

Sensibilidade a Drogas Antimicrobianas de Bactérias Isoladas de Vacas Com Mastite★

(Sensitivity of Bacteria Isolated from Cows With Mastitis to Antimicrobial Drugs)

(Sensibilité Aux Drogues Antimicrobiennes de Bactéries Isolées de Vaches Avec Mastite)

(Sensibilidad a Drogas Antimicrobianas de Bacterias Aisladas de Vacas con Mastitis)

José Jurandir *Fagliari*¹

Ademir de *Lucas*²

Joaquim Martins *Ferreira Neto*³

RESUMO

Duzentas e trinta e sete amostras de leite de 50 quartos portadores de mastite clínica e 187 quartos reagentes ao "California Mastitis Test" (CMT) foram submetidas a provas laboratoriais, a fim de se identificar os agentes causadores de mastite. Os principais microorganismos identificados foram *Staphylococcus plasmacoagulase* positivo e *Streptococcus* sp, sendo que a infecção causada por um só germe foi mais freqüente que a infecção mista. Em 75 amostras realizou-se o antibiograma. As bactérias mostraram diferentes graus de sensibilidade aos dez medicamentos testados, com grande número de amostras manifestando pouca sensibilidade. O sulfazotrim foi a droga mais eficaz contra o *S. plasmacoagulase* positivo e a ampicilina a substância de melhor ação frente ao *Streptococcus* sp.

★ Recebido para publicação em 16 de novembro de 1982.

1 Professor da UNESP - Campus de Ilha Solteira - SP.

2 Médico Veterinário da Casa da Agricultura de Piracicaba - SP.

3 Professor da Escola de Veterinária da UFMG e Bolsista do CNPq.

SUMMARY

A total of 237 milk samples from 50 quarters affected by clinical mastitis and 187 reagent quarters to the California Mastitis Test (CMT), were subjected to laboratorial analysis to identify the causing agents of mastitis. The main organisms isolated were plasmacoagulase-positive Staphylococcus and Streptococcus sp. Infection caused by only one germ was more frequent than mixed infection. The antibiogram was made in 75 samples. The bacteria showed different sensitivity responses to the ten drugs tested. A large number of the samples showed low sensitivity. Sulfazotrim was the most efficient drug against plasmacoagulase-positive Staphylococcus and ampicillin was found to be the antibiotic with the best action against Streptococcus sp.

RÉSUMÉ

Deux cent trente sept échantillons de lait de 50 pis porteurs de mastite clinique et de 187 pis réactifs au "California Mastitis Test" (CMT) ont été soumis à des tests de laboratoire afin d'identifier les agents responsables de la mastite. Les principaux microorganismes identifiés ont été Staphylococcus plasmacoagulase positive et Streptococcus sp. Les monoinfections ont été plus fréquentes que les infections mixtes. On a réalisé un antibiogramme pour 75 échantillons. Les bactéries ont démontré des degrés divers de sensibilité aux dix médicaments testés, un grand nombre d'échantillons ne manifestant que peu de sensibilité. Le sulphazotrim a été le composé le plus efficace contre Staphylococcus plasmacoagulase positive et l'ampicilline le plus efficace contre Streptococcus sp.

RESUMEN

Docientas treinta y siete muestras de leche de 50 cuartos portadores de mastitis clínica y 187 cuartos reactivos al "California Mastitis Test" (CMT) fueron sometidas a pruebas de laboratorio, a fin de identificar los agentes provocadores de mastitis. Los principales microorganismos identificados fueron Staphylococcus plasmacoagulase positivo y Streptococcus sp, siendo que la infección causada por un solo germen fue más frecuente que la infección mixta. En 75 muestras se realizaron antibiogramas. Las bacterias mostraron diferentes grados de sensibilidad a los diez medicamentos testados, con gran número de muestras mostrando poca sensibilidad. El sulfazotrim fue la droga mas eficaz contra el S. plasmacoagulase positivo y la ampicilina la substancia de mejor acción frente al Streptococcus sp.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma enfermidade infecciosa causada por patógenos que diferem na capacidade de virulência e no grau, frequência e permanência da contaminação (HEIDRICH & RENK, 1969). Os principais agentes etiológicos observados nos casos de infecção mamária pertencem aos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* (FIGUEIREDO, 1962; LANGENEGGER et alii, 1970; SCHALM et alii, 1971; CAMPADELLI FILHO et alii, 1977; McDONALD, 1977; VERMA & MISHRA, 1977; VALENTE, 1978; FERREIRO, 1979), porém, a ineficiente terapia antibiótica tem revelado, cada vez mais, a presença de organismos resistentes e que, provavelmente, sejam fungos (JAND & DHILLON, 1975). A alta prevalência de *Staphylococcus* plasmacoagulase positivo no ambiente de ordenha e sua facilidade em colonizar a pele do teto, o torna responsável pela maioria dos casos de mastite em bovinos (DRURY & REED, 1961).

