

A mastite bovina é uma enfermidade infecciosa que pode ser causada por diferentes agentes bacterianos. Essa doença é comumente diagnosticada em bovinos de aptidão leiteira de criação intensiva. Apesar de vários antimicrobianos estarem disponibilizados para o tratamento da mastite bacteriana, a resistência dos microrganismos responsáveis por essa infecção tem aumentado em decorrência do uso indiscriminado e inadequado de tais produtos. O presente trabalho foi delineado para: (i) isolar *Streptococcus* spp. do leite de vacas com mastite criadas na região de Uberaba, Estado de Minas Gerais, Brasil e (ii) identificar os antimicrobianos para os quais as bactérias apresentam maior sensibilidade ou resistência *in vitro*. As amostras de leite foram cultivadas em Ágar Sangue e em Ágar MacConkey e incubadas em condições de aerobiose a 37°C, por 24 a 72 horas. As placas com crescimento bacteriano tiveram suas colônias identificadas por suas características morfológicas, tintoriais e bioquímicas. O Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos (TSA) foi realizado com o emprego do método Kirby-Bauer de difusão em disco. O padrão intermediário de suscetibilidade foi classificado como resistente. Foram obtidos 68 isolados bacterianos puros de *Streptococcus* spp. No TSA, os melhores resultados de sensibilidade foram observados para a associação Amoxicilina + Ácido Clavulânico (97,1%; 66/68), Ceftiofur (95,6%; 65/68) e Ampicilina (89,7%; 61/68). Para Penicilina, 76,5% (52/68) dos isolados apresentaram sensibilidade. A resistência das bactérias foi detectada mais frequentemente para Neomicina (80,9%; 55/68) e Gentamicina (76,5%; 52/68). Foi constatada resistência de 69,12% (47/68) das bactérias para Tetraciclina e de 50% (34/68) para Enrofloxacin. Amoxicilina + Ácido Clavulânico, Ceftiofur e Ampicilina demonstram eficácia *in vitro* para terapia da mastite estreptocócica da região de Uberaba, Estado de Minas Gerais, Brasil.

Palavras-chave: leite, microrganismos, vacas, tratamento.

Agradecimentos: Hospital Veterinário de Uberaba, UNIUBE, FAZU e ABCZ.

15 AGENTES BACTERIANOS ISOLADOS DE QUARTOS MAMÁRIOS COM MASTITE SUBCLÍNICA EM PROPRIEDADES LEITEIRAS DA REGIÃO SUL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

BELMONTE, B. S. 1*; XAVIER, E. 1; BRAGATO, M. S. 1; PETER, C. M. 2; PICOLI, T. 3; LATOSINKI, G. S. 4; ZANI, J. L. 5

¹Alunos de Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS. *Autora para correspondência: belny_17@hotmail.com

²Aluna de Residência em Saúde Pública, Laboratório de Bacteriologia e Saúde Populacional, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS

³Aluno de Doutorado, Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS

⁴Aluna de Residência em Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu/SP

⁵Professor associado da Disciplina de Doenças Infecciosas, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS

A mastite bovina é um dos importantes fatores que comprometem a qualidade do leite. A inflamação da glândula mamária pode ser ocasionada por diversas causas, principalmente bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*. O presente trabalho quantificou a mastite subclínica e efetuou a identificação dos principais agentes bacterianos em dez Unidades de Produção de Leite (UPL) da zona rural do Município de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Dez UPL foram monitoradas durante cinco meses com levantamento de informações sobre o sistema de produção obtidas com a aplicação de questionários epidemiológicos, realização do teste da caneca de fundo preto, CMT e colheita de amostras de leite para identificação bacteriana. Os resultados obtidos foram analisados pelas frequências observadas. As UPL são caracterizadas por serem do tipo familiar, 88% possuem em média uma área de até 30ha, em média 12 animais em lactação e média na produção de leite de 175 litros/dia. Em 50% das UPL a ordenha é manual e 70% utilizam resfriamento de imersão. A prevalência de mastite subclínica no período estudado foi de 37,4%. Foram considerados para a análise os agentes bacterianos de maior prevalência: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. Nos 894 isolamentos de amostras de quartos mamários reagentes ao CMT foram encontradas as prevalências: *Staphylococcus* spp. (49,4%), *Corynebacterium* spp. (13,5%), *Streptococcus* spp. (9,6%), *Staphylococcus* spp. mais *Corynebacterium* spp. (3,7%), *Streptococcus* spp. mais *Corynebacterium* spp. (0,9%), *Staphylococcus* spp. mais *Streptococcus* spp. (2,2%) e 20,7% sem isolamento. Quanto as amostras com escore +, os agentes *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp.

foram identificados em 91,7% das amostras e 62,2% apenas *Staphylococcus* spp. O maior número de amostras com escore ++ (86%) também foi identificado com esses dois agentes principais, sendo isolado *Staphylococcus* spp. em 66,4% das amostras. Com escore +, em 59% das amostras, o agente prevalente foi o *Staphylococcus* spp.; porém, em 15,9% dos casos, o segundo agente foi o *Streptococcus* spp. A mastite nas UPL apresentou uma prevalência semelhante a já encontrada de outros estudos efetuados na região e os microrganismos predominantes foram os agentes contagiosos, provavelmente devido ao manejo inadequado da ordenha.

