

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

Juniara Bonora*

Eliandra Mirlei Rossi*

RESUMO

A mastite é uma doença bovina de grande impacto econômico e, está diretamente associada aos graves prejuízos para a cadeia de lácteos. Foram analisadas 49 amostras de leite de bovinos de propriedades que produzem o produto comercialmente. Foram inoculados 1 mL de leite em Caldo BHI (Infuso Cérebro Coração) à 36 ± 1 °C por 24 horas, em seguida as amostras foram semeadas em Ágar Sal Manitol, Ágar *MacConkey*, Ágar Sangue e Ágar Cetrimide incubadas a 36 ± 1 °C por 24-48 horas. As colônias características de *E. coli* de *S. aureus* e de *P. aeruginosa*, foram submetidas a coloração de Gram e testes bioquímicos. Para as cepas *S. aureus*, realizou-se a fermentação em Sal Manitol, catalase e coagulase, conforme a Instrução Normativa N° 62 de 26 agosto de 2003 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Os testes de suscetibilidade a antimicrobianos (TSA) foram realizados pelo método de difusão em disco, descrito por Kirby-Bauer, segundo *Comitee for Clinical Laboratory Standard*, 2013. Os resultados apontaram que dos três microrganismos presentes nas amostras de leite coletadas, a bactéria *Staphylococcus aureus* apresentou alta resistência para Penicilina, Eritromicina e Ampicilina, e baixa resistência para sulfazotrim. Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentaram perfil de alta resistência para a maioria dos antibióticos testados. Para os antibióticos ciprofloxacina, cefepime, amicacina e, norfloxacina a bactéria não apresentou resistência. Para *Escherichia coli* foi analisada alta resistência para ampicilina e nitrofurantoína. Não apresentou resistência para amicacina e norfloxacina, no entanto houve um perfil de 100% de sensibilidade para ambos. O estudo sugere que seja realizada a adoção de um programa de controle da mastite para a melhoria da qualidade do leite, que busque identificar os agentes causadores da doença, e sua susceptibilidade aos antibióticos que serão usados no tratamento. Dessa forma, é possível obter melhores resultados no tratamento e controle da enfermidade além, da melhoria na qualidade do produto que será processado industrialmente e ao consumidor final nas condições desejadas.

Palavras chaves: Mastite. Antibióticos. Resistência. Sensibilidade.

ABSTRACT

* Pós Graduada – Pós Graduação em Microbiologia Industrial e de Alimentos, Bacharel em Biomedicina. Universidade do Oeste de Santa Catarina - UNOESC.

E-mail para correspondência: juny__@hotmail.com

* Orientadora – Doutoranda em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS.

E-mail para correspondência: eliandra.rossi@unoesc.edu.br

Bovine Mastitis is a disease of great economic impact and is directly associated with severe damage to the dairy chain. Were analyzed 49 milk samples from cattle farms which produce the product commercially. 1 mL of milk were inoculated in BHI broth (Brain Heart Infused) at 36 ± 1 ° C for 24 hours, then the samples were plated on Mannitol Salt Agar, MacConkey Agar, Blood Agar Cetrimide Agar and incubated at 36 ± 1 ° C by 24-48 hours. The characteristics of the colonies of *E. coli* of *S. aureus* and *P. aeruginosa*, were subjected to Gram staining and biochemical testing. *S. aureus* strains for, held in Salt Mannitol fermentation, catalase and coagulase, according to Normative Instruction No. 62 of August 26, 2003 of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA). The antimicrobial susceptibility testing (TSA) were performed by the disk diffusion method, described by Kirby-Bauer, second *Committee for Clinical Laboratory Standards*, 2013 The results showed that the three microorganisms present in milk samples collected, the bacteria *Staphylococcus aureus* showed high resistance to penicillin, ampicillin and erythromycin, and low resistance to sulphazotrin. *Pseudomonas aeruginosa* strains showed high resistance profile for the majority of antibiotics. For antibiotics ciprofloxacin, cefepime, amikacin, and norfloxacin bacteria showed no resistance. *Escherichia coli* was analyzed high resistance to ampicillin and nitrofurantoin. Showed no resistance to amikacin and norfloxacin, however there was a profile 100% sensitivity for both. The study suggests that the adoption of a mastitis control program for the improvement of milk quality, which seeks to identify the causative agents of the disease, and their susceptibility to antibiotics that are used in the treatment is performed. Thus, it is possible to obtain better results in the treatment and control of disease in addition, the improvement in the quality of the product that will be industrially processed to the final consumer and the desired conditions.

