

RESISTÊNCIA DE *Staphylococcus coagulase* positiva E *Streptococcus* sp. ISOLADOS DO LEITE DE VACAS COM MASTITE CLÍNICA NA BACIA LEITEIRA DE GOIÂNIA¹

Paulo Cesar Moreira², Luiz Antônio Franco da Silva³ e Albenones José de Mesquita³

ABSTRACT

Susceptibilities/Resistance of *Staphylococcus coagulase* Positive and *Streptococcus* sp. Isolated from the Milk of Cows Presenting Clinical Mastitis in Milk Basin of Goiânia

It was verified the spectrum of susceptilities/resistance of 76 samples of *Staphylococcus coagulase* positive and 51 samples of *Streptococcus* sp., isolated from milk of 231 cows presenting clinical mastitis. The diffusion method was used in plate of Kirby-Bauer, being tested ten active principles used in cases of clinical mastitis. Natural penicillin, chloranphenicol, tetracycline, kanamicyn, gentamicyn, nitrofurantoin, trimetopryn + sulfametoxazol, enrofloxacyln, perlimicyn and ceftiofur were tested. The samples of *Staphylococcus coagulase* positive presented a spectrum of larger resistance for the penicillin (78,9%), followed by trimetoprim + sulfametoxazol (59,2%) and nitrofurantoin (57,8%). The largest susceptilitys frequency was found in enrofloxacyln (96%), in perlimicyn (94%) and in ceftiofur (94%). For the samples of *Streptococcus* sp. there was a profile resistance for penicillin (92%), chloranphenicol (74,5%) and trimetoprim + sulfametoxazol (52%). A sensibility profile was also verified for enrofloxacyln (96%), ceftiofur (92%) and perlimicyn (92%).

KEY WORDS: Bovine mastitis, resistance, susceptibilities.

RESUMO

Verificou-se o espectro de sensibilidade/resistência de 76 cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva e 51 cepas de *Streptococcus* sp., isolados do leite proveniente de 231 vacas que apresentaram mastite clínica. Utilizou-se o método de

1 - Entregue para publicação em outubro de 1997.

2 - Departamento de Zootecnia da Universidade Católica de Goiás. Campus II - Parque Ateneu. E-mail: pcmoreira@mail.cultura.com.br

3 - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. C. P. 131. CEP. 74001-970 - Goiânia - GO.

difusão em placa, segundo Kirby-Bauer, testando-se 10 princípios ativos: penicilina natural, cloranfenicol, tetraciclina, kanamicina, gentamicina, nitrofurantoína, trimetoprim + sulfametoxazol, enrofloxacina, perlimicina e ceftiofur. As cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva apresentaram um espectro de resistência maior para a penicilina (78,9%), vindo a seguir trimetoprim + sulfametoxazol (59,2%) e nitrofurantoína 57,8%). A maior frequência de sensibilidade foi encontrada frente à enrofloxacina (96%), secundada pela perlimicina (94%) e ceftiofur (94%). Já para as cepas de *Streptococcus* sp. encontrou-se um perfil de resistência para a penicilina de 92%, para o cloranfenicol de 74,5% e para o trimetoprim + sulfametoxazol de 52%, enquanto o perfil de sensibilidade para enrofloxacina foi de 96%, para ceftiofur, de 92%, e para perlimicina, de 92%.

PALAVRAS-CHAVE: Mastite bovina, sensibilidade, resistência.

INTRODUÇÃO

A grande ocorrência de mastites no rebanho leiteiro goiano talvez possa ser explicada pela inexistência de um programa específico de controle e pela inobservância das formas de diagnóstico corretas, que, além de reduzir seus índices, certamente diminuiria as formas de tratamentos inespecíficos como a utilização indiscriminada de antibióticos. Isso tem resultado em maior número de bactérias resistentes a antimicrobianos, bem como no desequilíbrio das microbiotas induzido por uso de fármacos de difícil manuseio e que requerem um conhecimento prévio para sua preparação. Esse quadro é agravado pelo fato de a maioria da mão-de-obra rural do Estado ser formada por pessoal despreparado e inabilitado, apesar do alto valor zootécnico do rebanho.

