

Perfil de sensibilidade antimicrobiana de cepas *Streptococcus uberis* isoladas de mastite bovina na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul

Antimicrobial sensitivity profile of strains *Streptococcus uberis* corrected for bovine mastitis in the Northwest region of the State of Rio Grande do Sul

DOI:10.34117/bjdv7n3-122

Recebimento dos originais: 08/02/2021

Aceitação para publicação: 06/03/2021

Bruna Carolina Ulsenheimer

Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Av. Roraima nº 1000 Cidade Universitária Bairro - Camobi, Santa Maria - RS, 97105-900

E-mail: bru.brunna@hotmail.com

Simoní Janina Ziegler

Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ)

Rua do Comércio, 3000 - Universitário, Ijuí - RS, 98700-000

E-mail: zieglerdf99@gmail.com

Luciana Mori Viero

Doutora em Medicina Veterinária, Professora da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ)

Rua do Comércio, 3000 - Universitário, Ijuí - RS, 98700-000

E-mail: luciana.viero@unijui.edu.br

Denize da Rosa Fraga

Doutora em Medicina Veterinária, Professora da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ)

Rua do Comércio, 3000 - Universitário, Ijuí - RS, 98700-000

E-mail: denise.fraga@unijui.edu.br

Cristiane Beck

Doutora em Medicina Veterinária, Professora da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ)

Rua do Comércio, 3000 - Universitário, Ijuí - RS, 98700-000

E-mail: cristiane.beck@unijui.edu.br

Luciane Ribeiro Viana Martins

Mestre em Medicina Veterinária, Professora da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ)

Rua do Comércio, 3000 - Universitário, Ijuí - RS, 98700-000

E-mail: luciane.viana@unijui.edu.br

RESUMO

Mastite é a inflamação da glândula mamária, caracterizada por alterações patológicas no tecido glandular e uma série de modificações físico-químicas no leite. *Streptococcus uberis* é um dos agentes etiológicos causadores da mastite ambiental, que provoca a apresentação da doença, principalmente na forma clínica e crônica. Porém tem se observado níveis de resistência em diferentes regiões para este agente. Portanto, objetivou-se avaliar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *Streptococcus uberis* isolado de amostras de leite. Foi realizada a coleta de amostras de leite mastítico bovino em propriedades de produção leiteira na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, onde realizou-se análises de cultura e isolamento bacteriano e também antibiograma. Constatou-se que as cepas isoladas nesta região apresentaram resistência bacteriana para a penicilina em mais de 50% das amostras analisadas e até 32% para ampicilina, eritromicina, tetraciclina e cefalotina. Observando a presença de cepas de *S. uberis* que se apresentam adaptadas a região. Reforçando a necessidade da realização de antibiograma antes de instituir o tratamento antimicrobiano, além de salientar a importância da adesão de medidas higiênico-sanitárias nas propriedades de produção leiteira, para prevenir a ocorrência de mastites, bem como diminuir a utilização de antimicrobianos.

Palavras-chave: Análise microbiológica, antibióticos, mastite ambiental, resistência bacteriana.

ABSTRACT

Mastitis is inflammation of the mammary gland, characterized by pathological changes in the glandular tissue and a series of physico-chemical changes in milk. *Streptococcus uberis* is one of the etiologic agents that cause environmental mastitis, which causes the presentation of the disease, mainly in its clinical and chronic form. RESISTANCE. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial sensitivity profile of *Streptococcus uberis* isolated from mastitic milk samples. Samples of bovine mastitic milk were collected from dairy farms in the Northwest region of the State of Rio Grande do Sul, where culture and bacterial isolation analyzes were performed, as well as antibiogram. It was found that the strains isolated in this region showed bacterial resistance to penicillin in more than 50% of the analyzed samples and up to 32% for ampicillin, erythromycin, tetracycline and cephalothin. Observing the presence of *S. uberis* strains that are adapted to the region. Reinforcing the need to perform an antibiogram before instituting antimicrobial treatment, in addition to stressing the importance of adhering to hygienic-sanitary measures on dairy production properties, to prevent the occurrence of mastitis, as well as reducing the use of antimicrobials.