Keywords: *Mastitis. Antibiotics. Resistance. Sensitivity.*

1 INTRODUÇÃO

O leite é considerado como um dos produtos com elevadas possibilidades de crescimento. Estima-se que a produção mundial deverá crescer a uma taxa anual de 1,9%, correspondendo a uma produção de 41,3 bilhões de litros de leite cru no final do período das projeções de 2012/13 a 2022/23, com variação de 20,7% maior do que a produção de 2013 (BRASIL, 2013).

Já a produção de leite no Brasil cresceu mais de 4,0% ao ano nos últimos 4 anos. Isso, segundo técnicos da Embrapa Gado de Leite sugere que as taxas de crescimento projetadas para a produção mundial são baixas (BRASIL, 2013).

Atualmente, Santa Catarina é o quarto maior produtor de leite do Brasil. Principalmente na região do extremo Oeste, a atividade exerce grande importância econômica presente em praticamente todas as propriedades rurais. Os produtores do Oeste contribuem com 70% do leite do Estado. Diante disso, tem-se necessidade

de aplicar melhorias na estrutura produtiva, a fim de garantir o constante aumento da produção e a qualidade do leite produzido (BRASIL, 2013).

Por sua vez, a qualidade do leite e os aspectos sanitários do rebanho tem sido alvo de várias discussões. Geralmente, entre os problemas sanitários em vacas leiteiras, as infecções nas glândulas mamárias são as que representam maior prejuízo para o produtor. Através das infecções há diminuição na secreção e qualidade do leite, maior necessidade de reposição de animais, gastos elevado com a prevenção, tratamento e controle de doenças e aumento de tempo extra com o manejo (WALCHER, 2012).

A mastite é uma doença bovina de grande impacto econômico e, está diretamente associada aos graves prejuízos para a cadeia de lácteos. Os maiores problemas da doença se devem à redução da produção de leite, à interferência com a qualidade e o encurtamento da vida de prateleira do leite processado e seus derivados. O impacto da mastite vai com o leite além dos portões da fazenda atingindo, sobretudo, o consumidor final dos produtos lácteos (BRITO, 2009).

A principal causa da mastite tem grande correlação com a falta de assepsia durante a ordenha e é causada por várias espécies de microrganismos como bactérias, fungos, leveduras e vírus patogênicos que, penetram através do orifício das tetas, atingem a glândula mamária, produzem toxinas ou enzimas que atraem as células de defesa do organismo (ZENI, 2012).

A doença pode ser transmitida entre animais e no mesmo animal e entre os principais patógenos responsáveis por 95% das infecções por mastite nos rebanhos leiteiros estão microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, e, patógenos com menor incidência como *Corynebacterium bovis*, *Escherichia coli*, *Actinomyces pyogenes*, *Candida albicans*, *Mycoplasma bovis* e, *Pseudomonas aeruginosa* (ZENI, 2012).

A grande maioria dos microrganismos causadores da mastite são microbiota natural dos bovinos ou do meio ambiente. Por essa razão, devem ser direcionados esforços para a adoção de programas de controle da doença, uma vez que é praticamente impossível sua erradicação dos rebanhos leiteiros. Para que esse controle seja realizado de forma adequada e permanente, é importante conhecer as características da doença e prevenir sua ocorrência (ZENI, 2012).