O número de pesquisas microbiológicas envolvendo mastite não deixa dúvidas sobre a extensão do problema. A gama de medicamentos comercializados livremente, sem controle oficial, e sua utilização cada vez mais ampla por leigos posicionam-se como fatores de ponta na determinação dos resultados até agora obtidos. Somem-se a isso a administração de subdoses – seja como promotora de crescimento, seja por desconhecimento da posologia ideal por parte do aplicador –, a redução ou elevação do número de dias de tratamento e a utilização rotineira de produtos “consagrados pelo público” sem que se obedeça aos critérios específicos de indicação terapêutica. É também comum a utilização de antibióticos sem que seja observada uma correlação de especificidade entre os antimicrobianos e os patógenos determinantes do processo. Isso faz com que os produtos sejam mal utilizados ou subutilizados e que o processo morboso persista como um determinante em potencial de cronicidade, sendo fator importantíssimo no desenvolvimento do fenômeno da resistência.

Costa *et al.* (1985/1986/1987) analisaram 590 amostras de leite da bacia leiteira de Goiânia, onde observaram que a maior parte da resistência antimicrobiana residia na

penicilina G, estreptomicina e eritromicina. Quando do isolamento de *Staphylococcus aureus*, Cardoso & Schwartz (1992) detectaram resistência ao cloranfenicol em 11 das 217 cepas isoladas. Buragohain & Dutta (1991) detectaram resistência aos macrolídeos em 23 cepas de *Streptococcus* pesquisadas. Por outro lado, 30% das cepas de *Staphylococcus* isoladas por Brown & Roberts (1991), em glândula mamária doente, eram resistentes à tetraciclina. Lopes *et al.* (1990) analisaram a suscetibilidade de 760 *Staphylococcus aureus*, isoladas de infecções animais, infecções humanas e humanos sadios, em Botucatu-SP, testando a resistência a sete antibióticos. As cepas isoladas em infecções eram mais resistentes aos antibióticos de largo espectro que as outras cepas.

Rajangan *et al.* (1989) testaram sete antibióticos em infecções mastíticas e verificaram que a maior sensibilidade microbiana recaía sobre a gentamicina, vindo o cloranfenicol a seguir. Pereira & Siqueira-Júnior (1995), trabalhando na Paraíba, isolaram *S. aureus* de 46 amostras de leite mastítico, testando sua sensibilidade frente a 21 agentes antimicrobianos. A resistência à penicilina foi a mais frequente, seguida pelo cádmio, estreptomicina, arseniato, tetraciclina, mercúrio e eritromicina.

Domingues *et al.* (1994) verificaram que os *Staphylococcus* sp. isolados de leite mastítico apresentavam maior taxa de resistência à ampicilina, enquanto Hinkley *et al.* (1985), após isolarem *Streptococcus* e *Staphylococcus* do leite de 1.237 quartos mamários, verificaram que os perfis de sensibilidade de cada rebanho podem diferir-se, sendo necessária uma padronização nos casos de sensibilidade/resistência para se ter sucesso no tratamento. Biljic & Romanic (1994) também verificaram múltipla resistência em 34,9% das cepas de *S. aureus*, sendo que 87% delas foram resistentes à penicilina G, 55% à estreptomicina, 26,7% à eritromicina, 25,5% à oxitetraciclina, 17% à lincomicina e 10% à neomicina.

Perrin-Coullioud *et al.* (1988) realizaram um ensaio de resistência da espécie *S. aureus* isolada de leite mastítico bovino frente a diversos antibióticos comerciais. Os autores observaram que a maior taxa de resistência recaiu sobre as sulfonamidas, vindo logo após a estreptomicina, a tetraciclina e o cloranfenicol. Costa *et al.* (1995) estudaram a dinâmica da resistência dos patógenos envolvidos na mastite bovina a 12 antibióticos e quimioterápicos. Após estudo de 8.826 amostras de leite provenientes de vacas com mastite subclínica, os autores verificaram um aumento de cepas resistentes de *Staphylococcus* sp. frente a alguns antimicrobianos como oxacilina, cloranfenicol, tetraciclina, bem como um menor número de cepas resistentes à penicilina, à gentamicina e ao sulfazotrin. Em relação ao *Streptococcus* sp. eles notaram aumento de cepas resistentes à oxacilina, à gentamicina e uma redução do número de cepas resistentes ao cloranfenicol e ao sulfazotrin, permanecendo constante a resistência à penicilina.

