



COINTER PDVAgro 2020

V CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Edição 100% virtual | 02 a 05 de dezembro

ISSN:2526-7701 | PREFIXO DOI:10.31692/2526-7701

LEITE E MÃO DE ORDENHADOR COMO FONTE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTES A PENICILINAS

Apresentação: Pôster

Fernanda Pistori Machado¹; Luany Yone Myoshi²; Julia Arantes Galvão³

INTRODUÇÃO

A mastite em bovinos leiteiros é atualmente, a doença infecciosa com maior prevalência nos rebanhos produtivos e considerada uma das doenças com maior impacto na produção de leite (MESQUITA et al.; 2020) ocasionando diversos prejuízos econômicos pelo alto custo de tratamento e baixa taxa de cura (ZAFALON et al., 2008).

Devido o uso indiscriminado e inadequado (subdosagens) nos rebanhos leiteiros, a penicilina é considerada o antibiótico de menor ação ao *Staphylococcus aureus*, possibilitando a seleção de cepas resistentes, pela eliminação de cepas sensíveis e pela presença da betalactamase em algumas cepas do *S. aureus*. Esta enzima consegue romper o anel betalactâmico, uma estrutura molecular fundamental para a ação deste antibiótico (BITENCOURT et al., 2018).

A penicilina foi descoberta por Alexander Fleming em 1929 e desde então vinha sendo utilizada como o principal antibiótico no combate as infecções bacterianas devido a sua ação sobre as bactérias gram positivas, alcançando alta concentração na glândula mamária e curto período de ação, de apenas 72 horas (PEREIRA NETO, 2007). Com o passar dos anos devido ao uso e abuso no rebanho leiteiro, a penicilina começou apresentar ineficiência no tratamento de infecções-lactamases e, novos medicamentos antimicrobianos resistentes a β -lactamases

¹Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná – UFPR, fer891@hotmail.com

²Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná – UFPR, luanymiyoshi@gmail.com

³Professora Doutora do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná - UFPR, juliaarantesgalvao@gmail.com

STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES A PENICILINAS EM LEITE

como a oxacilina foram introduzidos no mercado (JELJASZEWICZ et al., 2000). O antibiótico oxacilina é da classe dos β -lactâmicos e foi introduzido no mercado em 1961 para o tratamento de mastites bovinas resultantes de infecção por *S. aureus*. (LOWY, 2003).

As infecções ocasionadas por patógenos resistentes a antimicrobianos constituem um problema de saúde pública, uma vez que os microrganismos patogênicos podem adquirir resistência aos antibióticos antes eficazes, levando a um aumento incontrolado de doenças bacterianas que não poderão ser tratadas (CARVALHO et al., 2018).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo isolar a bactéria *Staphylococcus aureus* provenientes do leite e mão dos ordenhadores e determinar seu perfil de resistência a penicilina.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A produção láctea no Brasil vem apresentado um crescimento contínuo nos últimos anos, estando em constante expansão e tecnificação. Em 2017, a produção média de leite no Brasil foi de 1.695 litros/vaca/ano (IBGE, 2018). Simultaneamente ao aumento da produção de leite, surgem os distúrbios ligados à glândula mamária, especialmente as afecções que podem gerar grandes prejuízos e interferência na produção de leite (SÁ et al., 2018).

Na pecuária leiteira, a mastite é uma das principais enfermidades que afeta a produtividade de vacas leiteiras, resultando em significantes perdas econômicas tanto para os produtores rurais quanto para a indústria de produtos lácteos, devido à redução na quantidade e qualidade do leite (LANGONI et al. 2017).

A bactéria *Staphylococcus aureus* tem sido associada como a causa mais frequente de mastite contagiosa em todo o mundo (NEVES et al., 2010), sendo capaz de colonizar a glândula mamária de ruminantes e sobreviver por longos períodos. É um agente patogênico que varia em termos de infecções e hospedeiros, o que o torna uma ameaça à saúde animal e humana (PETON; LE LOIR, 2014), pois produz toxinas relacionadas à resistência aos antimicrobianos e à gravidade dos sintomas das infecções intramamárias (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

O objetivo do trabalho foi isolar e avaliar o perfil de resistência a penicilina em *S. aureus* obtidos do leite e mão dos ordenhadores.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado no período de maio de 2017 a setembro de 2018, com visita a doze propriedades rurais localizadas na área rural de São José dos Pinhais, PR. Durante as visitas, as seguintes amostras foram coletadas: leite cru oriundo de vacas aparentemente saudáveis (n = 12) disponível no tanque de refrigeração (leite de conjunto), utilizando sacos plásticos estéreis (Labplas Inc., Sainte-Julie, QC, Canadá) e amostras superficiais das mãos dos ordenhadores (n = 24).