Keywords: Microbiological analysis, antibiotics, environmental mastitis, bacterial resistance.

1 INTRODUÇÃO

Mastite é considerada uma das doenças infectocontagiosas mais frequente em bovinos leiteiros (TOZZETI et al., 2008). Esta é uma doença que causa grandes perdas econômicas para os produtores rurais, por diminuir tanto a quantidade quanto a qualidade do leite produzido (GUSSMANN, 2018).

A inflamação da glândula mamária, é caracterizada por mudanças no tecido glandular e uma série de modificações físico-químicas no leite. Esta afecção é comumente causada por bactérias e em menor proporção por fungos, vírus e algas (MORITZ, MORITZ, 2016).

Dentre os agentes causadores da mastite ambiental, o *Streptococcus uberis* se destaca como um dos agentes de maior ocorrência. Responsável por causar mastite clínica e crônica na maioria dos casos (SANTOS et al., 2007). Os casos clínicos de mastite causada por este agente, estão associados principalmente com as condições higiênico-sanitárias no local de ordenha e de permanência dos animais (WENTE et al., 2019).

A bactéria *S. uberis*, é encontrada no ambiente, a qual se faz presente no solo, nos locais de permanência dos animais (pastagem, cama e sala de espera), inclusive na pele do úbere de bovinos (ZADOKS et al., 2005; LOPEZ-BENAVAVES et al., 2007; WENTE et al., 2019). O aumento no número destes casos está diretamente relacionado com o crescimento de propriedades com sistema de produção de bovinos em confinamento, devido ao contato direto com a cama de bovinos quando estas não são corretamente manejadas (ALMEIDA et al, 2015).

Porém, considerando que esta bactéria apresentou resistência a antimicrobianos e esta pode apresentar variações entre regiões e mesmo dentro da mesma região, por isso é importante monitorar constantemente a suscetibilidade de microorganismos a antimicrobianos usados para tratamento de mastite em diferentes áreas (TOMAZI et al., 2019).

O objetivo deste artigo foi analisar o perfil de sensibilidade e resistência de cepas de *S. uberis*, isoladas de leite bovino mastítico, proveniente da bacia leiteira da região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de leite mastítico bovino, coletadas em propriedades rurais na bacia leiteira na região do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, no período de 2012 a 2017.

Foi realizado análises de cultura e identificação bacteriana segundo Becton Dickinson (2009). Após o isolamento de *S. uberis* em 77 amostras de leite, testou-se estas cepas frente a diferentes antibióticos, que são amplamente utilizados para o tratamento de mastite em bovinos leiteiros nesta região. Portanto os antibióticos selecionados foram:

ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), eritromicina (15 µg), enrofloxacin (5 µg), gentamicina (10 µg), penicilina, sulfazotrim (25 µg) e tetraciclina (30 µg).

Nesta técnica utilizada, a suspensão padronizada do microrganismo em teste foi disposta sobre a superfície do meio de cultura. E logo acima desta camada, foi colocado o disco de papel filtro, que possui o antimicrobiano impregnado, ao qual se difunde, formando um gradiente de concentração sobre a suspensão bacteriana, logo após finalizar este processo as placas foram mantidas em estufa bacteriológica por 24 horas a 36°C.

Portanto, este processo é dinâmico, conforme o período da incubação prossegue, se altera o gradiente de concentração e ao mesmo tempo ocorre a multiplicação bacteriana. Sendo que a zona de inibição do crescimento bacteriano resultante, é diretamente proporcional à suscetibilidade do microrganismo.

