

NOVA PROVA, O HOTIS-ANTIBIOGRAMA, PARA ORIENTAÇÃO DE TRATAMENTO DA MASTITE BOVINA.

R. CURY *
E. O. da COSTA**
A. M. SCHMIDT***
D. A. PEREIRA***
J. A. ORRICO***
E.G. SERRA***
M. HIPÓLITO***
M. GENOVEZ***
L. F. DUTRA****
M. M. de MACEDO*****

RFMV-A/ RFMV-A/33

CURY, R.; COSTA, E.O.; SCHMIDT, A.M.; PEREIRA, D.A.; ORRICO, J.A.; SERRA, E.G.; HIPÓLITO, M.; GENOVEZ, M.E.; DUTRA, L.F.; MACEDO, M.M. de. *Nova prova, o Hotis-antibiograma, para orientação de tratamento de mastite bovina.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 14

RESUMO: *A nova prova Hotis-antibiograma permite obter a custo reduzido e em prazo de 48 horas melhor orientação no tratamento da mastite bovina. Amostras de leite de 282 tetos infectados foram submetidas à prova de Hotis. Lendo e interpretando os resultados desta prova, foram elas divididas em 11 grupos. Um antibiograma realizado para cada mistura de alíquotas das amostras que resultou num grupo, permitiu obter boa orientação para tratamento do rebanho. Foram, portanto, apenas 11 os antibiogramas feitos para 282 amostras de leite infectado.*

UNITERMOS: *Hotis-antibiograma*; Mastite, bovinos, tratamento*; Nova prova.*

INTRODUÇÃO E LITERATURA

THOMAS⁹ aconselha, dado o alto custo dos tratamentos contra a mastite infecciosa, sua orientação mais precisa com o uso de antibiogramas.

Se por um lado, isso é justificável, de acordo com o motivo exposto pelo autor, por outro lado, torna-se um processo oneroso e trabalhoso quando feito para cada teto infectado de um grande rebanho leiteiro.

Procurando conciliar os dois aspectos do problema, uma vez que é válida a opinião de Thomas, idealizamos o chamado Hotis-antibiograma para orientação mais acertada de tratamento da mastite bovina.

OBJETIVOS

Permitir a realização, a custo reduzido, de antibiogramas para orientação de trata-

* Professor Livre-Docente.

** Professor Assistente Doutor.

*** Alunos do 8º semestre.

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

**** Aluno do 8º semestre.

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP.

***** Graduada, bacharel em Ciências Biológicas do Instituto de Biociências da USP.

mento da mastite bovina infecciosa de um grande rebanho onde se encontram numerosas vacas infectadas.

MATERIAL E MÉTODO

Amostras de leite: foram colhidas 282 amostras de leite, que revelaram resultados positivos para mastite, procedentes de vacas de um grande rebanho leiteiro de raça holandesa, nos arredores de Campinas, no Estado de São Paulo.

Reativo para o CMT: obtido de acordo com SCHALM e NOORLANDER⁷.

Reativo de Whiteside: preparado conforme indicação do autor¹⁰.

Reativo de Hotis: preparado de acordo com HOTIS & MILLER³ e MILLER⁵.

Antibiogramas: Realizados pelo método convencional com discos impregnados de antibióticos².

Técnica de execução:

- 1) coletou-se amostras de leite, nas melhores condições possíveis de assepsia, em frasco estéril com tampa rosqueada, dos tetos que revelaram resultado positivo no CMT⁷;
- 2) confirmou-se os resultados do CMT utilizando-se a prova de Whiteside em placa quadriculada⁶;
- 3) prova de Hotis, feita com os cuidados de assepsia bacteriológica, das amostras de leite coletadas em separado, de acordo com a técnica de HOTIS e MILLER³;
Esta prova foi executada em tubos de vidro de 15 x 160 mm, fundo chato, estéreis, fechados com rolha de borracha estéreis e marcados para 9,5 ml;
- 4) leitura e interpretação dos resultados foi realizada após 24 horas de incubação em banho maria a 37°C⁸;
- 5) as amostras de leite iniciais foram divididas em grupos, de acordo com os resultados da prova de Hotis;
- 6) uma alíquota das amostras de leite de cada grupo, foi misturada em tubo ou em balão estéril, tendo-se tantos recipientes de mistura quantos foram os grupos de resultados;
- 7) incubou-se essas misturas de amostras durante 24 horas em estufa a 37°C;

8) foi feito um antibiograma² para cada mistura de amostras de leite;

9) os resultados foram lidos e com eles foi orientado o tratamento dos casos de mastite.

RESULTADOS

As 282 amostras de leite, positivas no CMT posteriormente confirmado pela prova de Whiteside foram submetidas à prova de Hotis.

A leitura e interpretação desta prova mostrou o seguinte resultado:

<i>Streptococcus</i> sp . . .	189
<i>Staphylococcus</i> sp . .	22
<i>Coliformes</i>	9
<i>Corynebacterium</i> sp .	4
Suspeitos	27
Contaminados	10
Negativos	21
	282 amostras

Denominaram-se suspeitas nessa prova, as amostras de leite, positivas no CMT e na prova de Whiteside, cujo resultado na prova de Hotis não ficou bem claro, podendo tratar-se de *Streptococcus* não *agalactiae* ou de *Staphylococcus* não hemolíticos.

Contaminadas são amostras que revelaram este resultado na prova de Hotis embora estivessem coletadas com os cuidados possíveis de assepsia.

Considerando os resultados da prova de Hotis, os frascos com os restantes das amostras de leite, conservados em geladeira, foram divididos em grupos.