As amostras foram diluídas em solução salina (Dinâmica, Indaiatuba, Brasil) peptonada (Oxoid Ltd., Basingstoke, Inglaterra) e semeadas em superfície em ágar BairdParker (Oxoid Ltd., Basingstoke, Inglaterra) suplementado com gema de ovo e telurito de potássio (NewProv, Pinhais, Brasil). As colônias formadas foram submetidas à coloração de Gram, com posterior realização das provas de catalase e coagulase lenta com plasma de coelho (NewProv Pinhais, Brasil). Isolados que apresentaram a capacidade de produzir coagulase foram estocados em ágar nutriente (Oxoid Ltd., Basingstoke, Inglaterra), identificados.

Posteriormente as culturas identificadas como coagulase positiva foram submetidas a testes fenotípicos: catalase, Gram, DNase e fermentação de maltose. Os isolados caracterizados como cocos Gram positivos, produtores de catalase e DNase e fermentadores de maltose foram identificados como *S. aureus*. Os isolados de *S. aureus* foram selecionados e submetidos ao antibiograma, seguindo o método de difusão em disco de Kirby-Bauer (CLSI, 2017). Após incubação a 37°C por 24 horas, os halos de inibição (quando presentes) foram mensurados com paquímetro e os isolados classificados como resistentes ou sensíveis a classe penicilina (penicilina e oxacilina) (CLSI, 2017).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um total de 36 amostras avaliadas, 15 apresentaram contagens de estafilococos coagulase positiva com predominância nas amostras de leite (13/36), seguida da mãos dos ordenhadores (19/36).

STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES A PENICILINAS EM LEITE

Tabela 1: Resistência a penicilina encontradas no leite e mão dos ordenhadores de acordo com as propriedades coletadas.

Antibiótico	Propriedades	Amostras
Oxacilina	2	Leite
	12	Mão
Penicilina	2	Leite
	3	Mão
	4	Mão
	9	Leite

Fonte: Própria (2019)

A presença de *S. aureus* no leite cru está associada com precárias práticas de ordenha e manipulação inadequada de animais, utensílios e equipamentos de ordenha, evidenciando a importância dessas práticas para a obtenção de leite com alta qualidade (ARENAS et al., 2017; KATEETE et al., 2013). As mãos dos ordenhadores quando não higienizadas corretamente tornam-se um importante ponto de contaminação do leite, pois podem carrear microorganismos de uma mão para a outra, para os tetos dos animais e equipamentos de ordenha (MIYOSHI, 2019).

Com relação a frequência de resistência, *S. aureus* foram mais resistentes à penicilina, seguido da oxacilina. Não foi verificada a presença/resistência de cepas em mãos e leite de forma concomitante (na mesma propriedade), assim não ficou evidenciada a possível transferência de cepas resistentes entre espécies.

CONCLUSÕES

Com base nos dados descritos é possível concluir que a bactéria *Staphylococcus aureus* vem apresentando resistência a classe das penicilinas. Essa resistência pode estar associada ao uso errôneo e abusivo dos antimicrobianos na medicina veterinária, permitindo a seleção de cepas multirresistentes.

A escolha do antimicrobiano a ser utilizado para o tratamento da mastite bovina por *S. aureus* só deve ser feita após o conhecimento do perfil de sensibilidade dos microorganismos frente aos antimicrobianos, pois além de obter um tratamento eficaz e específico, impede o aparecimento de estirpes resistentes.

REFERÊNCIAS

ARENAS, N. E.; ABRILL, D. A.; VALENCIAL, P.; KHANDIGE, S.; SOTO, C. Y.; MELO, V. M. Screening food-borne and zoonotic pathogens associated with livestock practices in the Sumapaz region, Cundinamarca, Colombia. *Tropical Animal Health and Production*, v. 49, n. 4, p. 739-745, 2017.

BITENCOURT, L. L., LEITE, M. C. T., CAZAROTI, E. P. F., BOTELHO, F. N., GIUBERTI, K. C.; SILVA, V. B. P. Identificação e sensibilidade antimicrobiana de staphylococcus aureus isolados do leite de vacas com mastite. *Revista Ifes Ciência*, 4(1), 133-142. 2018. <https://doi.org/10.36524/ric.v4i1.333>.