Para a leitura do teste, foi realizada mensuração do tamanho dos halos de sensibilidade do agente bacteriano, com relação aos antibióticos segundo Kirby, Bauer, (2011). Classificando os antibióticos em sensível, quando se demonstrou eficiente no combate a bactéria, intermediário, quando apresentou ação parcial, e resistente, caso não apresentasse ação antimicrobiana eficiente sobre a bactéria.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Streptococcus uberis é um dos agentes causadores de mastite ambiental que aumentou a sua ocorrência em rebanhos leiteiros em diferentes regiões ao redor do mundo (DOUGLAS et al., 2002). Como nos Estados Unidos, Jayaro et al. (1999) encontraram 14,2%, de prevalência, nos casos de infecção intramamária causada por este agente. Já no Brasil, Costa (2008) em seu estudo no Estado de Minas Gerais, apontou que as bactérias predominantes foram as ambientais, isoladas em 85,71% dos casos de mastite.

Por ser de difícil controle, *Streptococcus uberis* tem sido considerado uma barreira permanente no controle da mastite. É um microrganismo ubíquo e amplamente disseminado no ambiente de fazendas leiteiras, sendo muito comum na superfície corporal dos animais, estando presente na transmissão contagiosa da enfermidade e, além disso, possui grande variabilidade genética (LEIGH, 1999, ZADOKS et al., 2003; DAVIES et al., 2016; ARCHER et al., 2017; FESSIA et al., 2019).

Nos casos de mastite em que não há conhecimento da suscetibilidade de um microrganismo que contribua para um processo infeccioso, os testes devem ser realizados, principalmente quando se trata de uma espécie bacteriana amplamente distribuída que pode apresentar resistência a alguns antimicrobianos (PEREIRA, 2011).

Detectar a resistência aos antimicrobianos é muito importante do ponto de vista clínico, pois a probabilidade de sucesso terapêutico pode ser conhecida, portanto considerada na escolha do tratamento. Para isso, o antibiograma é um exame que oferece resultados quanto a resistência e sensibilidade das bactérias a diferentes antimicrobianos (BRITO, 2009).

Esse teste, realizado previamente ao tratamento, aumenta as chances de recuperação, principalmente nos casos de mastites recorrentes e sugere problemas de resistência aos antimicrobianos administrados. A interpretação é dividida em sensível, intermediária e resistente (BRITO, 2009).

O perfil de suscetibilidade da bactéria *Streptococcus uberis* isolada na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul de leite mastítico bovino, está apresentado na tabela 1.

Tabela 1. Perfil de sensibilidade antimicrobiano in vitro de *Streptococcus uberis*.

ANTIMICROBIANOS	SENSIBILIDADE
Ampicilina	61%
Cefalotina	68%
Enrofoxacina	89%
Eritromicina	62%
Gentamicina	81%
Penicilina	49%
Sulfazotrim	76%
Tetraciclina	66%

Foi observado que na região estudada, os antibióticos, enrofloxacina e gentamicina, apresentaram os menores índices de resistência bacteriana. Por outro lado, a penicilina, ampicilina, eritromicina, tetraciclina e cefalotina, foram os antimicrobianos que apresentaram o maior perfil de resistência, com uma apresentação de 32 a 51% de casos onde foi observado in vitro, a ação antimicrobiana ineficiente.

Na região sul de Minas Gerais, Loures (2011) observou que das 47 amostras de *S. uberis* isoladas de mastite bovina em rebanhos leiteiros, o antibiótico que apresentou os maiores índices de resistência foi a estreptomicina e o restante dos antimicrobianos testados apresentaram sensibilidade, ampicilina, ceftiofur, enrofloxacina, florfenicol, gentamicina, lincomicina, penicilina e tetraciclina. Na região Sudeste do Brasil, Tomazi et al., (2019) encontrou níveis consideráveis de resistência para a ampicilina, ceftiofur, eritromicina, penicilina, pirlimicina e tetraciclina. Já Käppeli et al., (2019) encontrou resistência para pirlimicina, marbofloxacina e eritromicina na Suíça.