Para manter a saúde dos rebanhos leiteiros, é comum o emprego de antimicrobianos para a prevenção e combate a doenças, principalmente a mastite. Estes medicamentos usados para tratar a doença são uma preocupação importante para a indústria e para a saúde pública (ZENI, 2012).

O leite pode veicular resíduos de antimicrobianos como resultado do manejo incorreto das drogas nos animais, o que contribui para a seleção de cepas bacterianas resistentes, desequilíbrio da microbiota intestinal, efeitos teratogênicos, reações de hipersensibilidade e inibição da multiplicação bacteriana com redução da carga microbiana em análises laboratoriais. Na indústria, os resíduos de antimicrobianos podem causar diversos problemas tecnológicos como, por exemplo, a inibição da atividade de cultura starter na produção de produtos lácteos (NASCIMENTO et al., 2001; NERO et al., 2007).

Além disso, a presença de resíduos de antibióticos no leite pode promover sabores indesejáveis reduzindo o valor dos produtos lácteos e a presença desses medicamentos que conseqüentemente pode causar problemas de saúde nos consumidores (NASCIMENTO et al., 2001; NERO et al., 2007).

Dessa forma, a realização de ações de controle da mastite bovina é de vital importância para a diminuição dos casos da doença. A proliferação de bactérias pode ser evitada com a higienização correta do úbere da vaca e das mãos dos ordenadores bem como dos equipamentos de ordenha. Além disso, as salas devem ser apropriadas para a ordenha, manejo e tratamento correto dos animais infectados e, sobretudo deve-se realizar com periodicidade os testes para a identificação precoce da doença evitando sua proliferação (MALUF, 2009; WATTIAUX, 2014).

O fator chave de controle da doença está na sua prevenção que está baseada na redução do número de bactérias e outros microrganismos no qual a glândula mamária possa estar exposta. Dessa forma, limitar a prevalência das infecções e por conseqüência diminuir os impactos econômicos na atividade leiteira é o grande desafio. Sobretudo, só será possível obter a melhoria na qualidade do leite produzido e, diminuir as perdas econômicas para o produtor se houver conscientização das ações que devem ser imediatamente tomadas que, muitas vezes implicarão até no sacrifício do animal (MALUF, 2009).

Desse modo, esse trabalho apresenta informações a respeito da mastite, relaciona e discute os procedimentos reconhecidos pela eficácia no controle da doença, bem como a correta aplicação de antibióticos para controlar a mastite e evitar que os microrganismos presentes desenvolvam resistência ao medicamento, além do que é importante respeitar a carência para o uso do leite na produção de seus derivados. Dessa forma, tem-se por objetivo avaliar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* isolados de leite de bovinos com mastite no extremo Oeste de Santa Catarina, uma vez que esta infecção tem sido um dos maiores problemas enfrentados pelos produtores, afetando a qualidade e a quantidade do leite produzido, resultando muitas vezes no descarte do animal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 49 amostras de aproximadamente 100 mL de leite dos animais das propriedades que produzem comercialmente leite, no extremo Oeste de Santa Catarina. As coletas foram realizadas assepticamente em frascos estéreis, ocorrendo assepsia no úbere do animal antes da coleta e, desprezando os três primeiros jatos de leite. As amostras foram mantidas refrigeradas para o transporte ao Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico de Microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina - UNOESC, Campus de São Miguel do Oeste - SC.

Inicialmente, foram inoculados 1 mL da amostra em um tubo contendo caldo BHI (Infuso Cérebro coração) e incubadas em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas para o crescimento das bactérias. Em seguida as amostras foram semeadas em Ágar Sal Manitol, Ágar *MacConkey*, Ágar Sangue e Ágar Cetrimide incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24-48 horas.