Neste estudo procurou-se comparar os perfis de sensibilidade/resistência *in vitro* a antibióticos e quimioterápicos das cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva e *Streptococcus* sp., isoladas do leite de vacas com mastite clínica.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do Centro de Pesquisas em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Foram testadas 76 cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva e 51 cepas de *Streptococcus* sp., isoladas do leite de 231 vacas com de mastite clínica, provenientes de 35 propriedades rurais da bacia leiteira do município de Goiânia - GO, e já submetidas a algum tipo de antibioticoterapia.

Após isolamento e identificação dos microrganismos realizou-se o teste de sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos por difusão em placa, segundo o método de Kirby-Bauer (Ximenes 1973). Foram empregados discos de sensibilidade¹ impregnados das seguintes drogas e com as seguintes concentrações: penicilina (10 U.I.), cloranfenicol (30 mcg), tetraciclina (30 mcg), kanamicina (30 mcg), gentamicina (10 mcg), nitrofurantoína (300 mcg), trimetoprim + sulfametoxazol (25 mcg), enrofloxacin² (5 mcg), perlimicina³ (2 mcg) e ceftiofur² (30 mcg). Essas concentrações obedeceram ao exposto por Watts *et al.* (1995). As cepas foram incubadas em câmara a 37 °C por 18 a 24 horas. Para as amostras de *Streptococcus* sp. utilizou-se o meio de cultura de Müller-Hinton enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, de acordo com Sears *et al.* (1993), incubando-se as amostras pelo mesmo tempo que as demais. Decorrido esse tempo, procedeu-se à verificação e medição do halo de sensibilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados quando da verificação do espectro de sensibilidade/resistência da cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva estão expressos na Tabela 1 e Figura 1. Verifica-se que a maior frequência de resistência recai sobre a penicilina (78,9%), vindo a seguir o trimetoprim + sulfametoxazol (59,2%) e nitrofurantoina (57,8%). A maior frequência de resistência à penicilina corrobora os resultados de Costa *et al.* (1985/1986/1987), Biljic & Romanic (1994) e Pereira & Siqueira-Júnior (1995), pela difusão do uso desse fármaco, o que se justifica no nosso Estado, pois todos os animais já haviam sido submetidos a algum tipo de terapêutica antimicrobiana. Esses resultados, porém, contrariam os obtidos por Costa *et al.* (1995), que verificaram uma diminuição no número de cepas resistentes à penicilina. Os demais

1 - Cecon. Rua Maranguape, 84, São Paulo, Brasil.

2 - Schering Plough Veterinária. Estrada dos Bandeirantes, 3091. Rio de Janeiro, Brasil.

3 - Becton e Dickinson and Company. Cockeysville, MD 2139, USA.

4 - Becton e Dickinson an Company. Cockeysville, MD 2139, USA.

perfis acompanharam os resultados de Perrin-Coullioud *et al.* (1988), Rajangan *et al.* (1989), Buragohain & Dutta (1991) e Brown & Roberts (1991).

Verificou-se um espectro de sensibilidade acentuado para enrofloxacina (96%), perlimicina (94%) e ceftiofur (94%). A recente introdução dos produtos no mercado consumidor e a pouca difusão do uso no campo contribuíram decisivamente para esses resultados.

Os resultados obtidos quando da verificação do espectro de sensibilidade das cepas de *Streptococcus* sp. estão expressos na Tabela 2 e na Figura 2. A maior frequência de resistência foi verificada frente à penicilina (92%), vindo a seguir o cloranfenicol (74,5%) e trimetoprim + sulfametoxazol (52,9%). Esses resultados acompanham os obtidos por Brown *et al.* (1991) e Costa *et al.* (1995). A difusão do uso e o número de produtos no mercado com os princípios ativos também reforçam nossos resultados. Também corroboram nossos resultados os de Hinckley *et al.* (1994), que verificaram uma diferenciação nítida no perfil das cepas de cada rebanho.

Verificou-se também um perfil de sensibilidade acentuado para os fármacos enrofloxacina (96%), ceftiofur (92%) e perlimicina (88%). Esses resultados, provavelmente estejam, relacionados com o lançamento recente desses produtos no mercado, aliado ao uso pouco difundido dos mesmos.

