Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXI Jornada de Pesquisa

IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE STREPTOCOCCUS UBERIS DE AMOSTRAS DE LEITE BOVINO[1]

Bruna Carolina Ulsenheimer[2], Luciane Ribeiro Viana Martins[3].

[1] Título do trabalho de pesquisa desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UNIJUÍ, vinculado ao projeto "Perfil Microbiológico do leite bovino analisado no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UNIJUÍ", desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa em Saúde Animal

[2] Graduanda do curso de Medicina Veterinária da UNIJUÍ, bru.brunna@hotmail.com
[3] Professora do Curso de Medicina Veterinária da UNIJUÍ, Orientadora, luciane.viana@unijui.edu.br

Introdução

A mastite é uma das doenças infecciosas mais frequentes nos rebanhos leiteiros e, em aproximadamente 90% dos casos, é causada por bactérias. A mastite é a inflamação da glândula mamária que se caracteriza por apresentar alterações patológicas no tecido glandular, e uma série de modificações físico-químicas no leite. As mais comumente observadas são: alteração de coloração, aparecimento de coágulos e presença de grande número de leucócitos. Entre as diversas patologias que afetam o rebanho leiteiro, esta enfermidade se destaca, pois causa grandes prejuízos, como o descarte do leite e a queda na produção leiteira.

Dentre as bactérias causadoras de mastite, o Streptococcus uberis, é atualmente um dos principais agentes de mastite ambiental em vacas leiteiras. Este microrganismo apresenta características que causam impactos importantes sobre a qualidade do leite, pois aumenta significativamente a contagem bacteriana deste.

Streptococcus uberis é um coco gram positivo, organizado em cadeias, considerado um agente ambiental causador de mastite, associado principalmente aos quadros clínicos da doença, podendo avançar para forma crônica e subclínica, principalmente pelo fato deste agente ser de difícil controle, e permanecer presente nas propriedades rurais, podendo ser encontrado no solo, na cobertura dos ambientes de permanência e também na pele e no úbere das próprias vacas.

Os objetivos deste trabalho são realizar e identificar cultivos de Streptococcus uberis nas amostras de leite recebidas para análise no Laboratório de Microbiologia Veterinária, vindas da Região Noroeste do Rio Grande do Sul, e determinar o seu perfil de sensibilidade, frente aos antimicrobianos: ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), eritromicina (15 µg), enrofloxacina (5µg), gentamicina (10 µg), norfloxacina (10 µg), penicilina (10 UI) e tetraciclina (30 µg).

Metodologia

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UNIJUÍ (LAMIVET) a partir do recebimento de amostras de leite, no período de 2012-2015 da região, totalizando 459 amostras de leite provenientes de diferentes municípios da Região Noroeste Do Rio Grande do Sul.

As análises laboratoriais seguiram os critérios de identificação fenotípica descritos por Becton Dickinson (1984) e Mc Faddin (1980). As amostras analisadas onde seus cultivos apresentaram crescimento de Streptoccocus uberis, foram submetidas à análise de sensibilidade frente aos