As colônias características de *E. coli* de *S. aureus* e de *Pseudomonas aeruginosa*, foram identificadas através de teste tintorial (Coloração de Gram) e testes bioquímicos. Para identificação de *Staphylococcus aureus*, foi realizada a fermentação em Sal Manitol, catalase e coagulase, conforme a Instrução Normativa N° 62 de 26 agosto de 2003 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Para *Escherichia coli* foram realizadas as provas de catalase, citocromo oxidase, prova de oxidação – fermentação, produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S),

produção de indol, motilidade, teste de assimilação de citrato, ágar tríplice ferro (TSI), Vermelho de metila (VM), teste de *Voges Proskauer* (VP) e prova de urease. (MACFADDIN, 2000). Na identificação de *Pseudomonas aeruginosa*, foi realizada coloração de Gram e provas bioquímicas convencionais, como citocromo-oxidase, crescimento a 42°C, motilidade, produção de H₂S, redução de nitrato e produção de indol (FUENTEFRIA et al, 2008).

Os testes de suscetibilidade a antimicrobianos (TSA) foram realizados pelo método de difusão em disco, descrito por Kirby-Bauer, segundo as recomendações do “*Comitee for Clinical Laboratory Standard – CLSI*” (CLSI, 2013).

Para as cepas de *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* foram testados os seguintes antimicrobianos: norfloxacin (10 µg), cefoxitina (30 µg), amicacina (30 µg), cefepime (30 µg), aztreonam (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), ampicilina (10 µg), tetraciclina (30 µg), nitrofurantoína (300 µg), sulfazotrim (25 µg) e imipenem (10 µg).

Para as cepas de *S. aureus* foram testados os seguintes antimicrobianos: norfloxacin (10 µg), gentamicina (10 µg), cefoxitina (30 µg), eritromicina (15 µg), penicilina (10 µg), cefepime (30 µg), enrofloxacin (5 mcg), ciprofloxacina (5 µg), ampicilina (10 µg), tetraciclina (30 µg), nitrofurantoina (300 µg) e sulfazotrim (25 µg).

Foi realizada a leitura após 12 à 18 horas de incubação, por meio da medição dos halos, com o auxílio de uma régua milimetrada e tabela para leitura de sensibilidade a antimicrobianos. As medidas dos diâmetros das zonas de inibição foram definidas em três categorias de cepas: sensível, intermediário e resistente.

Para análise e discussão dos resultados, foram consideradas como cepas resistentes aquelas que apresentaram resistência e suscetibilidade intermediária para o antibiótico.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 49 amostras de leite com suspeita de mastite analisadas, 13 (27%) amostras não apresentaram nenhum tipo de infecção, sendo que no restante das amostras os microrganismos mais frequentemente encontrados foram com 27 (55%) se apresentaram positivas para *Staphylococcus aureus*, 6 (12%) positivas para *Escherichia coli* e 3 (6%) foram positivas para *Pseudomonas aeruginosa*.

Quanto ao perfil de suscetibilidade encontrada para as cepas isoladas, pode-se observar na tabela 1 os resultados dos antibióticos testados em cepas de *Staphylococcus aureus* isolados em leite de bovinos com mastite comprovada.

Tabela 1. Antibióticos testados em cepas de *Staphylococcus aureus* isolados em leite de bovinos com mastite.

Antibiótico	Concentração do disco	Resistentes %	Sensível %
Penicilina	10 µg	27 (100%)	0(0 %)
Ampicilina	10 µg	22 (81%)	5 (19%)
Eritromicina	15 µg	24 (89%)	3 (11%)
Cefoxitina	30 µg	13 (48%)	14 (52%)
Ciprofloxacina	5 µg	6 (22%)	21(78%)
Gentamicina	10 µg	7 (26%)	20 (74%)
Cefepime	30 µg	8 (30%)	19 (70%)
Enrofloxacina	5 mcg	8 (30%)	19 (70%)
Norfloxacina	10 µg	4 (15%)	23(85%)
Nitrofurantoína	300 µg	12 (44%)	15 (56%)
Sulfazotrim	25 µg	2 (7%)	25 (93%)
Tetraciclina	30 µg	13 (48%)	14 (52%)

Fonte: A autora.