Palavras-chave: microrganismos, leite bovino, CMT, manejo de ordenha.

16 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *DICHONDRA REPENS* FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLADOS DO LEITE BOVINO DE PROPRIEDADES LEITEIRAS DA REGIÃO SUL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

XAVIER, E. S. 1*; BELMONTE, B. S. 1; BRAGATO, M. S. 1; PETER, C. M. 2; PICOLI, T. 3; LATOSINKI, G. S. 4; ZANI, J. L. 5

¹ Alunos de Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS. E-mail: ednamst@hotmail.com

² Aluna de Residência em Saúde Pública, Laboratório de Bacteriologia e Saúde Populacional, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS

³Aluno de Doutorado, Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS

⁴Aluna de Residência em Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu/SP

⁵ Professor associado da Disciplina de Doenças Infecciosas, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS

A *Dichondra repens*, também conhecida popularmente como orelha de rato, uma planta da família *Colvulaceae*, é descrita na literatura em virtude de sua atividade antimicrobiana e anti-inflamatória, que tem como composto majoritário o n-butanol. O *Staphylococcus aureus* é um dos principais agentes responsáveis pela mastite bovina, inflamação da glândula mamária que ocasiona importantes prejuízos econômicos ao setor lácteo. O presente trabalho foi delineado para testar a sensibilidade de isolados de *S. aureus* oriundos de tanques resfriadores de leite frente a extratos etanólicos de *Dichondra repens* e determinar sua concentração inibitória mínima (CIM) para esse microrganismo. Foram utilizados 38 isolados de *S. aureus* e, para execução da técnica de CIM, eles foram suspensos em 2mL de solução salina estéril a 0,85% até atingir a turbidez ajustada a escala 0,5 de McFarland. A concentração utilizada do extrato foi de 16%. Em placas de 96 cavidades foram adicionados 50 µL da solução acrescidos de 50 µL de caldo BHI, obtendo-se a concentração de 8%, e realizadas mais três diluições seriadas. Aos poços foram acrescentados 5 µL das suspensões bacterianas e posterior incubação em estufa bacteriológica a 37°C durante 24 horas; após esse período, uma alíquota de 5 µL por poço foi semeada em meio de cultura Ágar-sangue ovino 5%. Foram considerados sensíveis os isolados em que não houve crescimento após a incubação. Os dados foram analisados estatisticamente com o emprego do software BioEstat versão 5.3. Os resultados obtidos mostraram-se promissores quanto ao efeito antibacteriano de *D. repens* frente a *S. aureus*. Dos 38 isolados testados, 36 (94,7%) foram sensíveis aos extratos nas concentrações 8% e 4%, demonstrando eficácia nessas concentrações, não havendo diferença estatística entre elas. Já na concentração 2%, apenas duas estirpes (5,3%) foram inibidas. Há diferença significativa entre as concentrações 2% e 4% ($p < 0,0001$), demonstrando que a concentração inibitória mínima de *S. aureus* frente ao extrato etanólico de *Dichondra repens* fica entre 2% e 4%. Na concentração de 1%, todos os isolados apresentaram resistência. Conclui-se que o extrato etanólico a 4% de *Dichondra repens* inibe o crescimento bacteriano de *S. aureus in vitro*.

Palavras-chave: leite bovino, tratamento alternativo, mastite bovina.

17 HEMOLISINAS PRODUZIDAS POR ESTIRPES DE *S. AUREUS* ISOLADAS EM CASOS DE MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA EM PROPRIEDADES LEITEIRAS DA REGIÃO SUL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

PICOLI, T. 1; LATOSINSKI, G. S. 2; PETER, C. M. 3; BRAGATTO, M. S. 4; ZANI, J. L. 5

¹ Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Capão do Leão, Avenida Eliseu Maciel, s/n., CEP: 96900-010, Capão do Leão/RS, Brasil. E-mail: picolivet@gmail.com

²Residente em Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade

Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu/SP. Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n., Unesp Campus de Botucatu, CEP: 18618-681, Botucatu/SP, Caixa Postal 560