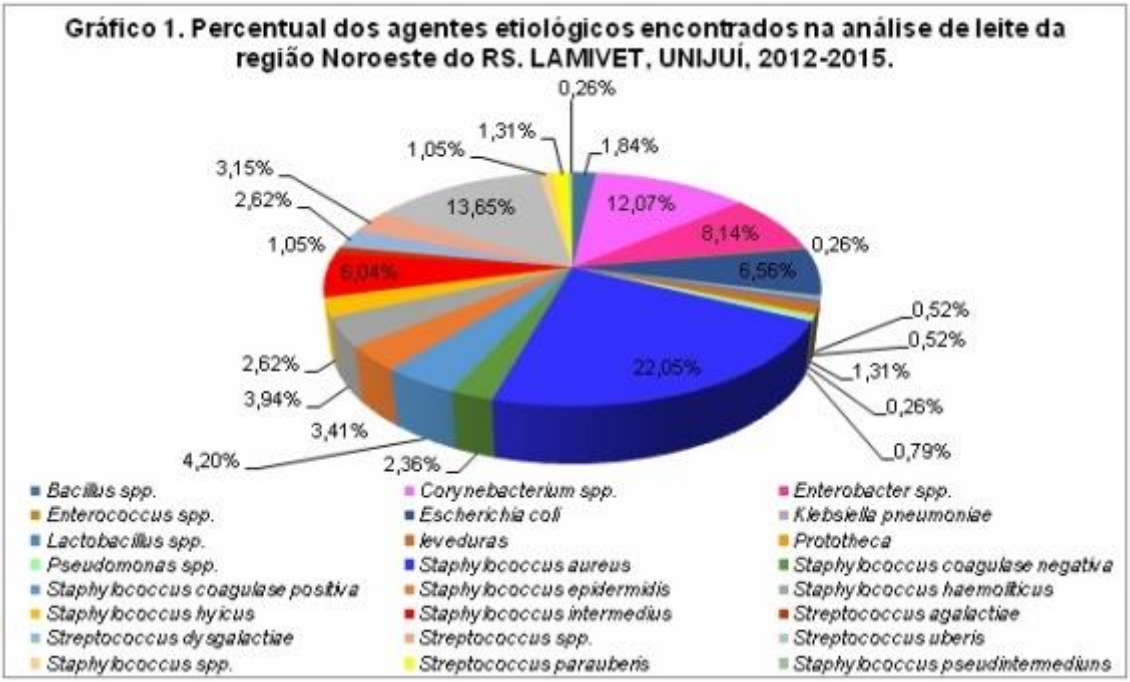
Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXI Jornada de Pesquisa

antimicrobianos utilizados na rotina do laboratório: ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), eritromicina (15 µg), enrofloxacina (5µg), gentamicina (10 µg), norfloxacina (10 µg), penicilina (10 UI) e tetraciclina (30 µg) baseando-se na técnica da difusão em ágar segundo Bauer, et al. (1966).

Resultados e discussão

Foram analisadas 459 amostras de leite provenientes de 19 municípios da região do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, obtendo-se 381 culturas microbiológicas distintas e em 106 cultivos, ausência de microrganismos, a porcentagem da ocorrência dos microrganismos 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, UNIJUÍ, 2012-2015.



Os agentes etiológicos com maior ocorrência nas amostras de leite analisadas foram Staphylococcus aureus (22,05%) Streptococcus uberis (13,65%), Corynebacterium spp. (12,07%), Enterobacter spp. (8,14%), Staphylococcus intermedius (6,11%) e Escherichia coli (6,04%).

O aspecto macroscópico do Streptococcus uberis em crescimento num meio sólido, é de colônias pequenas, com aproximadamente 1mm de diâmetro, circulares, translúcidas, de superfície lisa e brilhantes. Já na análise microscópica, são cocos gram positivos em cadeias.

Por ser de difícil controle, o Streptococcus uberis tem sido considerado uma barreira permanente no controle da mastite. Este é um microrganismo ubíquo e amplamente disseminado no ambiente das fazendas leiteiras, sendo inclusive muito comum na superfície corporal dos animais, e, além disso, possui grande variabilidade genética (LEIGH, 1999).

Jayaro et al. (1999) relataram 14,2% das lactações em um rebanho, com ocorrência de infecções intramamárias causadas por S. uberis nos Estados Unidos e prevalência de 2% de quartos infectados

por esse microrganismo. Dados estatísticos recentes de VLA (Veterinary Laboratories Agency), no Reino Unido, relacionam S. uberis como agente etiológico de 23% dos casos de mastite, a partir de análise das amostras enviadas a esses laboratórios. Em estudo realizado por Costa (2008) em rebanhos no sul do Estado de Minas Gerais, verificou-se que esta bactéria foi agente predominante entre os patógenos ambientais, sendo isolado em 85,71% dos rebanhos investigados.