A administração de antimicrobianos é realizada pela via intramamária e sistemática, apesar do tratamento durante a lactação, ao qual tem apresentado baixo índice de cura para muitos patógenos, e a perda de leite por resíduos de antibióticos, resulta em uma baixa relação custo / benefício para muitos durante a lactação, devido às perdas econômicas relacionadas a casos de mastite clínica causada por descarte do leite ou mesmo dos animais (BAUCELLS, 2015).

Os resultados encontrados sugerem que cepas específicas de *S. uberis* podem estar envolvidas no desenvolvimento de mecanismos de resistência aos antimicrobianos, as previsões baseadas em sua ocorrência podem ser usadas como um sistema de vigilância de alerta precoce para melhorar o controle da mastite por *S. uberis* (ARCHER et al., 2017).

Além disso, outro problema importante, é o indiscriminado e incorreto uso de antimicrobianos, que tem causado um aumento na ocorrência de agentes patogênicos multirresistentes, o que os torna capaz de se tornar resistente há vários e diferentes antimicrobianos. Devido as múltiplas tentativas de tratamento com diferentes princípios ativos, o que favorece a transferência de genes de resistência e dificulta o tratamento da doença (MORITZ, MORITZ, 2016).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível observar que há cepas de *S. uberis* que se apresentam adaptadas a região, inclusive apresentando índices de resistência a diferentes antimicrobianos (penicilina, ampicilina e eritromicina). Demonstrando que além de se observar com atenção a escolha do antibiótico para o tratamento de mastites, também devem ser reforçadas as medidas higiênico-sanitárias nas propriedades de produção leiteira, para prevenir a ocorrência de mastites, bem como diminuir a utilização de antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. A.; DEGO, O. K.; HEADRICKA, S. I.; LEWISB, M. J.; OLIVERA, S. P. Role of *Streptococcus uberis* adhesion molecule in the pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis. *Vet Microbiol.* v. 179, p. 332–335, 2015.

ARCHER, S. C.; BRADLEY, A. J.; COOPER, S.; DAVIES, P. L.; GREEN, M. J. Prediction of *Streptococcus uberis* clinical mastitis risk using Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 144, p. 1–6, 2017.

BAUCELL, J. Custo económico das mastites nos bovinos leiteiros, avaliação e cálculo. *Rev Ruminan.* v. 5, n. 19, p. 38-41, 2015.

BECTON; DICKINSON and Company. DIFCO & BBL Manual. Manual of Microbiological Culture Media. 2^a Edição. Sparks, Maryland: Copyright. 2009. Disponível em: <https://www.trios.cz/wp-content/uploads/sites/149/2016/08/DIFCO-A-BBL-MANUAL-2.pdf>.

BRITO F. Pagamento do leite por qualidade: Uma visão do produtor. In: Estratégias e conhecimentos para o fortalecimento do agronegócio do leite. Cap. I. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora – MG. p. 280, 2009.

COSTA, H. N. et al. Estimativa das perdas de produção leiteira em vacas mestiças Holandês x Zebu com mastite subclínica baseada em duas metodologias de análise. *Arq Bras Med Vet Zootec.* v. 69, n. 3, p. 579-86, 2017.

COSTA, G. M. Mastite bovina em rebanhos leiteiros da região sul do estado de Minas Gerais. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

DAVIES, P. L.; BRADLEY, A. J.; LEIGH, J. A.; ARCHER, S. C.; EMES, R. D.; GREEN, M. J. Molecular epidemiology of *Streptococcus uberis* clinical mastitis in dairy herds: strain heterogeneity and transmission. *J. Clin. Microbiol.* v. 54, p. 68–74, 2016.

DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. *Acta Veterinária Brasília*, v. 1, n. 1, p. 23-27, 2007.

DOUGLAS, V. L. et al. Genomic typing of *Streptococcus uberis* isolates from cases of mastitis, in New Zealand dairy cows, using pulsed-field gel electrophoresis. *Vet Microb.* v. 43, n. 1, p. 31-41, 2002.

FESSIA, A. S.; DIESER, S. A.; RASPANTI, C. G.; LILIANA M. ODIERNO, L. M. *Microbial Pathogenesis*, v. 130, p. 295–301, 2019.

