

**Evento:** XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DO LEITE BOVINO ANALISADO NO  
LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA DA UNIJUI<sup>1</sup>  
MICROBIOLOGICAL PROFILE OF BOVINE MILK ANALYZED IN THE  
UNIJUI VETERINARY MICROBIOLOGY LABORATORY**

**Bruna Carolina Ulsenheimer<sup>2</sup>, Silvana Konageski Dalla Rosa<sup>3</sup>, Luciana  
Mori Vieiro<sup>4</sup>, Luciane Ribeiro Viana Martins<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Projeto de Pesquisa de iniciação científica, do curso de Medicina Veterinária, desenvolvida no Departamento de estudos agrários da Unijuí, pertencente ao Grupo de Pesquisa em saúde animal;

<sup>2</sup> Aluna do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UNIJUI, bolsista PIBIC/UNIJUI;

<sup>3</sup> Funcionária do Laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí, Colaboradora do trabalho;

<sup>4</sup> Doutora do Departamento em Estudos Agrários, Curso de Medicina Veterinária da UNIJUI, Professora colaboradora;

<sup>5</sup> Doutora do Departamento em Estudos Agrários, Curso de Medicina Veterinária da UNIJUI, Professora Orientadora;

## **INTRODUÇÃO**

A mastite bovina é uma das principais doenças encontradas na bovinocultura de leite, este é um processo inflamatório da glândula mamária, onde 90% dos casos, são causadas por bactérias (TOZZETI et al., 2008).

Existem várias formas de diagnóstico da mastite bovina, mas de acordo com Radostits et al. (2007), o exame microbiológico do leite é o método mais confiável. Além disso é essencial a realização do antibiograma para detectar a sensibilidade do microrganismo frente aos antibióticos.

Os objetivos deste trabalho são identificar o agente bacteriano 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 e determinar o perfil de sensibilidade dos microrganismos frente aos antimicrobianos, comumente utilizados na rotina do laboratório.

## **METODOLOGIA**

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 2017, totalizando 702 amostras de leite analisadas até o momento. Foi realizado cultivo e identificação bacteriana segundo Becton Dickinson (1984) e Mc Faddin (1980), e a análise do perfil de sensibilidade antimicrobiana de antibióticos, comumente utilizados na rotina do laboratório, ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), eritromicina (15 µg), enrofloxacina (5µg), gentamicina (10 µg), penicilina (10 UI), sulfazotrim (25 µg) e tetraciclina (30 µg), baseando-se na técnica da difusão em ágar descritas por Bauer, et al. (1966).

**Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

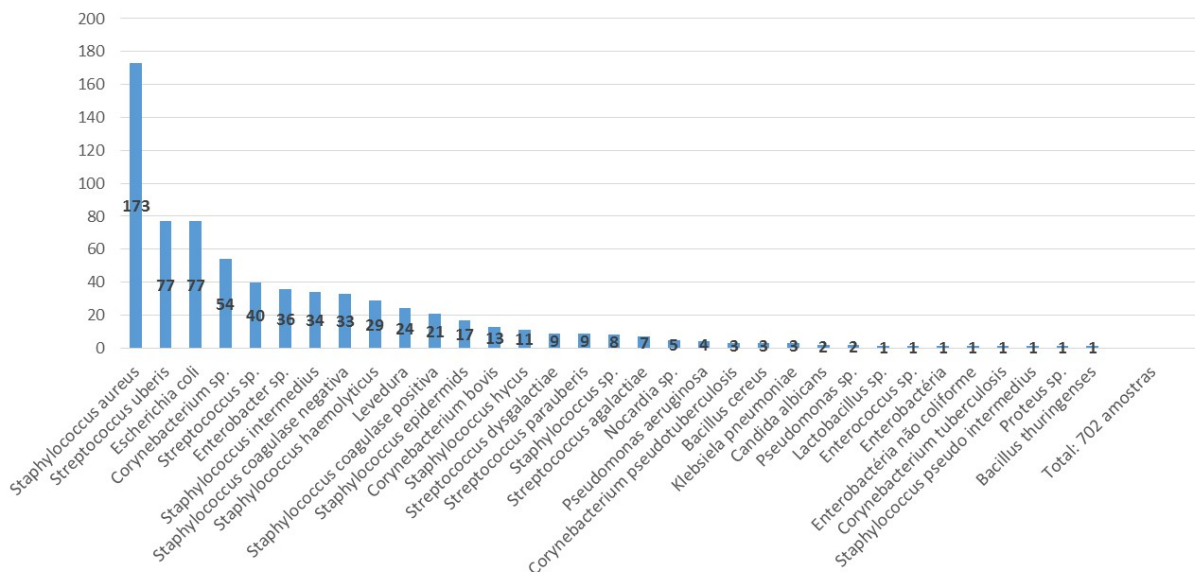
Cada amostra foi identificada, e posteriormente semeada em meio específico, ágar sangue ovino 5% e ágar McConkey e incubadas a 36°C em estufa bacteriológica por um período de 48 horas. Após este período, fez-se a observação visual das colônias crescidas nos meios de cultura e a partir daí realizou-se 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 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 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 consiga agir sobre a bactéria causadora da mastite.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram analisadas 702 amostras de leite provenientes de municípios da região do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 2012 a maio de 2017. A porcentagem da ocorrência dos microrganismos presentes nas amostras analisadas está disposta no gráfico 1.