3Residente em Saúde Coletiva UFPel, Campus Capão do Leão, Avenida Eliseu Maciel, s/n., CEP: 96900-010, Campus Capão do Leão/RS, Brasil

4Graduanda em Medicina Veterinária UFPel, Campus Capão do Leão, Avenida Eliseu Maciel, s/n., CEP: 96900-010, Capão do Leão/RS, Brasil

5Professor associado da disciplina de Doenças Infecciosas, Faculdade de Veterinária, UFPel, Campus Capão do Leão, Avenida Eliseu Maciel, s/n., CEP: 96900-010, Capão do Leão/RS, Brasil

O *Staphylococcus aureus*, principal microrganismo causador de mastite bovina, possui diversos fatores de patogenicidade, dentre eles a capacidade de produzir enzimas citolíticas como hemolisinas, que estão associadas a alterações patológicas nas infecções estafilocócicas. O presente trabalho avaliou a produção de hemolisinas por *S. aureus* isolados de mastite bovina. A partir de amostras de leite coletadas de quartos mamários com mastite, foram isoladas seis estirpes de *S. aureus* provenientes de enfermidade clínica e dez de enfermidade subclínica que foram avaliadas quanto à produção de hemolisinas. Os isolados foram semeados em meio de cultivo Ágar-sangue 5%, incubados e, após crescimento das colônias, estas foram suspensas em caldo BHI sob turbidez 01 da escala de Mc Farland. Foi coletado sangue de carneiro, desfibrinado, centrifugado e o sobrenadante descartado. Foram realizadas duas lavagens com tampão PBS até a ressuspensão das hemácias em PBS no volume inicial de sangue. Em placas com 96 cavidades, 50 µL de caldo BHI duplo com 5% de hemácias e 50 µL das suspensões bacterianas foram adicionados aos poços em quadruplicata. Após 48 horas de incubação, os sobrenadantes foram aspirados e transferidos a outras microplacas. A leitura efetuada em espectrofotômetro (492nm) avaliou a absorvância. Foram consideradas positivas as estirpes cujas médias ultrapassaram a média dos controles negativos (apenas BHI) acrescidos de dois desvios padrões. O teste t de Student foi adotado para comparação entre as médias. As estirpes hemolíticas rompem hemácias e causam o extravasamento de hemoglobina no meio, tornando o sobrenadante avermelhado. O controle negativo apresentou média de absorvância de 0,342 ± 0,05. Todas as estirpes isoladas dos casos de mastite clínica foram positivas (0,843 ± 0,235). Nove estirpes de casos subclínicos tiveram média superior ao controle negativo 0,563 ± 0,106. Uma estirpe teve absorvância 0,272 ± 0,07; portanto, inferior ao controle negativo. Houve diferença entre a média de absorvância dos controles negativos e as médias de absorvância das estirpes positivas (p<0,001) e entre as estirpes provenientes de mastite clínica e subclínica (p<0,01), demonstrando que a produção de hemolisinas é um importante fator de patogenicidade de *S. aureus* relacionado com o grau de severidade da infecção.

Palavras-chave: enzima citolítica, leite bovino, fator de patogenicidade.

18 STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NEGATIVA E STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM MASTITE SUBCLÍNICA BOVINA NO NORTE DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL

SILVA, L. M. V.1; CUNHA, G. S. P.2; ALBERICO, A. X. 3; OLIVEIRA, S. J. 3; SOUZA, C. N. 4; MORÃO, R. P. 5; GONÇALVES, S. F. 6; SILVA, F. E. G. 6*

1Bolsista IC PIBIC CNPq

2Bolsista IC PROBIC FAPEMIG

3Mestranda em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros

4Técnica do Laboratório de Microbiologia Aplicada, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros

5Doutorando em Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Belo Horizonte

6Graduandos em Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros *E-mail: flavioemanuel2515@hotmail.com

O gênero *Staphylococcus* sp. ocupa uma posição de destaque entre os agentes bacterianos que acometem a glândula mamária. Esse gênero é responsável por alterar a composição centesimal do leite, o número de células somáticas, bem como as qualidades microbiológica, física e química do leite. O *Staphylococcus* coagulase negativo são bactérias isoladas em leite bovino e consideradas como patógenos emergentes de alta frequência. A alta prevalência de *Staphylococcus aureus* no rebanho leiteiro é um desafio para a criação de programas de controle pela alta resistência aos antibióticos e alta disseminação infecciosa entre os tetos. O presente trabalho foi delineado para avaliar a frequência de *Staphylococcus* sp.