Tabela 1. Sensibilidade/resistência das 76 cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva isoladas do leite de 231 vacas com mastite clínica, no período de dezembro de 1995 a setembro de 1996, na bacia leiteira de Goiânia - GO.

Princípio ativo	sensível	resistente
Penicilina natural	16	60
Cloranfenicol	52	24
Tetraciclina	50	26
Kanamicina	49	27
Gentamicina	57	19
Nitrofurantoína	32	44
Trimetoprim + Sulfametoxazol	31	45
Enrofloxacina	73	03
Perlimicina	72	04
Ceftiofur	72	04

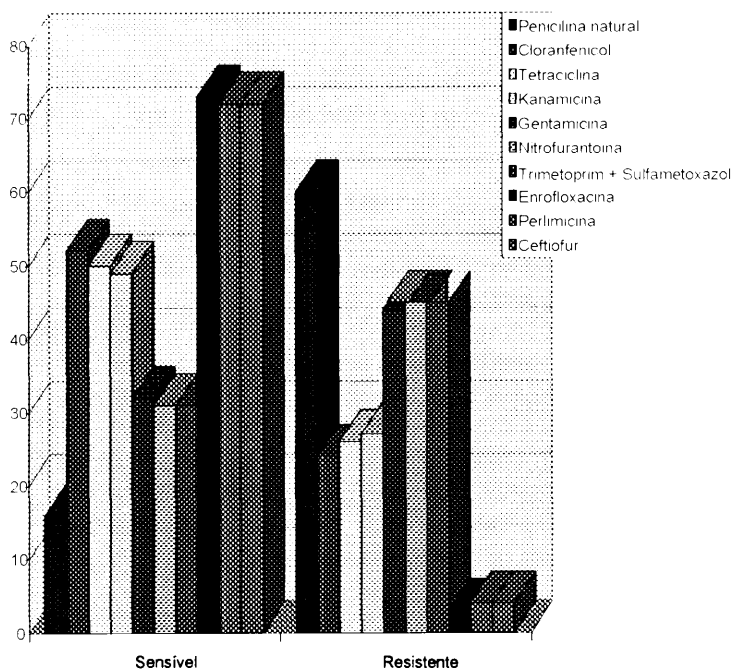


Figura 1 - Sensibilidade/resistência das cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva isoladas de leite de 231 vacas portadoras de mastite clínica.

Tabela 2 – Sensibilidade/resistência das 51 cepas de *Streptococcus* sp. isoladas do leite de vacas com mastite clínica, no período de dezembro de 1995 a setembro de 1996, na bacia leiteira de Goiânia - GO.

Princípio ativo	sensível	resistente
Penicilina natural	04	47
Cloranfenicol	13	38
Tetraciclina	28	23
Kanamicina	39	12
Gentamicina	39	12
Nitrofurantoina	26	25
Trimetoprim + Sulfametoxazol	24	27
Enrofloxacina	49	02
Perlimicina	45	06
Ceftiofur	49	02

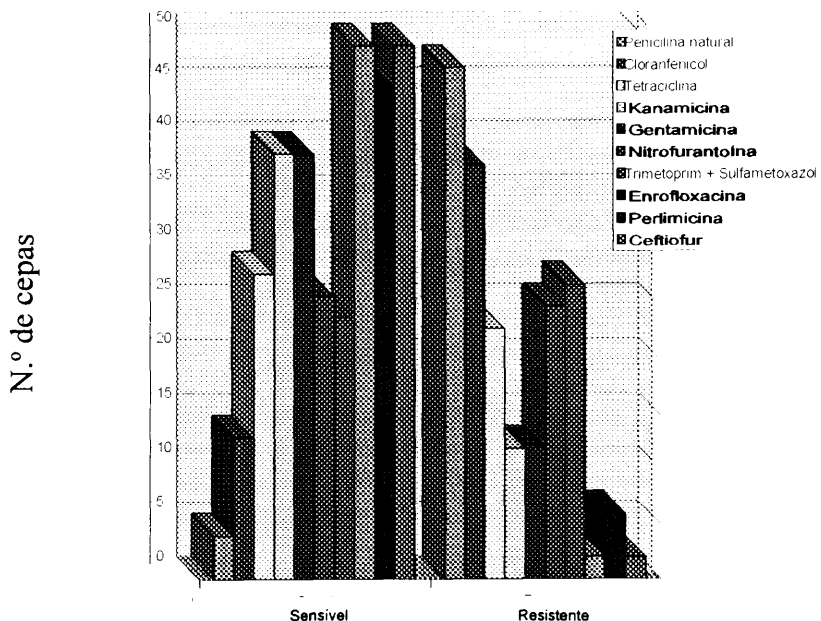


Figura 2 – Sensibilidade/resistência das cepas de *Streptococcus* sp. isoladas do leite de 231 vacas portadoras de mastite clínica.