Os resultados variaram em função do perfil de resistência e sensibilidade da bactéria aos antibióticos analisados. Foram analisadas 27 amostras, tendo para a cepa de *Staphylococcus aureus* o maior perfil de resistência para penicilina representando 100% das amostras e eritromicina e ampicilina com 89% e 81% das cepas respectivamente. O menor perfil de resistência ao antibiótico foi verificado para sulfazotrim, onde apenas 2 amostras mostraram esse perfil, representando apenas 7% das amostras analisadas.

Para o teste de sensibilidade, a cepa de *Staphylococcus aureus* mostrou-se sensível ao antibiótico sulfazotrim em 93% das amostras e, norfloxacina em 85%

das amostras analisadas. Para a penicilina, nenhuma amostra apresentou sensibilidade.

Vários estudos como, por exemplo, o de Ribeiro et al. (2009) que verificou que de 74 vacas com mastite clínica, 25% tinham a infecção causada por *S. aureus*. Outros pesquisadores também obtiveram resultados semelhantes com 27% das amostras de leite analisadas com mastite comprovada causada por *S. aureus* (RANJAN et al., 2011), demonstrando que essa bactéria ainda é um dos principais microrganismos causadores de mastite.

Esses resultados encontrados com elevado número de casos de mastites causadas por *S. aureus* é possível pelo fato dessa bactéria ser patogênica e a glândula mamária infectada é o principal reservatório e fonte do microrganismo, mantendo uma infecção constante no rebanho (RADOSTITS et al., 2002).

A infecção está associada a fatores intrínsecos do animal. O microrganismo pode estar presente na pele ou orifícios externos das tetas dos animais, no alimento, outros animais na fazenda e equipamentos. Outro fator que pode contribuir para incidência desse microrganismo nos casos de mastite são as técnicas ineficientes de limpeza da teta e úbere do animal, que podem permitir a disseminação do microrganismo para os outros quartos mamários da mesma vaca e propiciar a contaminação das unidades de ordenha, transferidas de uma vaca a outra sem serem lavadas ou enxaguadas (RADOSTITS et al., 2002).

A verificação da resistência e sensibilidade de *S. aureus* aos diferentes antibióticos empregados no estudo em amostras de leite com mastite bovina tem grande importância para o clínico veterinário, por que tem por objetivo fornecer subsídios para o tratamento do animal acometido. Além disso, isso evitará que os demais animais submetidos às mesmas condições de manejo de ordenha estejam expostos à mesma infecção.

A frequência de *S. aureus* resistentes a diferentes grupos de antibióticos usados para combater a mastite bovina, muitas vezes está associada entre outros fatores a má utilização dos antibióticos como subdosagem e período insuficiente de tratamentos dos animais. Assim, a doença que está associada aos procedimentos higiênicos de manejo de ordenha mal conduzida, que propiciam a existência de

portadores de cepas da bactéria resistente, facilita a sua transmissão entre os animais criados no mesmo ambiente.

Estudos realizados avaliaram o perfil de sensibilidade antimicrobiana de 45 cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de dez amostras de queijo tipo coalho comercializado nas praias nordestinas, encontraram elevado percentual de resistência: 100% para penicilina; 91% para tetraciclina; 75,5% para vancomicina; 71,1% para gentamicina; 66,7% para oxacilina; 60% para eritromicina; 48,9% para cefalotina e 26,7% para sulfazotrin. Os estudos destacaram a necessidade de medidas de controle no uso indiscriminado de antimicrobianos (RAPINI et al., 2004; ARAÚJO, 2010).

Demais estudos avaliaram a prevalência de *Staphylococcus aureus* multirresistente em leite de grandes e pequenos produtores no Quênia, pelo perfil de susceptibilidade à penicilina G, tetraciclina, eritromicina, trimetoprim / sulfametazina, e cloranfenicol em 402 isolados de leite de vacas com mastite subclínica. A resistência múltipla, definida como a falta de sensibilidade a pelo menos dois antimicrobianos de diferentes classes, foi observada em 69 (34,3%) dos isolados nas pequenas propriedades em comparação com 36 (17,9%) dos isolados das grandes fazendas (SHITANDI, STERNESJO, 2004).