em glândulas mamárias bovinas com mastite subclínica em rebanhos mestiços leiteiros em seis municípios do norte do Estado de Minas Gerais, Brasil. Foram avaliadas propriedades nos municípios de Mathias Cardoso (n=1), São João da Lagoa (n=1), Janaúba (n=3), Icarai de Minas (n=3), Francisco Sá (n=1) e Porteirinha (n=1). A ocorrência de mastite subclínica foi investigada, antes da ordenha, com o emprego do *California Mastitis Test* (CMT), em todas as matrizes em lactação, a partir do 15º dia pós-parto. As amostras de leite foram colhidas dos tetos positivos ao teste de CMT e a identificação de *Staphylococcus* sp. foi estabelecida por metodologia convencional. Dos 500 tetos analisados 33, 4% (167/500) apresentaram cultivos positivos para *Staphylococcus* sp. Das 167 estirpes isoladas, 55,1% (92) foram identificadas como *Staphylococcus* sp. coagulase negativa e 44,9 % (75) como *Staphylococcus aureus*. A frequência de estirpes isoladas não diferiu entre as propriedades estudadas (p> 0,05). No entanto, a frequência de estirpes identificadas como *Staphylococcus aureus* e de agrupamentos *Staphylococcus* sp. coagulase negativa foi distinta (p<0,05) entre as propriedades analisadas, sendo que duas propriedades apresentaram 100% de isolados de *Staphylococcus aureus*. A conclusão obtida foi que, na região estudada, as perdas na produtividade dos rebanhos com alto custo para tratamento de animais positivos e a perda na produção em decorrência da contaminação das glândulas mamárias contaminadas por *Staphylococcus* sp. são expressivas, sendo necessária a implantação de programas efetivos de controle da infecção.

Palavras-chave: *Staphylococcus* sp., rebanhos mestiços, qualidade do leite, mastite contagiosa.

Agradecimentos: FAPEMIG, CNPq, CAPES, UFMG/PRPq, UFMG/PBEXT.

19 MULTIRRESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADOS DE REBANHOS MESTIÇOS LEITEIROS DO NORTE DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL

SILVA, L. M. V. 1; ALBERICO, A. X. 2; SOUZA, C. N. 3; GUEDES, L. L. M. 4; PENA, A. C. S. 4; MAIA, P. H. B. B. 4; LIMA, J. W. G. 4*; TEIXEIRA, M. G. 5

1 Bolsista IC PIBIC CNPq

2Mestranda em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais,

Campus Montes Claros

3Técnica do Laboratório em Microbiologia, Universidade de Minas Gerais,

Campus Montes Claros

4Graduandos em Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus

Montes Claros. *E-mail: josewilker.gomes.lima@gmail.com

5Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Minas

Gerais, Campus Montes Claros

A mastite bovina é uma inflamação da glândula mamária e sua disseminação depende da interação entre o homem, o animal, os ambientes e os agentes patogênicos que desencadeiam o processo inflamatório. A doença causa grandes perdas econômicas nos setores da indústria de laticínios. Um dos microrganismos identificados em maior frequência no leite é o *S. aureus*, patógeno causador de mastite crônica e produtor de toxinas estáveis ao calor. O tratamento para as infecções intramamárias é efetuado com a utilização de antimicrobianos, mas, na maioria das vezes, esses produtos são empregados de forma errônea e abusiva, o que contribui para o aumento da resistência de microrganismos patogênicos e cria dificuldades para o tratamento das infecções. O presente trabalho foi delineado para avaliar a multirresistência antimicrobiana de estirpes de *S. aureus* isoladas de glândulas mamárias bovinas com mastite subclínica em rebanhos mestiços leiteiros de dez propriedades localizadas nas regiões do norte do Estado de Minas Gerais, Brasil, totalizando 500 tetos. As amostras foram analisadas por isolamento e identificação microbiana efetuados com a metodologia convencional. O perfil fenotípico de sensibilidade a antimicrobianos das estirpes isoladas foi determinado pela técnica de difusão em disco. O índice de multirresistência das estirpes isoladas foi determinado com o índice MAR. Em 15% (75/500) das amostras examinadas foi identificado o *S. aureus*, sendo que em duas das propriedades o microrganismo foi identificado em 100% das amostras examinadas. Os resultados do antibiograma revelaram que as estirpes de *S. aureus* isoladas foram resistentes à gentamicina (2,15%), amicacina (2,2%), amoxicilina (62%), cefoxitina (6%), oxacilina (5%), ciprofloxacino (1%), ampicilina 69% e cefalexina (92%). As estirpes isoladas apresentaram maior resistência para as bases penicilina, amoxicilina e ampicilina, e 5% das estirpes isoladas foram classificadas como *S. aureus* metilicina resistente (MRSA). O índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) variou de 0 a 0,6, com média de 0,23 para as propriedades analisadas. Em 100% das propriedades foram isoladas estirpes MAR. A conclusão obtida foi que, nos rebanhos mestiços