CARVALHO, A. S. S., SERRA, J. L., RODRIGUES, L.C., JUNIOR, L.S.R., MOUCHREK, A. N., FERREIRA, E. M. Susceptibilidade de staphylococcus aureus isolados de leite cru a antibióticos comerciais. *Ciência Animal Brasileira*, 19. e-47159. Epub October 18, 2018. <https://dx.doi.org/10.1590/1809-6891v19e-47159>.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI document M100 – 27^a ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017. 282p.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por Staphylococcus aureus e suas implicações em saúde pública. *Ciência Rural*, v. 34, n. 4, p. 1315–1320, 2004.

IBGE. Produção da pecuária municipal 2018, v.46, p.1-8, 2018. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/biblioteca-catalogo.html> . Acessado em: 11 out. 2020.

JELJASZEWICZ, J.; MLYNARCZYK, G., MLYNARCZYK, A. Antibiotic resistance in gram-positive cocci. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 16, 473-478, 2000.

KATEETE, D. P.; KABUGO, U.; BALUKU, H.; NYAKARAHUKA, L.; KYOBE, S.; OKEE, M.; NAJJUKA, C. F.; JOLOBA, M. L. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from milkmen and cows with clinical mastitis in and around Kampala, Uganda. *PLoS One*. May 7;8(5), 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0063413. PMID: 23667611; PMCID: PMC3646745.

LANGONI, H.; SALINA, A.; OLIVEIRA, G. C.; JUNQUEIRA, N. B.; MENOZZI, B. D.; JOAQUIM, S. F. Considerações sobre o tratamento das mastites. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 11, p. 1261-1269, 2017.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus. *Journal of Clinical Investigation*. 111, 1265-1273, 2003.

MESQUITA, A. A.; NEGRÃO, F.; FERRARI, M.H.; FREIRIA, L. B.; LINS, T. O. J. A. Impacto, prevalência e etiologia da mastite bovina causada por Staphylococcus aureus e Streptococcus agalactiae. *Nutri-Time*. p. 01-15, jan. 2020. Bimestral. Disponível em: www.nutritime.com.br. Acesso em: 11 out. 2020.

MIYOSHI, L.Y Obtenção, manejo e caracterização microbiológica do leite em unidades produtivas - Curitiba, 2019. 70 p.: il. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES A PENICILINAS EM LEITE

NEVES, M. C.; COSTA, J. R.V.; VIEIRA, V. C.; ABREU, I. L.; LEMOS, M. V. F. Resistência aos antimicrobianos e análise da diversidade genética de staphylococcus aureus por pcr-rapd. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.77, n.4, p.575-582, 2010.

PEREIRA NETO, O. A. Cuidados no tratamento antibiótico de vacas em lactação. In: TORRES, R. A.; MACHADO, J. R. C.; MUNDIM, P. M. (ed.). Estratégias de manejo e alimentação visando a melhoria da pecuária leiteira familiar das Regiões Sul e Centro-Sul Fluminense. Juiz de Fora - Mg: Embrapa Gado de Leite, 2007. p. 1-64. Disponível em: file:///LivroEstrategiasdemanejoalimentacaovisandoamelhoriapecuaria%20(1).pdf. Acesso em: 13 out. 2020.

PETON, V.; LE LOIR, Y. Staphylococcus aureus in veterinary medicine. Infection, Genetics and Evolution, v. 21, p. 602–615, 2014.

SÁ, J. P. N.; FIGUEIREDO, C. H. A.; SOUSA NETO, O. L.; ROBERTO, S. B. A.; GADELHA, H. S.; ALENCAR, M. C. B. Os principais microorganismos causadores da mastite bovina e suas consequências na cadeia produtiva de leite. Revista Brasileira de Gestão Ambiental, Pombal - Pb, v. 12, n. 1, p. 1-13, jan. 2018. Trimestral. Disponível em: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RBGA/index>. Acesso em: 11 out. 2010.

ZAFALON, L. F.; ARCARO, J.R.P.; FILHO, A.N.; FERREIRA, M.; CASTELANI, L.; BENVENUTTO, F. Investigação de perfis de resistência aos antimicrobianos em Staphylococcus aureus isolados na ordenha de vacas em lactação. Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.) [online], vol.67, n.2, pp. 118-125, 2008. ISSN 0073-9855.