Conforme os estudos realizados por Marconatto (2011) no município de Santa Helena – SC, das 31 amostras de leite coletadas, 23% apresentaram resultado positivo para contaminação por *S. aureus* e 7% apresentaram resultado positivo para contaminação por *E.coli*. O autor ressalta que nos testes de suscetibilidade realizados com as cepas de *S.aureus* isoladas, o perfil de resistência apresentado chegou a cerca de 9,5% a pelo menos um dos antibióticos testados, somando-se aos 3,2% que apresentaram um perfil intermediário e que para o trabalho são também considerados resistentes, obteve-se um total de 12,7% de resistência e 87,3% de sensibilidade aos 9 antibióticos testados

Os antibióticos testados em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isolados em leites de bovinos com mastite (tabela 2) mostram perfis semelhantes entre os antibióticos testados.

Tabela 2. Antibióticos testados em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isolados em leite de bovinos com mastite.

Antibiótico	Concentração do disco	Resistentes %	Sensível %
Ampicilina	10 µg	3 (100%)	0 (0%)
Imipenem	10 µg	3 (100%)	0 (0%)
Cefoxitina	30 µg	3 (100%)	0 (0%)
Ciprofloxacina	5 µg	0 (0%)	3(100%)
Aztreonam	10 µg	1 (33%)	2 (67%)
Cefepime	30 µg	0 (0%)	3 (100%)
Amicacina	30 µg	0 (0%)	3 (100%)
Norfloxacina	10 µg	0 (0%)	3 (100%)
Nitrofurantoína	300 µg	3 (100%)	0 (0%)
Sulfazotrim	25 µg	3 (100%)	0 (0%)
Tetraciclina	30 µg	3 (100%)	0 (0%)

Fonte: A autora.

O perfil de suscetibilidade antimicrobiana das três cepas de *Pseudomonas aeruginosa* demonstrou que as bactérias eram resistentes para ampicilina, imipenem, cefoxitina, nitrofurantoína, sulfazotrim e tetraciclina.

A mastite bovina por *Pseudomonas* spp. está intimamente relacionada à água contaminada utilizada na lavagem dos tetos, dos insufladores, da canalização do equipamento de ordenha e, do conteúdo reutilizável de pré e pós-dipping. A ocorrência de mastite por *Pseudomonas aeruginosa* é mais incomum. Entretanto, já foram descritos surtos de mastite com manifestações clínicas graves nas primeiras semanas de pós-parto (FERNANDES, 2009).

Classicamente os casos de mastite por *P. aeruginosa* são descritos como manifestações clínicas agudas, nas primeiras semanas de lactação, com redução abrupta na produção de leite e perda da função glandular (RADOSTITS et al., 2007).

Tanaka et al. (2002) investigaram o perfil de sensibilidade *in vitro* de linhagens de *P. aeruginosa* isoladas de diferentes afecções em animais e encontraram resistência múltipla das linhagens para os antibióticos ampicilina, tetraciclina e

enrofloxacin, e sensibilidade para a gentamicina. A elevada resistência dos 19 isolados de *P. aeruginosa* é similar aos resultados de outros estudos, que também mostram multirresistência da bactéria aos antimicrobianos de uso em medicina humana e/ou veterinária (RADOSTITS et al., 2007).

A presença de surto de mastite bovina por linhagens de *P. aeruginosa*, resistentes e, de potencial zoonótico, inclusive em animais com mastite subclínica, cujo leite pode ser enviado para o laticínio ou consumo in natura, reforça a importância para os procedimentos de controle e profilaxia de mastite em rebanhos leiteiros. Além disso, denota as condições higiênico-sanitárias para tratamento dos animais que facilitam a disseminação da doença.

Os antibióticos testados em cepas de *Escherichia coli* isolados do leite de bovinos com mastite comprovada mostram perfis de suscetibilidade diferentes entre os antibióticos testados (tabela 3).