A importância do S. uberis na bovinocultura é crescente. Há relatos que apontam que a prevalência da mastite causada por esse agente, parece estar aumentando nos rebanhos leiteiros ao redor do mundo (DOUGLAS et al., 2000), um possível fator que contribui para este quadro é o fato de que os agentes contagiosos, como S. aureus e S. agalactiae preocupam pela virulência, e acabam sendo mais combatidos com a adoção de medidas clássicas de controle da mastite, ao contrário dos patógenos ambientais, como S. uberis, sobre o qual as medidas preventivas tem pouco impacto na incidência (BRADLEY, 2002; LEIGH, 1999). O controle dos agentes contagiosos gerados pelas medidas profiláticas na ordenha, causa redução nos níveis de células somáticas no úbere e com isso os animais se tornam mais susceptíveis aos agentes ambientais ubíquos (BRADLEY, 2002).

O local onde existe maior nível de contaminação pelo S. uberis, são as camas usadas pelo gado em sistemas de confinamento, constituídas principalmente por palhas, sendo um bom substrato para replicação desse microrganismo. Há indicações de que S. uberis tenha como principal veículo as fezes dos bovinos, meio pelo qual poderia ocasionar a contaminação do solo e a disseminação dos microrganismos pelo ambiente (LOPEZ-BENVAVIDES et al., 2007). No entanto, discute-se ainda a possibilidade de que o agente seja capaz de se replicar também no solo. Por possuir ainda várias outras fontes ambientais, como a água, matéria vegetal das pastagens, moscas e feno (ZADOKS, 2005).

A infecção intramamária causada por S. uberis se manifesta na forma clínica, podendo progredir para forma crônica ou subclínica. A proporção de casos clínicos é maior no estágio inicial de lactação, e também aumenta conforme o número de lactações. Desse modo o agente pode persistir infectando a glândula mamária, por várias lactações.

Durante a lactação, a anti-sepsia dos tetos antes e após a ordenha causa grande redução da contaminação bacteriana, mas durante o período seco, quando a sanitização não é realizada, poderá ocorrer o aumento da contaminação do teto por patógenos ambientais, como o S. uberis (LOPEZ-BENAVIDES et al., 2007). A prevalência de mastite é consideravelmente maior em vacas com mais de três lactações, podendo, em alguns rebanhos, chegar aos 40% nos animais com mais de cinco lactações (JAYARO et al., 1999). Além da ordem de parto e da idade da vaca, outros fatores ligados ao animal têm sido apontados como fatores de risco de mastite no pós-parto, como histórico de mastite (ZADOKS et al., 2001), edema de úbere e edema de tetos (WAAGE et al., 2001).

A administração de antibióticos pela via intramamária é o método frequentemente utilizado para tratamento da mamite bovina. O antimicrobiano deve atingir facilmente concentrações ótimas na glândula mamária, e manter atividade na presença do processo inflamatório.

A administração de antimicrobianos se faz pela via intramamária e vias sistêmicas, apesar do tratamento durante a lactação, ter um baixo índice de cura para muitos patógenos, e a perda de leite devido aos resíduos de antibióticos, resultar em uma baixa relação custo/benefício para muitos tratamentos durante a lactação, devido as perdas econômicas decorrentes de casos de mastite clínica pelo descarte de leite ou até do animal (CARLTON e MCGAVIN, 1998). Sendo assim é muito

importante analisar microbiologicamente amostras de leite e realizar testes de sensibilidade aos antimicrobianos.

A pecuária de leite enfrenta alta resistência aos antimicrobianos nos dias atuais, para reduzir este problema, o ideal seria realizar o teste de sensibilidade dos microrganismos aos antibióticos, logo após se constatar a mastite nos animais, e assim indicar o antimicrobiano mais eficiente, para tal patógeno encontrado.

Nas amostras de leite trazidas ao Laboratório de Medicina Veterinária da Unijuí, onde foi identificado o Streptococcus uberis, realizou-se o antibiograma, frente aos antibióticos utilizados na rotina do laboratório, onde obteve-se diferentes porcentagens de sensibilidade, do S. uberis em relação aos antimicrobianos, que estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Sensibilidade do Streptoccocus uberis frente aos antimicrobianos usados no laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí. LAMIVET, UNIJUÍ.