Gráfico 1. Percentual dos agentes etiológicos encontrados na análise de leite da região Noroeste do RS. LAMIVET, UNIJUI, 2012-2017.



**Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

Os agentes etiológicos com maior ocorrência nas amostras de leite analisadas foram *Staphylococcus aureus* (25%), *Streptococcus uberis* (11%), *Escherichia coli* (11%), *Corynebacterium spp.* (8%), *Streptococcus spp* (6%), *Enterobacter spp.* (5%), e *Staphylococcus intermedius* (5%).

Os patógenos envolvidos com a mastite são classificados como contagiosos e ambientais. De acordo Bradley (2002), os microrganismos contagiosos estão adaptados a sobreviver no organismo do hospedeiro, os quartos mamários infectados servem de reservatório da bactéria. Os principais agentes envolvidos são *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Staphylococcus coagulase negativa* e *Staphylococcus intermedius* (RADOSTITS et al., 2010).

Segundo Bradley (2002) os patógenos ambientais atuam como invasores oportunistas da glândula mamária e não são adaptados a sobreviver no hospedeiro. Os principais microrganismos ambientais, segundo Gruet et al. (2001) são as bactérias gram-negativas principalmente *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus uberis* e *Enterococcus faecalis*.

O perfil de sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos, levou em consideração os agentes com maior ocorrência nas amostras analisadas no LAMIVET. A porcentagem de sensibilidade das bactérias frente aos antibióticos comumente utilizados na rotina do laboratório, estão distribuídas na tabela 1.

**Tabela 1.** Porcentagem de sensibilidade dos agentes etiológicos com maior ocorrência nas amostras de leite frente aos antimicrobianos. LAMIVET, UNIJUI, 2012-2017.

AGENTE ETIOLÓGICO	ANTIMICROBIANOS							
	AMP <sup>1</sup>	CFL <sup>2</sup>	ENO <sup>3</sup>	ERI <sup>4</sup>	GEN <sup>5</sup>	PEN	SUT	TET
<i>Staphylococcus aureus</i>	47%	72%	85%	37%	88%	41%	71%	72%
<i>Streptococcus uberis</i>	61%	68%	89%	62%	81%	49%	76%	66%
<i>Escherichia coli</i>	12%	19%	89%	03%	80%	03%	54%	53%
<i>Corynebacterium spp.</i>	32%	49%	94%	30%	80%	25%	56%	69%
<i>Streptococcus spp.</i>	62%	77%	87%	63%	87%	42%	61%	81%
<i>Enterobacter</i>	36%	37%	89%	28%	86%	08%	49%	39%
<i>Staphylococcus intermedius</i>	53%	75%	94%	34%	88%	39%	72%	79%

Ampicilina<sup>1</sup>, Cefalotina<sup>2</sup>, Enrofloxacina<sup>3</sup>, Eritromicina<sup>4</sup>, Gentamicina<sup>5</sup>, Penicilina<sup>6</sup>, Sulfazotrim<sup>7</sup>, Tetraciclina<sup>8</sup>.