CONCLUSÕES

À vista dos resultados obtidos conclui-se que, entre os 10 antibióticos e quimioterápicos empregados no estudo, a penicilina e trimetoprim + sulfametoxazol mostraram menor efetividade, enquanto a enrofloxacina, perlimicina e ceftiofur apresentaram o melhor espectro de sensibilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Biljic, M. E. & S. Romanic. 1994.** Staphylococci infections of mammary glands of cows and their resistance to antibiotics. *Veterinarski Glanisk.*, 48 : 259-62.
- Brown, M. B. & M. C. Roberts. 1991.** Tetracycline resistance determinants in streptococcal species isolated from the bovine mammary gland. *Vet. Microbiology*, 29 : 173-80.
- Buragohain, J. & G. N. Dutta. 1991.** Inactivation of chloramphenicol by chloramphenicol-resistant staphylococci from bovine subclinical mastitis. *Indian Vet. J.*, 68 : 898-9.

- Cardoso, M. & S. Schwartz.** 1992. Chloramphenicol resistance plasmids in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Vet. Microbiology*, 30 : 223-32.
- Costa, E. O., P. A. Melville, A. R. Ribeiro, F. C. Viani & C. R. White.** 1995. Dinâmica da resistência de agentes etiológicos da mastite bovina aos antimicrobianos. *R. Bras. Med. Vet.*, 17 (6) : 260-3.
- Costa, R. R., F. C. Dias Filho & M. A. Andrade.** 1985/1986/1987. Mastite bovina: sensibilidade de agentes etiológicos a antibióticos e quimioterápicos. *Anais Esc. Agronomia e Veterinária, UFG*, v. 14/15/16, p. 79-85.
- Domingues, P. F., C. R. Padovani & L. R. Domingues.** 1994. Estudo da eficácia *in vitro* dos antibióticos e quimioterápicos usados no tratamento da mastite bovina por *Staphylococcus* sp.. *A Hora Vet.*, 82 : 27-9.
- Hinckley, L. S., R. H. Benson & J. C. Decloux.** 1985. Antibiotic susceptibility profiles for mastitis treatment. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* , 187 (7).
- Lopes, C. A. M., G. Moreno & P. R. Curi.** 1990. Antimicrobial susceptibilities of *Staphylococcus aureus* isolated from animal and human sources in Brazil. *Br. Vet. J.*, 146 (1) : 50-6.
- McAllister, H. A.** 1995. Antibiotic resistance. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 206 (2) : 154-5.
- Pereira, M. S. V. & J. P. Siqueira-Júnior.** 1995. Antimicrobial drug resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from cattle in Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, 20 : 391-5.
- Perrin-Coullioud, I., J. L. Martel & M. Coudert.** 1988. Bilan de l'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus* em pathologie bovine. *Revue Med. Vet.*, 139 (7) : 709-18.
- Rajangan, R. K., R. V. Suresh, M. Subramanian & S. Balanchandran.** 1989. Antibiotic sensitivity of mastitis causing organisms. *Indian Vet. J.*, 66 : 272-3.
- Sears, P. M., R. N. Gonzales, D. J. Wilson & H. R. Han.** 1993. Procedures for mastitis diagnosis and control. *Vet. Cl. of Nor. Am., Food Animal Practice*, 9 (3).
- Watts, J. L., S. A. Salmon, R. J. Yancey Jr., S. C. Nickerson, L. J. Weaver, C. Holmberg, J. W. Pankey & L. K. Fox.** 1995. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary glands of dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, 78 (7) : 1637-48.
- Ximenes, J.** 1973. Importância da padronização da prova de sensibilidade bacteriana. *Fol. Med. São Paulo*, 66 (3).