A escolha da terapia antimastítica baseia-se principalmente no quadro clínico da doença, entretanto, com o crescente número de drogas antimicrobianas e o seu uso inadequado, vários germes presentes em leite mastítico têm desenvolvido resistência a uma ou mais drogas, ficando difícil selecioná-las baseado apenas nas observações clínicas (COLES, 1974). A eficácia terapêutica destas drogas depende do agente etiológico, do uso correto do medicamento, dos procedimentos sanitários e da fase da doença (HUBER, 1977).

O controle das infecções estabelecidas no úbere requer o diagnóstico imediato, com a separação dos animais afetados e medicação adequada (LANGENEGGER et alii, 1973), baseada, quando possível, em provas de sensibilidade antimicrobiana.

MATERIAL E MÉTODOS

Examinaram-se 177 amostras de leite, sendo 50 de quartos clinicamente afetados e 127 de quartos reagentes ao "California Mastitis Test" (CMT), dando importância básica aos germes dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Tais amostras foram semeadas em placas de agar sangue bovino 5% (★) e incubadas a 37° C durante 24 a 48 horas. A identificação dos microorganismos baseou-se no tipo de hemólise, coloração pelo método de Gram, prova da catalase em lâmina e prova de plasmacoagulase em tubos, segundo os trabalhos de CHAPMAN et alii (1934), SCHALM et alii (1971) e CAUDURO (1978). Em 75 amostras reali-

(★) Blood Agar Base - DIFCO.

zaram-se antibiogramas, de acordo com a técnica de BAUER et alii (1966), utilizando-se as substâncias antimicrobianas(★): ampicilina, cloranfenicol, eritromicina, sulfazotrim, estreptomina, furazolidona, kanamicina, penicilina, sulfonamida e tetraciclina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As provas laboratoriais evidenciaram, como mostra a TAB. I, que os principais agentes etiológicos identificados foram *Staphylococcus* plasmacoagulase positivo e *Streptococcus sp*, fato também observado por FIGUEIREDO (1962), LANGENEGGER et alii (1970), CAMPEDELLI FILHO (1977), VALENTE (1978) e FERREIRO (1979), porém discordante de McDONALD (1977) e VERMA & MISHRA (1977).

TABELA I

Resultados bacteriológicos das amostras de leite obtidas de animais com mastite clínica e de animais reagentes ao CMT, nos rebanhos em estudo

Tipo do processo	N.º de amostras examinadas	Agentes isolados	N.º de amostras e (%)
Mastite clínica	50	<i>Staphylococcus</i> plasmacoagulase +	27(54,0)
		<i>S. plasmacoagulase</i> -	2(4,0)
		<i>Streptococcus sp</i>	11(22,0)
		Infecção mista★	8(16,0)
		Outros germes	2(4,0)
Reagentes ao CMT	187	<i>S. plasmacoagulase</i> +	76(40,7)
		<i>S. plasmacoagulase</i> -	16(8,5)
		<i>Streptococcus sp</i>	46(24,6)
		Infecção mista★	25(13,4)
		Outros germes	24(12,8)

★ Associação de *S. plasmacoagulase* + e de *Streptococcus sp*.

(★) Sensibiodisc - CECON

A maior prevalência de *S. plasmacoagulase* positivo deve-se, provavelmente, a sua alta capacidade de colonização na pele do teto e meato galactóforo externo e à elevada prevalência no ambiente, facilitando a instalação no úbere (DRURY & REED, 1961). Embora o *S. plasmacoagulase* negativo seja considerado, na maioria dos casos, apatogênico, tal bactéria provocou casos clínicos de mastite, possivelmente devido a fatores predisponentes à queda de resistência do órgão. Este fato foi também descrito por SCHALM et alii (1971), McDONALD (1977) e VERMA & MISHRA (1977).