De acordo com a tabela, os antimicrobianos mais eficazes para o tratamento das mastites, foram a enrofloxacina e gentamicina consecutivamente. Já os antimicrobianos que possuem menor ação sobre as bactérias encontradas, foram eritromicina, penicilina e a ampicilina.

Em um estudo feito por Oliveira et al. (2011) dos isolados de *Staphylococcus spp.* coagulase

#### Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

positivo (*S. aureus* e *S. intermedius*), 93% foram sensíveis à tetraciclina e 86% sensíveis à cefalotina e menos sensíveis a ampicilina (40%), penicilina (27%) e eritromicina (33%), obtendo resultados dos antibióticos menos efetivos, semelhantes a presente pesquisa.

De acordo com Freitas et al. (2005) os testes de sensibilidade *in vitro* permitem identificar os estafilococos sensíveis às penicilinas, podendo assim, serem recomendadas no tratamento *in vivo* das mastites. Os patógenos deste gênero isolados no LAMIVET demonstraram baixa sensibilidade a penicilina.

Em estudo anterior, Ulsenheimer e Martins (2016), demonstraram que os antimicrobianos com maior eficiência em relação às cepas de *Streptococcus uberis*, foram enrofloxacina (86%) seguido de norfloxacina (74%), e os com menor ação foram ampicilina (58%) e penicilina (57%). Estes resultados, corroboram com os resultados encontrados neste estudo, onde porcentagens semelhantes de sensibilidade foram encontradas.

Na pesquisa desenvolvida por Oliveira et al. (2011) foi encontrado um perfil de sensibilidade dos *Streptococcus* spp. de 50 % frente a ampicilina, eritromicina e penicilina, compatível aos resultados obtidos nesta investigação, demonstrando multirresistência do agente a antimicrobianos.

Nas amostras de *Escherichia coli* analisadas por Bonora e Rossi (2015), foi descrito baixa sensibilidade para ampicilina (0%) e alta sensibilidade à tetraciclina (83%). Já no presente estudo foram observadas maiores valores de sensibilidade a enrofloxacina, e menores a ampicilina, eritromicina e penicilina.

Oliveira et al. (2011) em seu trabalho descreve alta resistência do gênero *Corynebacterium* spp a penicilina e ampicilina, os resultados encontrados foram semelhantes aos encontrados nessa pesquisa. Segundo Zee e Hirsh (2009) o gênero *Corynebacterium* apresenta sensibilidade a penicilinas, eritromicina e tetraciclina, resultado que difere dos encontrados neste estudo.

#### CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que uma das bactérias mais encontradas nas amostras de leite mastítico da região Noroeste do RS são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*.

Os antimicrobianos mais eficazes para as cepas bacterianas analisadas neste estudo, foram a enrofloxacina (5µg) e a gentamicina (10 µg) e os antimicrobianos menos eficazes no combate das mastites foram ampicilina (10 µg), eritromicina (15 µg) e penicilina (10 UI).

Com tais resultados, é possível enfatizar a grande importância de se realizar a cultura e antibiograma, identificando assim, o agente causador e os princípios ativos mais efetivos contra a bactéria, evitando a ampla utilização de antibióticos de forma errônea e indiscriminada, que favorecem a aquisição de resistência antimicrobiana.

**Palavras-chave:** Mastite, bactérias, antibióticos, leite.



**Evento:** XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**Key words:** Mastitis, bacteria, antibiotics, milk.

## **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.

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

BONORA, J. e ROSSI, E. M. Avaliação do perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphyl. 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.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **The Veterinary Journal**, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.

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**. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.72, n.2, p.171-177, abr./jun., 2005.

GRUET, P.; et al. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, n. 3, p. 245-259, 2001.

OLIVEIRA C.M.C. 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.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W; CONSTABLE, P.D. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 2156, 2007.

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, Janeiro de 2008.

UISENHEIMER, B. C.; MARTINS, L. R. V. **Identificação e perfil de sensibilidade *Streptococcus uberis* de amostras de leite bovino**. Ijuí- RS, Anais Salão do Conhecimento Unijuí, Evento: XXI Jornada de Pesquisa, 2016.

ZEE, Y. C. e HIRSH, D. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan, 2009.