ANTIMICROBIANOS	SENSIBILIDADE
Ampicilina	58%
Cefalotina	68%
Enrofloxacina	86%
Eritromicina	59%
Gentamicina	73%
Norfloxacina	74%
Penicilina	57%
Tetraciclina	64%

Tais resultados, demonstram que os antimicrobianos que apresentaram maior eficiência em relação as cepas isoladas de Streptococcus uberis no Laboratório de Microbiologia Veterinára, provenientes da região Noroeste do Rio Grande do Sul, foram primeiramente a enrofloxacina seguido de norfloxacina, gentamicina, cefalotina, tetraciclina, eritromicina, ampicilina e penicilina.

O teste de sensibilidade do S. uberis, aos antimicrobianos, demonstra ser geralmente sensível aos ATMs beta-lactâmicos (penicilina G, ampicilina, cefalotina). (GOMES, 2013). A aferição do perfil de sensibilidade do agente aos antimicrobianos, fornece dados valiosos para a escolha adequada de fármacos para o tratamento de casos clínicos. Na região sul de Minas Gerais, para 47 amostras de S. uberis isolados, de mastite bovina em rebanhos leiteiros da região, observou-se resistência quanto ao estreptomicina, e altos níveis de sensibilidade para os antimicrobianos ampicilina, cefalotina, ceftiofur, enrofloxacina, florfenicol, gentamicina, lincomicina, penicilina e tetraciclina (LOURES, 2011).

Conclusão

A partir das amostras de leite de bovinos trazidas para análise, provenientes da região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, para o Laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí, pode-se observar que uma das bactérias mais encontradas nestas amostras é o Streptoccocus uberis, com

13,65% de prevalência, demonstrando estar bem adaptada ás condições ambientais desta região, e apresentou diferentes graus de sensibilidade aos antimicrobianos utilizados neste estudo com maior eficiência respectivamente à enrofloxacina, norfloxacina, gentamicina, cefalotina, tetraciclina, eritromicina, ampicilina e penicilina.
Com tais resultados, é possível enfatizar a grande importância de se realizar a identificação dos agentes etiológicos das mastites através da cultura, isolamento, e também a execução do teste de sensibilidade in vitro, identificando assim de forma correta o patógeno, e quais princípios ativos são os mais eficientes, evitando a ampla utilização de fármacos de forma errônea e indiscriminada, o que poderá favorecer a aquisição de resistência aos antimicrobianos por parte dos microrganismos, o que hoje em dia já é uma realidade extremamente preocupante, na área da Medicina Veterinária.

Palavras-chave: Streptococcus uberis, mastite, antibióticos, leite.

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.
BEURON, D. C. Prevalência e Susceptibilidade Antimicrobiana de Patógenos Causadores de Mastite em Rebanhos Leiteiros. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, 2012.
BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an envolving disease. The Veterinary Journal, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.
CARLTON WILHAM W. e MCGAVIN DONALD M., Patologia Veterinária Especial de Thomson., 2° ed. Porto Alegre, SP.,1998. p. 566 a 571.
COSTA, G. M. da mamite bovina em rebanhos leiteiros da região sul do estado de minas gerais. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, p. 123, 2008.
DIAS, R. V. da C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. Acta Veterinária Brasílica, v.1, n.1, p.23-27, 2007.
DOUGLAS, V. L. et al. Genomic typing of Streptococcus uberis isolates froms cases os mastits, in New Zealand dairy cows, using pulsed-field gel electrophoresias. Veterinary Microbiology. Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 31-41, 2002.
GOMES, Marcos JP. Gênero Streptococcus spp., FAVET-UFRGS, 2013.
JAYARO, B. M. et al. Epidemiology of Strepto uberis intramammary infections in a dary herd, Journal of Veterinary Mediciene, Berlin, v. 46, n. 7, p. 433-442, Sept. 1999.
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, Feb. 1999.
LOURES, Rafael Ambrósio. Diversidade genética, fatores de virulência e resistência a antimicrobianos em strepto uberis, isolados de mastite bovina. Dissertação de mestrado, Universidade federal de Lavras, Lavras-Mg, 2011.

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

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

WAAGE, S. et al. Case control study for risk factors for clinical mistitis in postpartum dairy heifers. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 84, n. 2, p. 392-399, Feb. 2001.

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