A infecção mamária causada por um só tipo de bactéria foi mais frequente que a infecção mista. A ocorrência do segundo tipo de infecção é um indício provável de diversificação dos microorganismos presentes em um mesmo rebanho, assegurando a necessidade e importância das provas bacteriológicas, como fator de identificação do germe e de orientação à terapia. Observou-se que na infecção mista isolava-se *S. plasmacoagulase* positivo associado a *Streptococcus sp* e, em nenhum caso havia a associação de *S. plasmacoagulase* positivo e negativo. Isto faz lembrar o comentário de SCHALM et alii (1971) sobre a possível capacidade do *S. plasmacoagulase* negativo impedir a colonização no úbere pelo *S. plasmacoagulase* positivo.

A impossibilidade de identificação de outros tipos de microorganismos, na maioria Gram negativos, deveu-se a não especificidade do meio de cultura e das provas realizadas.

A sensibilidade microbiana às drogas testadas apresentou resultados variados (TAB. II), não confirmando as citações de FERREIRO (1979) que encontrou, para os mesmos microorganismos, total sensibilidade aos onze antibióticos por ele testados.

A droga mais eficaz, "in vitro", contra o *S. plasmacoagulase* positivo e negativo foi o sulfazotrim e contra o *Streptococcus sp* foi a ampicilina. A manifestação de resistência a certas substâncias por várias amostras de *S. plasmacoagulase* positivo deveu-se, em parte, à capacidade de tolerância e adaptação do germe, especialmente à penicilina, conforme citou HUBER (1977). Das substâncias testadas foi o sulfazotrim a única substância para a qual as bactérias não apresentaram resistência. O grande número de amostras com pouca sensibilidade, possivelmente seja uma tendência em aumentar o número de cepas resistentes. Os diferentes graus de sensibilidade dos microorganismos reforçam a necessidade de se fazer cultura microbiológica e antibiograma, para a identificação do agente e seleção da droga, a fim de se evitar a ocorrência de cepas bacterianas resistentes.

TABELA II

Resultados dos antibiogramas realizados em 43 amostras de *S. plasmacoagulase* +, 11 amostras de *S. plasmacoagulase* - e 21 amostras de *Streptococcus sp.*, provenientes de leite mastítico e de leite reagente ao CMT

Substância antimicrobiana	<i>S. plasmacoagulase</i> + n.º de amostras e (%)				<i>S. plasmacoagulase</i> - n.º de amostras e (%)				<i>Streptococcus sp.</i> n.º de amostras e (%)			
	S	PS	R		S	PS	R		S	PS	R	
Ampicilina	20(46,5)	14(32,6)	9(20,9)		8(72,7)	3(27,3)	0(0,0)		17(80,8)	2(9,6)	2(9,6)	
Sulfazotrim	34(79,0)	9(20,9)	0(0,0)		10(90,9)	1(9,1)	0(0,0)		11(52,4)	8(38,0)	2(9,6)	
Cloranfenicol	25(58,1)	16(37,2)	2(4,7)		7(63,6)	2(18,2)	2(18,2)		9(42,8)	11(52,4)	1(4,8)	
Eritromicina	31(72,1)	9(21,0)	3(6,9)		9(81,8)	2(18,2)	0(0,0)		11(52,4)	7(33,3)	3(14,3)	
Estreptomicina	9(20,9)	19(44,2)	15(34,9)		8(72,7)	3(27,3)	0(0,0)		12(57,1)	6(28,6)	3(14,3)	
Furazolidona	26(60,5)	12(27,9)	5(11,6)		7(63,6)	3(27,3)	1(9,1)		16(76,2)	4(19,0)	1(4,8)	
Kanamicina	33(76,7)	9(20,9)	1(2,4)		9(81,8)	2(18,2)	0(0,0)		15(71,4)	5(23,8)	1(4,8)	
Penicilina	15(34,8)	13(30,2)	15(34,8)		9(81,8)	1(9,1)	1(9,1)		14(66,6)	5(23,8)	2(9,6)	
Sulfonamida	24(55,8)	8(18,6)	11(25,6)		6(54,5)	3(27,3)	2(18,2)		14(66,6)	4(19,0)	3(14,3)	
Tetraciclina	29(67,4)	9(21,0)	5(11,6)		8(72,7)	1(9,1)	2(18,2)		13(61,8)	7(33,4)	1(4,8)	
S: sensível	PS: pouco sensível				R: resistente							

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem as seguintes conclusões:

- Os principais microorganismos patogênicos identificados como causadores de mastite foram *Staphylococcus* plasmacoagulase positivo e *Streptococcus sp.*
- As drogas que mostraram melhor ação antimicrobiana "in vitro", foram sulfazotrim e ampicilina para o *S. plasmacoagulase* positivo e *Streptococcus sp.*, respectivamente.
- Muitas amostras revelaram "pouca sensibilidade" aos medicamentos testados, sugerindo uma tendência ao aumento de cepas de bactérias resistentes nos rebanhos estudados.
- Para o tratamento e controle das infecções da glândula mamária é importante se conhecer os agentes etiológicos nos rebanhos de atuação, bem como o seu comportamento frente às drogas, através de provas e testes específicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Path.*, New York, 45(4):493-96, 1966.
- CAMPADELLI FILHO, O.; VIANNA, S.S.S.; MORITA, T. Mastite no gado leiteiro da cidade de Pindamonhangaba. *Biológico*, São Paulo, 43(5/6):118-24, 1977.
- CAUDURO, P.F. Esquema de identificação em bacteriologia clínica. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, Porto Alegre, 10(2):45-52, 1978.
- CHAPMAN, G.H.; BERENS, C.; PETERS, A.; CURCIO, L. Coagulase and hemolysin tests as measures of the pathogenicity of staphylococci. *J. Bacteriol.*, Washington, 28:343-63, 1934.
- COLES, E.H. *Veterinary clinical pathology*. 2. ed., London, Saunders, 1974. 615p.
- DRURY, A.R. & REED, G.W. A herd irritation index using the California Mastitis Test. *Vet. Med.*, Chicago, 59(4):147-52, 1961.
- FERREIRO, L. Mastite bovina: causas e consequências na produção e qualidade do leite do gado mestiço da microrregião de Juiz de Fora-MG. *Cir. Tec. EMBRAPA/CNPGL*, Coronel Pacheco, (3):1-4, 1979.
- FIGUEIREDO, J.B. Estudo sobre a mastite bovina no município de Betim, Minas Gerais. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, Belo Horizonte, 14:257-95, 1962.

- HEIDRICH, H.J. & RENK, W. *Enfermedades de las glandulas mamarias en los animales domesticos*. Barcelona, Labor, 1969. 615p.
- HUBER, W.G. Antibacterial drug effectiveness against mastitis pathogens. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, 170(10):1182-84, 1977.
- JAND, S.K. & DHILLON, S.S. Mastitis caused by fungi. *Indian Vet. J.*, New Delhi, 3(52):125-28, 1975.
- LANGENEGGER, J.; COELHO, N.M.; LANGENEGGER, C.H.; CASTRO, R.P. Estudo da incidência da mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. *Pesq. Agropec. Bras.*, Rio de Janeiro, 5(5):437-40, 1970.
- LANGENEGGER, J.; COELHO, N.M.; MARQUES, L.M.Q. Avaliação da eficiência de medicamentos convencionais no tratamento da mastite bovina em regiões sem recursos para o diagnóstico etiológico. *Pesq. Agropec. Bras.*, Rio de Janeiro, 8(6):49-52, 1973.
- MCDONALD, J.S. Streptococcal and staphylococcal mastitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, 170(10):1157-59, 1977.
- SCHALM, O.W.; CARROL, E.J.; JAIN, N.C. *Bovine mastitis*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1971. 360p.
- VALENTE, C. Indagine sulla diffusione della mastite bovina in provincia di Perugia. *Arch. Vet. Italiano*, Milano, 29(5/6):139-40, 1978.
- VERMA, S.P. & MISHRA, S.S. "In vitro" sensitivity of isolated organisms from bovine mastitis to different antimicrobials. *Indian Vet. J.*, New Delhi, 54(3): 834-39, 1977.