Tabela 3. Antibióticos testados em cepas de *Escherichia coli* isolados em leite de bovinos com mastite.

Antibiótico	Concentração do disco	Resistentes %	Sensível %
Ampicilina	10 µg	6 (100%)	0 (0%)
Imipenem	10 µg	4 (67%)	2 (33%)
Cefoxitina	30 µg	2 (33%)	4 (67%)
Ciprofloxacina	5 µg	1 (17%)	5 (83%)
Aztreonam	10 µg	1 (17%)	5 (83%)
Cefepime	30 µg	1 (17%)	5 (83%)
Amicacina	30 µg	0 (0%)	6 (100%)
Norfloxacina	10 µg	0 (0%)	6 (100%)
Nitrofurantoína	300 µg	5 (83%)	1 (17%)
Sulfazotrim	25 µg	1 (17%)	5 (83%)
Tetraciclina	30 µg	1 (17%)	5 (83%)

Fonte: A autora.

Foram analisadas 6 amostras com presença de *Escherichia coli* que apresentaram maior perfil de resistência para ampicilina em 100% das amostras e

de 83% para o antibiótico nitrofurantoína. A menor resistência observada para a bactéria foi para os antibióticos amicacina e norfloxacina onde não houve resistência alguma.

Para o mesmo número de amostras foi observado para os antibióticos amicacina e norfloxacina em que a bactéria não apresentou resistência, um perfil de 100% de sensibilidade, porém, para o antibiótico ampicilina não foi observada sensibilidade da bactéria.

A eficácia dos antimicrobianos no tratamento de mastite causada por *E. coli* é considerado questionável porque as principais manifestações clínicas da doença estão relacionadas a atividade de endotoxinas e à subsequente liberação de mediadores inflamatórios. Alguns estudos experimentais sobre a mastite bovina aguda causada por *Escherichia coli* relatam que não foi observada nenhuma melhora significativa nas taxas de recuperação após aplicação de antibióticos. Assim, a resistência aos antibióticos é o principal obstáculo ao tratamento da mastite bovina. O tratamento da doença com antibiótico é de benefício questionável, mas pode melhorar as taxas de recuperação em animais imunodeficientes (QUINN, 2002).

As medidas apropriadas para prevenção e controle da mastite bovina diferem, conforme os microrganismos causadores sejam de origem contagiosa ou ambiental. Embora, algumas medidas, como um funcionamento correto de ordenha, contribuam à prevenção de condições predisponentes, é essencial que os principais patógenos causadores da mastite em uma propriedade sejam identificados a fim de formular estratégias de controle eficazes (QUINN, 2002).

Pesquisas apontam que bactérias do gênero Gram negativas, nesse caso *Escherichia coli*, mostraram os melhores resultados em sulfazotrin com 100% de sensibilidade e cloranfenicol com 66,6%. Os demais antibióticos não apresentaram resultados expressivos (ITAVO, 2009). Os autores atribuíram os altos índices de *E. coli* às práticas de manejo precárias e manutenção inadequada dos equipamentos de ordenha. Os antibióticos que obtiveram melhor eficiência contra esse patógeno foram o sulfatropim e o cloranfenicol (ITAVO, 2009).

Os resultados encontrados em nosso trabalho, demonstram um dos principais problemas enfrentados para o controle de mastite, a resistência aos antimicrobianos,

sendo este encontrado frequentemente na maioria dos casos, pois o uso desses medicamentos é frequente e muitas vezes errôneo, o que contribui para o aumento da resistência aos antimicrobianos que conseqüentemente dificulta a eliminação da infecção.

Desse modo, esses resultados serão discutidos com os produtores participantes deste estudo, com intuito de discutir maneiras para evitar a disseminação desses microrganismos, bem como o controle de uma das principais infecções do gado leiteiro.

3 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo permitem concluir que dos três microrganismos presentes nas amostras de leite coletadas houve diferenças entre si em relação aos perfis de resistência e sensibilidade aos antimicrobianos. A bactéria *Staphylococcus aureus* apresentou alta resistência para Penicilina, Eritromicina e Ampicilina, e baixa resistência para sulfazotrim.

Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentaram perfil de alta resistência para a maioria dos antibióticos testados. Para os antibióticos ciprofloxacina, cefepime, amicacina e, norfloxacina a bactéria não apresentou resistência.

Para *Escherichia coli* foi analisada alta resistência para Ampicilina e nitrofurantoína. Não apresentou resistência para amicacina e norfloxacina, no entanto houve um perfil de 100% de sensibilidade para ambos.

Sugere-se a adoção de um programa de controle da mastite para a melhoria da qualidade do leite, que identifique os agentes e sua suscetibilidade aos antibióticos usados para optar pela melhor escolha do tratamento, que poderá representar a qualidade do produto para a indústria e conseqüentemente para o consumidor final.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, M. M. P. **Validação De Métodos Imunoenzimáticos Para Determinação De Resíduos De Antimicrobianos No Leite.** (Dissertação) - Mestre em Ciência Animal da UFMG – Escola de Veterinária, Belo Horizonte: MG, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão Estratégica. – Brasília: Mapa/ACS, 2013. 96 p.

BRITO, M. A. V. P. Diagnóstico Microbiológico Da Mastite Bovina. **Revista Embrapa Gado de Leite**. v. 57, n. 327, Juiz de Fora: MG, 2009. p. 83-88.

FERNANDES, M.C. et al. Surto de mastite bovina causada por linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes aos antimicrobianos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 61, n.3, p.745-748, Botucatu, SP: 2009.

FUENTEFRIA, D.B. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 41(5):470-473, set-out, 2008.

ITAVO, L. C. V. **Mastite Bovina**: Agentes Etiológicos e Antibiograma. FZEA/USP-ABZ. Águas de Lindóia: SP, 18 a 22 de maio de 2009.

MACFADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

MALUF, H. J. G. M. et al. Aspectos gerais do Manejo Preventivo da Mastite Bovina. **II Semana de Ciência e Tecnologia IFMG Campus Bambuí e II Jornada Científica**. Bambuí: MG, 19 a 23 de Outubro de 2009.

NASCIMENTO, G. G. F. et al. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 119-124, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?arttext>>. Acesso em: 04 jun. 2014

NERO, L. A. et al. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 27, n. 2, p. 391- 393, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n2/30.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2014

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Editora ARTIMED: São Paulo, 2002.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária**: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

RADOSTITS, O.M. et al. **Veterinary medicine**: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 10.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2007. p.724-725.

RANJAN, R.; GUPTA, M. K.; SINGH, K. K. Study of bovine mastitis in different climatic conditions in Jharkhand, India. **Revista Veterinary World**. v. 4, n. 5, Maio de 2011.

RAPINI, L. S. et al. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenia**. v.56, n.1, p.130-133, 2004.

RIBEIRO, M. G. et. al. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo – SP, v. 29, n. 1, p. 52-58, jan. 2009.

SHITANDI, A.; STERNESJO, A. **Prevalence of Multidrug Resistant Staphylococcus aureus in Milk from Large and Small-Scale Producers in Kenya**. J. Dairy Cienc. v. 87, n.12, p.4145-4149, 2004.

TANAKA, E.M. et al. Tris-EDTA no teste de sensibilidade antimicrobiana in vitro em amostras de *Pseudomonas aeruginosa*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.54, Botucatu, SP: 2002.

ZENI, F. A importância da qualidade da ordenha no controle de mastite bovina. **Monografia**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Veterinária. Porto Alegre, 2012. p. 62.

WALCHER, U. **Mastite Bovina** – Revisão. Universidade do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina Veterinária. Porto Alegre, 2012.

WATTIAUX, Michel A. MASTITE: A DOENÇA E SUA TRANSMISSÃO. **Instituto Babcock para Pesquisa e Desenvolvimento da Pecuária Leiteira Internacional**. *University of Wisconsin-Madison*. Babcock Institute, 2014.