jun. 2010.

Figura 1. Porcentagem de sensibilidade *in vitro* de *Staphylococcus aureus* isolado em amostras de leite frente aos antimicrobianos. LAMIVET, UNIJUI, 2012-215.

AMPICILINA	56%
CEFALOTINA	78%
PENICILINA	45%
TETRACICLINA	79%
ERITROMICINA	29%

Figura 1.



XXIII Seminário de Iniciação Científica
XX Jornada de Pesquisa
XVI Jornada de Extensão
V Mostra de Iniciação Científica Júnior
V Seminário de Inovação e Tecnologia

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica