

Microbiologia do leite de ovelhas em rebanho de corte



ISSN 1981-2078

Setembro, 2010

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Pecuária Sudeste
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 25

Microbiologia do leite de ovelhas em rebanho de corte

Luiz Francisco Zafalon
Sérgio Novita Esteves
Rui Machado
Katheryne Benini Martins
William Alexandre Ferreira Dias

Embrapa Pecuária Sudeste
São Carlos, SP
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Pecuária Sudeste

Rod. Washington Luiz, km 234
13560 970, São Carlos, SP
Caixa Postal 339
Fone: (16) 3411- 5600
Fax: (16): 3361-5754
Home page: www.cppse.embrapa.br
Endereço eletrônico: sac@cppse.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Ana Rita de Araujo Nogueira
Secretária-Executiva: Simone Cristina Méo Niciura
Membros: Ane Lisy F.G. Silvestre, Maria Cristina Campanelli Brito,
Milena Ambrosio Telles, Sônia Borges de Alencar

Revisão de texto:

Normalização bibliográfica: Sônia Borges de Alencar
Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito
Foto(s) da capa: Luiz Francisco Zafalon

1ª edição

1ª edição on-line (2010)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Pecuária Sudeste**

Zafalon, Luiz Francisco

Microbiologia do leite de ovelhas em rebanho de corte [Recurso eletrônico] / Luiz Francisco Zafalon [et al.] __ Dados eletrônicos. __ São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2010.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: Word Wide Web: <<http://www.cppse.embrapa.br/080servicos/070publicacaoagratuita/boletim-de-pesquisa-desenvolvimento/Boletim25.pdf/view>>

Título da página na Web (acesso em 30 de setembro de 2010).

22 p. (Embrapa Pecuária Sudeste / Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 25; ISSN: 1980-6841).

1. Ovinos - Leite - Microbiologia - I. Esteves, Sérgio Novita. II. Machado, Rui. III. Martins, Katheryne Benini. IV. Dias, William Alexandre Ferreira. V. Título. VI. Série.

CDD: 636.39089

© Embrapa 2010

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	13
Conclusões	19
Agradecimentos	20
Referências	20

Microbiologia do leite de ovelhas em rebanho de corte

Luiz Francisco Zafalon¹

Sérgio Novita Esteves²

Rui Machado³

Katheryne Benini Martins⁴

William Alexandre Ferreira Dias⁵

Resumo

A inflamação da glândula mamária tem origem principalmente infecciosa. Ela é responsável por prejuízos na produção de ovinos de corte, pois acarreta descarte prematuro de ovelhas e pode interferir diretamente no desenvolvimento e até causar morte dos cordeiros por inanição. Os objetivos do trabalho foram determinar os principais agentes etiológicos infecciosos causadores da mastite subclínica em ovinos de corte e analisar os seus perfis de resistência frente a 11 princípios ativos antimicrobianos. Foram colhidas 455 amostras de leite de ovelhas do rebanho da Embrapa Pecuária Sudeste, localizado em São Carlos, Estado de São Paulo, das quais 98 (21,5%) foram positivas nos exames microbiológicos. Estafilococos coagulase negativa foram os microrganismos de maior ocorrência (14,9%), seguidos por coliformes (2,0%), *Staphylococcus aureus* (1,8%), estafilococos coagulase positiva (1,1%), *Streptococcus* spp. (0,9%), *Corynebacterium* spp. (0,4%), estafilococos coagulase negativa em conjunto com coliformes (0,3%), estafilococos coagulase negativa mais *Corynebacterium* spp. (0,2%)

¹ Médico Veterinário, Dr., Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, zafalon@cppse.embrapa.br

² Médico Veterinário, Dr., Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, sergio@cppse.embrapa.br

³ Médico Veterinário, Dr., Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, rui@cppse.embrapa.br

⁴ Aluna de graduação em Ciências Biológicas, Bolsista FAPESP (nº processo: 2008/11034-5), Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP, katheryne_bm@yahoo.com.br

⁵ Aluno de graduação em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq, Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP, willianafdias@hotmail.com

e *Micrococcus* spp. (0,2%). Testes de sensibilidade *in vitro* foram realizados para as bactérias do gênero *Staphylococcus*, consideradas as mais prevalentes no rebanho. Os maiores percentuais de resistência de estafilococos coagulase negativa foram observados frente à penicilina, oxacilina e cefepima. Entre as cepas de *S. aureus* não foi encontrada resistência aos princípios ativos testados. Para os estafilococos coagulase positiva, o maior percentual de resistência foi encontrado frente à penicilina (60,0%). Os diferentes perfis de suscetibilidade antimicrobiana *in vitro*, observados para estafilococos coagulase negativa, *S. aureus* e estafilococos coagulase positiva, demonstram a importância da realização desses testes para a escolha adequada do fármaco para o tratamento, quando necessário, da mastite infecciosa em ovinos de corte.

Palavras chaves: estafilococos, mastite, microrganismos, ovinos.

Microbiology of ovine milk in a beef flock

Abstract

Inflammation of the mammary gland is originated mainly by infections, responsible for losses in beef production in sheep due to premature culling of the ewes and direct interference in the lambs' performance. The objectives of this study were to determine the main infectious etiologic agents of subclinical mastitis in beef sheep and the resistance patterns to 11 antimicrobial agents. Four hundred fifty and five milk samples from ewes of Embrapa Cattle-Southeast herd, located in Sao Paulo state, were collected for bacterial tests. Of the 455 samples analyzed, 98 (21.5%) were positive in the microbiological analysis. The bacteria prevalent in mammary glands with mastitis were coagulase-negative *Staphylococci* (14.9%) followed by coliforms (2.0%), *Staphylococcus aureus* (1.8%), coagulase-positive *Staphylococci* (1.1%), *Streptococcus* spp. (0.9%), *Corynebacterium* spp. (0.4%), coagulase-positive *Staphylococci* and coliforms (0.3%), coagulase-negative *Staphylococci* and *Corynebacterium* spp. (0.2%) and *Micrococcus* spp. (0.2%). *In vitro* tests of sensitivity were performed to *Staphylococci*, observed as the most prevalent microorganism in the herd. The highest resistance rates of coagulase-negative *Staphylococci* were observed using penicillin, oxacillin and cefepime. Resistance to the antimicrobials was not found among the strains of *S. aureus*. For coagulase-positive *Staphylococci*, the highest resistance rate was found against penicillin (60.0%). Different *in vitro* susceptibility patterns were observed for the coagulase-negative *Staphylococci*, *S. aureus* and coagulase-positive *Staphylococci*, which demonstrate the importance of testing *in vitro* susceptibility to choose the most appropriate drug for the treatment, whenever necessary, of infectious mastitis in beef sheep.

Index terms: Mastitis, microorganisms, resistance, sheep, *Staphylococci*.

Introdução

A mastite em ovinos é estudada em países onde a produção de leite dessa espécie tem importância econômica. Em rebanhos ovinos destinados à produção de carne, a sua importância decorre do descarte prematuro das ovelhas com anormalidades de úbere, bem como da redução do desempenho das crias e da mortalidade dos cordeiros.

A forma subclínica ou inaparente da enfermidade pode acarretar uma menor taxa de crescimento e maior mortalidade dos cordeiros pela redução na concentração de imunoglobulinas no soro e pela diminuição na produção de leite (CHRISTLEY et al., 2003; DOMINGUES e LEITE, 2003).

A doença é caracterizada por ser um processo inflamatório da glândula mamária, geralmente de origem infecciosa. Ela pode se apresentar sob duas formas, a clínica, com sinais macroscópicos evidentes, que a torna facilmente identificável pela visualização das alterações existentes (BRITO e BRITO, 1998); e a subclínica, que não provoca modificações visíveis no aspecto do leite nem na mama, o que torna impossível a sua detecção pela inspeção do animal, do leite e pela palpação da mama. Portanto, a mastite subclínica pode se alastrar silenciosamente no rebanho e causar prejuízos financeiros, além de comprometer a saúde do animal devido à possibilidade de evolução à forma clínica (RADOSTITS et al., 2002).

As bactérias são os principais agentes etiológicos da mastite infecciosa ovina, em que o gênero *Staphylococcus* parece ser o mais encontrado, além dos estreptococos, coliformes, corinebactérias, dentre outras (ARIZNABARRETA et al., 2002). Quando a glândula mamária é invadida por agentes infecciosos, o organismo animal reage com o envio de células de defesa, principalmente neutrófilos, como tentativa de reverter o processo infeccioso, o que acarreta alterações no tecido mamário, as quais podem diminuir a quantidade de leite secretado, modificar a sua composição e interferir no desenvolvimento dos cordeiros (FTHENAKIS e JONES, 1990; WINTER et al., 2003).

O presente trabalho teve como objetivo identificar os principais microrganismos que podem interferir na qualidade do leite fornecido aos cordeiros e analisar os seus perfis de resistência frente a 11 princípios ativos antimicrobianos, no rebanho de ovinos de corte da Embrapa Pecuária Sudeste.

Material e métodos

As amostras de leite foram provenientes de ovelhas de rebanho da Embrapa Pecuária Sudeste, localizado na cidade de São Carlos, no Estado de São Paulo (Figura 1). O rebanho foi acompanhado no período de novembro de 2008 até dezembro de 2009, utilizando-se um grupo de 240 ovelhas Santa Inês. As matrizes foram acasaladas com carneiros puros, da mesma raça, com monta natural a campo controlada com duração de 45 dias.

Durante o período experimental as ovelhas foram criadas em manejo rotacionado de pastagem de capim Aruana. No período das águas a alimentação foi exclusivamente composta por pastagem e, na época seca do ano, os animais foram suplementados com silagem de milho. Água e mistura mineral foram fornecidos à vontade, durante todo ano. As crias foram submetidas ao manejo alimentar “creep feeding” até o período da desmama, aos 90 dias de idade.

No período pré-parto, de cerca de 30 dias, as ovelhas foram vacinadas contra carbúnculo sintomático, vermifugadas e receberam cerca de 300 gramas/animal/dia de ração concentrada contendo 20% de proteína bruta e 78% de nutrientes digestíveis totais. Estes mesmos animais foram mantidos em galpão coberto com acesso ao piquete por cerca de 7 a 10 dias pós-parto e posteriormente foram transferidas ao piquete maternidade com acesso às baias coletivas. Após o parto, as ovelhas e suas crias foram mantidas novamente em manejo rotacionado por aproximadamente duas semanas.

O controle da verminose foi realizado de maneira racional, utilizando-se o tratamento seletivo dos animais com contagens de ovos por grama de fezes (OPG) igual ou superior a 4.000. O método Famacha, que consiste em se relacionar o grau de anemia observado na coloração da conjuntiva ocular dos animais com o nível de infecção pelo nematoide *Haemonchus contortus*, também foi utilizado de maneira concomitante ao controle seletivo.

Foto: Daniel Otsuka



Figura 1. Ovelhas que faziam parte de rebanho da Embrapa Pecuária Sudeste entre novembro de 2008 e dezembro de 2009.

As amostras de leite foram colhidas de todas as ovelhas paridas no início da lactação (14 dias pós-parto) e no final do aleitamento aos 90 dias, quando os cordeiros foram desmamados. Nesses períodos os animais foram separados e, previamente às colheitas de amostras de leite, realizou-se o *California Mastitis Test* (CMT), após o qual o leite foi colhido em tubos de ensaio esterilizados. Para realizar o CMT (SCHALM e NOORLANDER, 1957), misturaram-se 2 mL de reagente com produto detergente e indicador de pH a 2 mL de leite e verificou-se a intensidade da alteração da viscosidade da mistura. As reações foram

classificadas como: a) negativa (sem alteração da viscosidade); b) uma cruz (fracamente positivo com pequena alteração da viscosidade); c) duas cruzes (positivo, com formação de viscosidade aparente); e d) três cruzes (fortemente positivo, com formação de muco). As amostras de leite foram colhidas de mamas reagentes e não reagentes ao CMT.

As alíquotas de leite foram colhidas assepticamente para os exames microbiológicos (HARMON et al., 1990). Após a limpeza do óstio papilar com álcool etílico 70% (v/v) foram colhidas em tubos de ensaio esterilizados amostras individuais de 2 a 5 mL de leite, em duplicatas, de cada glândula mamária. Essas amostras de leite foram semeadas sobre a superfície de placas de Petri com ágar suplementado com sangue ovino desfibrinado a 5%, em duplicatas, em volumes de 10 µL. Após a incubação a 37°C durante 24 a 72 horas, realizou-se a identificação do microrganismos, esquematizada no diagrama de processo a seguir (Figura 2).

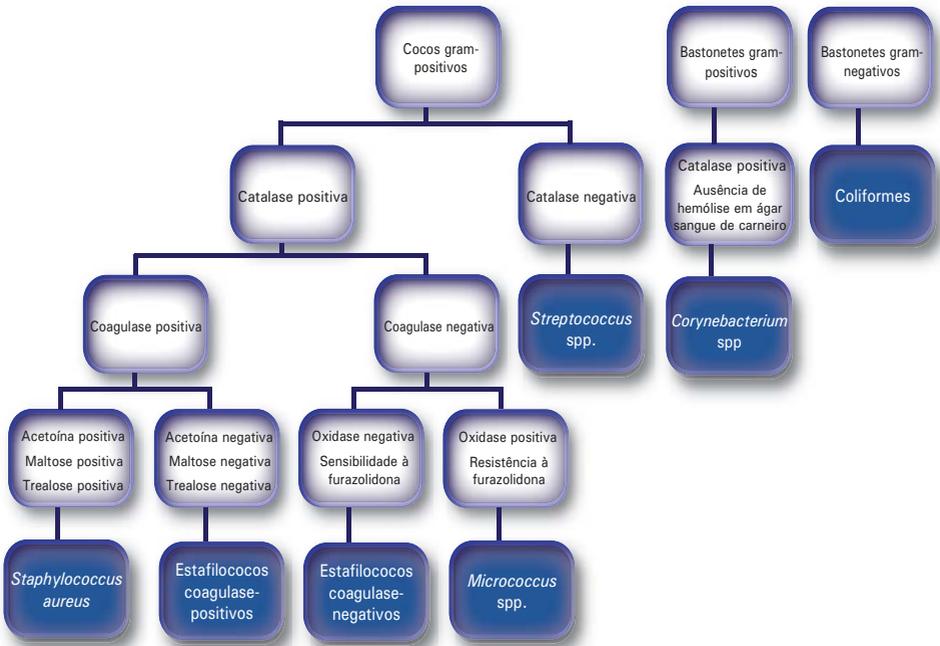


Figura 2. Diagrama de identificação dos microrganismos envolvidos na etiologia infecciosa da mastite ovina.

Os microrganismos investigados foram aqueles que se apresentaram como cocos Gram-positivos, positivos às provas da catalase e da coagulase lenta com plasma de coelho e com apresentação de reações positivas quando submetidos à prova para verificação da produção de acetoína e utilização ou não da maltose e trealose, sendo classificados como *Staphylococcus aureus*. As cepas coagulase-negativas foram submetidas aos testes da oxidase e de resistência à furazolidona e diferenciadas em bactérias dos gêneros *Staphylococcus* ou *Micrococcus* (HOLT et al., 1994; KONEMAN et al., 2001; ZAFALON, 2003).

Além dos cocos Gram-positivos catalase-positivos, foram identificadas como pertencentes ao gênero *Streptococcus* as colônias semeadas em ágar sangue e incubadas a 37°C por 24 a 48 horas que se apresentaram pequenas, lisas, translúcidas, com formato de cone, circundadas ou não por uma zona esverdeada ou clara e negativas à prova da catalase (KONEMAN et al., 2001).

As colônias circulares, brancas, cremes ou opacas em ágar sangue, após 48 horas de incubação a 37°C, reconhecidas como bastonetes Gram-positivos pleomórficos sob a forma de paliçada e “letras chinesas” foram submetidas à prova da catalase e verificação da produção de hemólise para diferenciação entre *Corynebacterium* spp. e *Arcanobacterium pyogenes* (ZAFALON, 2003), enquanto os coliformes foram identificados como colônias grandes e cinzas após 24 horas de incubação a 37°C, em ágar sangue, reconhecidos como bastonetes Gram-negativos (KONEMAN et al., 2001).

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* foram submetidos aos testes de sensibilidade *in vitro* a partir da técnica de difusão em disco (BAUER et al., 1966) em placas de ágar Müller-Hinton, frente a 11 antimicrobianos representados pela rifampicina (30 µg), vancomicina (30 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), penicilina (10 UI), oxacilina (1 µg), cefepima (30 µg), tetraciclina (30 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg) e sulfametoxazol (25 µg). Decorridas 24 horas de incubação a 35°C, realizou-se a aferição dos halos de inibição formados em torno dos respectivos princípios ativos, segundo o *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2005).

Resultados e discussão

Um total de 455 amostras de leite foram colhidas, dentre as quais 98 (21,5%) foram positivas aos exames microbiológicos, enquanto nas demais não houve crescimento dos microrganismos pesquisados. Uma vez que a mastite em sua forma subclínica não causa alterações visíveis no leite e no úbere do animal, o CMT foi utilizado como teste auxiliar para o diagnóstico preliminar da mastite subclínica em 328 mamas. Na Tabela 1 estão apresentados os resultados do CMT, de acordo com as reações ao teste.

Tabela 1. Graus de intensidade ao CMT em mamas com e sem a presença de microrganismos em leite de ovinos em rebanho de corte do Estado de São Paulo.

Resultados de CMT ¹	Mamas positivas ²	Mamas negativas ³	Total de mamas
Negativo	33	210	243
Uma cruz	6	25	31
Duas cruces	16	15	31
Três cruces	15	8	23
Total	70	258	328

¹ Intensidade da reação três cruces > duas cruces > uma cruz.

² Com isolamento de microrganismos após a análise microbiológica.

³ Sem isolamento de microrganismos após a análise microbiológica.

Após a realização do CMT, 243 (74,1%) metades mamárias apresentaram reações negativas ao teste (Figura 3) e 85 (25,9%) foram reagentes, com diferentes graus de positividade. Dentre os úberes com reação positiva ao CMT, em 48 (56,5%) não houve isolamento microbiológico, ou seja, houve uma quantidade considerável de resultados falso-positivos do CMT quando o exame microbiológico foi considerado “padrão-ouro” como teste diagnóstico.

Na maioria das reações fracas ao CMT (uma cruz) o exame microbiológico foi negativo. A proporção de mamas positivas aos exames microbiológicos aumentou de acordo com a elevação

da intensidade do CMT. Dentre as 85 metades mamárias que se apresentaram reagentes ao teste, 31 delas apresentaram reação classificada como “uma cruz”, enquanto outras 31 apresentaram reação “duas cruzes” e 23 apresentaram reação “três cruzes”. Dentre aquelas com reação “uma cruz”, em 19,4% delas foram isolados microrganismos, enquanto houve isolamentos em 51,6% e 65,2% dentre as com reações “duas” e “três cruzes”, respectivamente. Culturas microbiológicas positivas foram encontradas em 13,6% dos úberes não reagentes ao CMT. Esses percentuais de culturas microbiológicas positivas foram semelhantes aos relatados por Arsenault et al. (2008), para as reações negativas e de uma cruz ao CMT (11,7% e 18,4%, respectivamente), porém superiores aos relatos desses mesmos autores nas reações de duas e três cruzes, que foram de 29,0% e 53,6%, respectivamente.

O percentual total de mamas reagentes ao CMT (25,9%) foi superior ao encontrado por Bolsanello et al. (2009), segundo os quais 4,4% de mamas ovinas apresentaram reação positiva ao CMT, de um total de 482 amostras de leite analisadas. Os graus de reação com uma, duas e três cruzes (9,4%, 9,4% e 7,0%, respectivamente) também foram superiores, uma vez que os referidos autores relataram para essas reações 1,4%, 1,7% e 1,2% de reações ao exame, respectivamente.

Coutinho et al. (2006), ao realizarem o CMT em 124 metades mamárias de 62 ovelhas da raça Santa Inês, verificaram resultados positivos em 39 delas. Porém, as análises microbiológicas do leite revelaram a presença de microrganismos em 33 (84,6%) dessas amostras. Nos resultados obtidos no presente trabalho, dentre as 85 mamas positivas ao CMT, em 37 (43,5%) houve isolamentos de microrganismos.

Foto: Daniel Otsuka



Figura 3. Resultados negativos à prova do *California Mastitis Test* (CMT) em leite de ovelhas do rebanho da Embrapa Pecuária Sudeste.

Na Figura 3 está apresentado um exemplo de ausência de viscosidade após a homogeneização da mistura do leite com o reagente empregado no CMT, característico de resultado negativo à prova. Esse tipo de resultado, por sinal, pode ser considerado o único em que não existe dúvidas à leitura, pois a classificação dos resultados positivos é subjetiva e pode variar na dependência da pessoa que realiza o teste. Neste trabalho, uma única pessoa realizou as leituras para evitar a subjetividade entre diferentes pessoas, porém pela dificuldade de contenção dos animais durante a realização das provas, uma única leitura foi feita para cada mama.

De acordo com os resultados apresentados, o CMT não deve ser utilizado como único recurso para diagnosticar animais com mastite subclínica quando o intuito é estabelecer medidas de controle para a doença, mas em conjunto com o exame microbiológico ou com outro exame auxiliar. Entretanto, os resultados sugeriram que, quanto maior é a reação ao teste, maior a possibilidade de isolamento de microrganismos nas mamas. O grande número de resultados falso-positivos ao exame das amostras de leite deve ser considerado com ressalvas, pois além de não corresponderem a todas as 455 mamas ovinas analisadas pelos exames microbiológicos, os casos em que não ocorreram isolamentos de microrganismos do leite de mamas reagentes podem ser decorrentes da presença de outros microrganismos que não foram investigados, mas que poderiam estar causando a doença.

Os microrganismos encontrados isoladamente e em associação, além do total de amostras de leite negativas ao exame microbiológico estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados microbiológicos após os exames das amostras de leite de mamas ovinas em rebanho de corte do Estado de São Paulo.

Microorganismos	Nº de isolamentos	Porcentagem (%)
ECN ¹	68	14,9
Coliformes	9	2,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	1,8
ECP ²	5	1,1
<i>Streptococcus</i> spp.	4	0,9
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	0,4
ECN e Coliformes	1	0,3
ECN e <i>Corynebacterium</i> spp.	1	0,2
<i>Micrococcus</i> spp	1	0,2
Sem isolamentos	356	78,2
Total	455	100,0

¹ Estafilococos coagulase negativa.

² Estafilococos coagulase positiva.

Os estafilococos coagulase negativa foram os agentes etiológicos mais encontrados nas amostras de leite estudadas. Isoladamente estiveram presentes em 14,9% do total das amostras de leite, além de outros dois isolamentos em conjunto com outros microrganismos.

Nas 99 amostras de leite com isolamentos de microrganismos, estafilococos coagulase negativa estiveram presentes em 68,7% e 70,7% delas, isoladamente ou em associação com outros microrganismos, respectivamente. Os resultados obtidos estão condizentes com os verificados por Bolsanello et al. (2009) que, ao investigarem a etiologia da mastite em um rebanho de ovelhas da raça Bergamácia, relataram os estafilococos coagulase negativa como os agentes mais encontrados, correspondendo a 61,1% dos isolamentos, seguidos por *Corynebacterium bovis* (11,2%), *Streptococcus* spp. (3,1%), enterobactérias (2,9%) e *Micrococcus* spp. (1,4%).

Estafilococos coagulase negativa também foram os microrganismos de maior ocorrência em rebanho de ovelhas da raça Santa Inês em Botucatu, São Paulo, quando corresponderam a 67,9% dos microrganismos isolados em culturas puras. Quando considerado o número total de microrganismos isolados em cultura pura e em associação, esses agentes estiveram presentes em 53,1% das amostras de leite (DOMINGUES et al., 2006).

No rebanho estudado, *S. aureus* foi isolado em 1,8% das amostras de leite, ocorrência inferior à encontrada por Al-Majali e Jawabreh (2003), que relataram esse microrganismo como o mais isolado em amostras de leite provenientes de ovelhas da raça Awassi com mastite subclínica, correspondendo a 39,0% dos isolados. Elevada prevalência de *S. aureus* e de estafilococos coagulase negativa em ovelhas de rebanhos de corte foi relatada por Arsenault et al. (2008), achados corroborados por Drescher et al. (2010) de que os *Staphylococcus* spp. são os agentes mais comumente envolvidos nos casos de mastite subclínica em ovelhas.

A presença desses microrganismos na glândula mamária de ovinos de corte pode comprometer a qualidade e a quantidade de leite secretado, ao ponto de interferirem no desenvolvimento de cordeiros quando as glândulas mamárias apresentam o quadro de mastite subclínica. Há relatos de que a mastite causou redução na quantidade de leite produzida, aumentou a quantidade de células somáticas e promoveu crescimento inferior em cordeiros crias de ovelhas com mastite subclínica, quando comparados aos cordeiros de ovelhas saudáveis (FTHENAKIS e JONES, 1990).

Uma vez que os estafilococos foram o grupo de microrganismos mais frequentemente isolados no rebanho, eles foram submetidos aos testes de sensibilidade *in vitro* frente a 11 princípios ativos, cujos resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Percentuais de suscetibilidade *in vitro* de microrganismos do gênero *Staphylococcus* isolados em casos de mastite subclínica ovina em rebanhos de corte.

	Microrganismos								
	Estafilococos Coagulase Negativa			<i>Staphylococcus aureus</i>			Estafilococos Coagulase Positiva		
Princípios ativos	S ¹	I ²	R ³	S	I	R	S	I	R
Sulfametoxazol	100,0	-	-	100,0	-	-	100,0	-	-
Rifampicina	98,5	1,5	-	100,0	-	-	100,0	-	-
Tetraciclina	94,1	5,9	-	87,5	12,5	-	100,0	-	-
Vancomicina ⁴	92,6	-	-	100,0	-	-	100,0	-	-
Gentamicina	92,6	1,5	5,9	100,0	-	-	60,0	-	40,0
Clindamicina	89,7	1,5	8,8	100,0	-	-	60,0	-	40,0
Ciprofloxacina	83,8	14,7	1,5	75,0	25,0	-	60,0	40,0	-
Cefepima	75,7	7,1	17,1	87,5	12,5	-	60,0	-	40,0
Oxacilina	75,4	-	24,6	100,0	-	-	60,0	-	40,0
Penicilina	73,9	-	26,1	100,0	-	-	40,0	-	60,0
Eritromicina	63,2	33,8	3,0	75,0	25,0	-	100,0	-	-

¹ Sensível ao princípio ativo testado.

² Sensibilidade intermediária ao princípio ativo testado.

³ Resistente ao princípio ativo testado.

⁴ Microrganismos resistentes à vancomicina não foram inseridos, pois devem ser submetidos a testes confirmatórios por técnica adicional não realizada.

Estafilococos coagulase negativa apresentaram os maiores percentuais de sensibilidade ao sulfametoxazol, à rifampicina e à tetraciclina (100,0%, 98,5% e 94,1%, respectivamente). Os maiores percentuais de resistência dessas cepas foram observadas frente à penicilina, oxacilina e cefepima (26,1%, 24,6% e 17,1% respectivamente). Coutinho et al. (2006), em estudo sobre a etiologia da mastite ovina e a sensibilidade dos microrganismos aos antimicrobianos, relataram que 89,5% das cepas foram sensíveis à oxacilina e as demais apresentaram sensibilidade intermediária, ou seja, nenhuma cepa foi resistente a esse princípio ativo.

Não foi encontrada resistência aos princípios ativos testados entre as cepas de *S. aureus*, apenas sensibilidade intermediária à ciprofloxacina, eritromicina (25% em ambas), tetraciclina e cefepima (12,5% em ambas). Outros achados foram semelhantes aos deste trabalho, quando estudados os perfis de sensibilidade antimicrobiana de cepas de *S. aureus* isoladas de leite ovino, em que foram observados altos índices de sensibilidade aos princípios ativos utilizados, com percentuais de resistência de 6,3% apenas para a penicilina e a ampicilina (PENGOV e CERU, 2003).

Dentre as cepas de estafilococos coagulase positiva, verificou-se 100% de sensibilidade frente ao sulfametoxazol, à rifampicina, à vancomicina, à tetraciclina e à eritromicina. Isolados resistentes foram encontrados frente à penicilina (60,0%), à oxacilina, à clindamicina, à gentamicina e ao cefepime (40,0% para os quatro).

O tratamento de casos de mastite em ovelhas de rebanhos destinados à produção de carne não é uma prática comum. Porém, os resultados encontrados e relacionados com a resistência de determinados agentes infecciosos aos princípios ativos sugerem que o uso indiscriminado de antimicrobianos pode prejudicar o sucesso da terapia, quando ela se fizer necessária.

Conclusões

Os resultados obtidos revelaram ser o gênero *Staphylococcus* o de maior ocorrência na etiologia infecciosa da mastite ovina. Dentre esses, os estafilococos coagulase negativa foram os mais frequentemente isolados no rebanho. As diferenças observadas nos perfis de resistência dos microrganismos revelam a importância da realização de testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* para a escolha do agente antimicrobiano mais adequado para o tratamento da mastite infecciosa, quando necessário, mesmo em rebanhos de ovinos destinados à produção de carne.

Agradecimentos

Apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo / FAPESP – Auxílio-pesquisa nº 2007/56558-9 e bolsa de iniciação científica - Processo 2008/11034-5.

Referências

AL-MAJALI, A. M.; JAWABREH S. Period prevalence and etiology of subclinical mastitis in Awassi sheep in southern Jordan. **Small Ruminant Research**, v. 47, p. 243-248, 2003.

ARIZNABARRETA, A.; GONZALO, C.; SAN PRIMITIVO, F. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1370-1375, 2002.

ARSENAULT, J.; DUBREUIL, P.; HIGGINS, R.; BÉLANGER, D. Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meat-producing sheep flocks in Quebec, Canada. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 87, n. 3-4, p. 373-393, 2008.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; TRUCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.

BOLSANELLO, R. X.; HARTMAN, M.; DOMINGUES, P. F.; MELLO JÚNIOR, A. S.; LANGONI, L. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamáceas submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedades de Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, p. 21-227, 2009.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. **Programas de controle das mastites causadas por microrganismos contagiosos e do ambiente**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1998. 25 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 71).

CHRISTLEY, R. M.; MORGAN, K. L.; PARKIN, T. D. H.; FRENCH, N. P. Factors related to the risk of neonatal mortality, birth-weight and serum immunoglobulin concentration lambs in the UK. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 57, p. 209-226, 2003.

COUTINHO, D. A.; COSTA, J. N.; RIBEIRO, M. G.; TORRES, J. A. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, p. 139-151, 2006.

DOMINGUES, P. F.; LEITE, C. A. Mastite em Ovinos. **Berro**, v. 74, p. 50-60, 2003.

DOMINGUES, P. F.; LUCHEIS, S. B.; SERRÃO, L. S.; FERNANDES, S.; CONTENTE, A. P. A.; MARTINS, E. C. V.; LANGONI, H. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastitesubclínica em ovelhas da raça Santa Inês. **Ars Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 146-152, 2006.

DRESCHER, G.; MATTIELLO, S. P.; PEIXOTO, R. M., VARGAS, A. C.; MACIEL, M. N.; COSTA, M. M. Caracterização bioquímica e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de agentes bacterianos isolados de mastite subclínica ovina na região oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 188-193, 2010.

FTHENAKIS, G. C.; JONES, J. E. The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. **British Veterinary Journal**, v. 143, p. 43-49, 1990.

HARMON, R. J.; EBERHART, R. J.; JASPER, D. E.; LANGLOIS, B. E.; WILSON, R. A. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infections**. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34p.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Gram-positive cocci**. In: BERGEY'S manual of determinative bacteriology. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR, W. C. W. Diagnóstico microbiológico – Texto e atlas colorido. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. **Fifteenth Informational Supplement**, v. 25, n. 1, 2005.

PENGOV, A.; CERU, S. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. **Journal of Dairy Science**, v. 86 p. 3157-3163, 2003.

RADOSTITS, O. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C. C. **Clínica Veterinária**. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 130, p. 199-207, 1957.

WINTER, P.; SCHILCHER, F.; FUCKS, K.; COLDITZ, I. G. Dynamics of experimentally induced *Staphylococcus epidermidis* mastitis in East Friesean milk ewes. **Journal of Dairy Research**, v. 70, p. 157-164, 2003.

ZAFALON, L. F. **Mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus*: qualidade e quantidade de leite secretado por quartos tratados e não tratados e relação custo/benefício do tratamento durante a lactação**. 2003. 66 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.