GUSSMANN, M.; KIRKEBY, C.; GRÆSBØLL, K.; FARRE, M.; HALASA, T. A strain-, cow-, and herd-specific bio-economic simulation model of intramammary infections in dairy cattle herds. *Journal of Theoretical Biology.* v. 449, p. 83–93, 2018.

JAYARO, B. M. et al. Epidemiology of *Streptococcus uberis* intramammary infections in a dairy herd. *J of Vet Med.* v. 46, n. 7, p. 433-442, 1999.

KÄPPELI, N.; MORACH, M.; ZURFLUH, K.; CORTI, S.; NÜESCH-INDERBINEN, M.; STEPHAN, R. Sequence Types and Antimicrobial Resistance Profiles of *Streptococcus uberis* Isolated From Bovine Mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 6, p. 1-7, 2019.

KIRBY; BAUER, A. W. Manual para antibiograma, difusão em disco. Laborclin, v. 5, p. 19-24, 2011.

LEIGH, J. A. et al. Vaccination with the plasminogen activator from *Streptococcus uberis* induces an inhibitory response and protects against experimental infection in the dairy cow. *Vaccine*, Rochester, v. 17, n. 7/8, p. 851-857, 1999.

LOPEZ-BENAVIDES, M. G. et al. Field observations on the variation of *Streptococcus uberis* populations in a pasture-based dairy farm. *J of Dairy Sci.* v. 90, n. 12, p. 5558-5566, 2007.

LOURES, R. A. Diversidade genética, fatores de virulência e resistência a antimicrobianos em *Streptococcus uberis*, isolados de mastite bovina. Dissertação de mestrado, Universidade federal de Lavras, Lavras-Mg, 2011.

MOLIVA, M. V.; CERIOLI, F.; REINOSO, E. B. Evaluation of environmental and nutritional factors and sua gene on in vitro biofilm formation of *Streptococcus uberis* isolates. *Microb Pathog.* v. 107, n. 144-148, 2017.

MORITZ, F.; MORITZ, C. M. F. Resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus* spp. associados à mastite bovina. *Rev Ciên Vet Saúde Públ.* v. 3, n. 2, p. 132-6, 2016.

PEREIRA, J. Eficácia Vacinal na Prevenção de Mastites. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Coimbra, 2011.

SANTOS, E. M. P. et al. *Streptococcus* e gêneros relacionados como agentes etiológicos de mastite bovina. *Acta Scient Vet.* v. 35, p. 1, 2007.

TOMAZI, T.; FREU, G.; ALVES, B. G.; ANTONIO FRANCISCO DE SOUZA FILHO, A. F. S.; HEINEMANN, M. B.; SANTOS, M. V. Genotyping and antimicrobial resistance of *Streptococcus uberis* isolated from bovine clinical mastitis. *Plos one*, v. 14, n. 10, p. 1-15, 2019.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – revisão de literatura. *Rev Cient Eletr Med Vet.* v. 11, n. 10, 2008.

WENTE, N.; KLOCKE, D.; PADUCH, J. H.; ZHANG, Y.; SEETH, M.; ZOCHE-GOLOB, V.; REINECKE, F.; MOHR, E.; KRÖMKER, V. Associations between *Streptococcus uberis* strains from the animal environment and clinical bovine mastitis cases. *J. Dairy Sci.*, v. 102, p. 9360–9369, 2019.

ZADOKS, R.N., GILLESPIE, B.E., BARKEMA, H.W., SAMPIMON, O.C., OLIVER, S.P., SCHUKKEN, Y. H. Clinical, epidemiological and molecular characteristics of *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. *Epidemiol. Infect.* v. 130, p. 335–349, 2003.

ZADOKS, R. N.; TIKOFSKY, L. L.; BOOK, K. J. Ribotyping of *Streptococcus uberis* from a dairy's environment, bovine faces and milk. *Veterinary Microbiology.* v. 109, n. 3/4, p. 257-265, 2005.