Quanto ao grupo dos estreptococos, sendo ele muito numeroso (189 amostras) julgou-se mais razoável subdividi-lo ao acaso em seis sub-grupos, constituído cada um de 31 ou 32 amostras.

Dentro de cada grupo, ou subgrupo misturou-se uma alíquota das amostras de leite.

Os grupos resultantes das misturas de alíquotas de leite segundo a etiologia, ficaram assim constituídos:

1. *Staphylococcus* sp.
2. *Coliformes* sp.
3. *Corynebacterium* sp.
4. Suspeitos

5. Contaminados
6. *Streptococcus* subgrupo A
7. *Streptococcus* subgrupo B
8. *Streptococcus* subgrupo C
9. *Streptococcus* subgrupo D
10. *Streptococcus* subgrupo E
11. *Streptococcus* subgrupo F

Essas 11 misturas foram incubadas em estufa durante 24 horas a 37°C.

Fez-se então um antibiograma para cada mistura do grupo com 16 antibióticos e 5 quimioterápicos.

As amostras contaminadas constituíram um grupo utilizado como controle, a fim de verificar se oferecem resistência aos antibióticos ensaiados.

Os resultados foram, por ordem decrescente de sensibilidade.

Staphylococcus: nitrofurantoina, cloranfenicol, tetraciclina, novobiocina.

Coliformes: nitrofurantoina, gentamicina, kanamicina, ácido nalidixico.

Corynebacterium: gentamicina, estreptomina, kanamicina, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina.

Suspeitos: gentamicina, estreptomina, kanamicina, nitrofurantoina, cloranfenicol.

Contaminada: cloranfenicol, gentamicina, kanamicina, nitrofurantoina.

Streptococcus (subgrupo A): nitrofurantoina, ácido nalidixico, polimixina B e cloranfenicol.

Streptococcus (subgrupo B): nitrofurantoina, gentamicina, cloranfenicol e sulfadiazina.

Streptococcus (subgrupo C): cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, nitrofurantoina, ácido nalidixico e sulfadiazina.

Streptococcus (subgrupo D): cloranfenicol, gentamicina, kanamicina, polimixina B, ácido nalidixico e nitrofurantoina.

Streptococcus (subgrupo E): nitrofurantoina, novobiocina e polimixina B.

Streptococcus (subgrupo F): cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, kanamicina, ácido nalidixico e nitrofurantoina.

As misturas que constituíram os subgrupos D e E tinham contaminação por leveduras sp.

Tendo em vista esses resultados, os tratamentos, com orientação mais precisa, seriam feitos para os tetos das vacas, cujas

amostras de leite figuraram nos grupos, com alguns dos antibióticos indicados, para os quais o antibiograma mostrou um halo de inibição excelente.

No caso dos *Streptococcus*, verifica-se que a nitrofurantoina mostrou sensibilidade em todos os subgrupos formados. Poder-se-ia indicá-lo no tratamento dos tetos cujas amostras de leite formaram todo o grupo, ou então, melhor ainda, indicar para cada subgrupo de vacas infectadas algum dos antibióticos para os quais a prova mostrou excelente sensibilidade.

Serviram de controle, amostras isoladas e identificadas, dentre aquelas que constituíram as misturas para os vários grupos dos quais se fizeram antibiogramas.

Assim, do grupo dos estafilococos, isolou-se um *Staphylococcus aureus*, dos coliformes isolou-se uma *Escherichia coli*, dos contaminados, um *Streptococcus* sp., e dos estreptococos, um *Streptococcus agalactiae*.

Foram feitas antibiogramas em separado para cada uma das amostras isoladas.

Os resultados dos antibiogramas, considerados os antibióticos para os quais foram muito sensíveis, são os seguintes:

Staphylococcus aureus: cloranfenicol, penicilina G, ampicilina, cloxacilina, tetraciclina, cefaloridina, gentamicina, estreptomina, kanamicina, eritromicina, lincomicina, polimixina B, vancomicina, nitrofurantoina, novobiocina, ácido fusídico.

Escherichia coli: nitrofurantoina, gentamicina, kanamicina, ácido nalidixico.

Streptobacillus sp.: cloranfenicol, gentamicina, estreptomina, kanamicina, eritromicina, vancomicina, novobiocina, ácido fusídico, tetraciclina e nitrofurantoina.

Streptococcus agalactiae: penicilina G, ampicilina, gentamicina, kanamicina, eritromicina, novobiocina, tetraciclina e nitrofurantoina, cloranfenicol.

DISCUSSÃO

A nova prova, denominada Hotis-antibiograma conforme os resultados deste trabalho revelou tratar-se, na realidade, de uma associação da prova clássica descrita por HOTIS e MILLER³ e MILLER⁵ com o anti-

biograma, que, dentro dos nossos atuais conhecimentos, já se tornou prova de rotina na orientação do tratamento de infecções.

Executada e interpretada de acordo com o descrito mostrou-se exequível, permitindo a custo reduzido e num prazo de tempo relativamente curto (48 horas) uma orientação mais precisa de tratamento dos casos de mastite bovina num rebanho, qualquer que seja o número de animais.

A prova de Hotis é um interessante método utilizado no diagnóstico da mastite bovina. Seu uso foi idealizado por Hotis e Miller em 1936³, baseados nas pesquisas iniciais de BAKER e VAN SLYKE em 1919¹.

Pode-se, de acordo com essa prova dividir as amostras de leite examinadas em vários grupos.

É claro que, tratando-se de prova cultural, quanto maior for a assepsia na coleta das amostras de leite no estábulo mais nítida torna-se a interpretação de seus resultados.

Melhor se torna também a divisão em grupos, ao se evitar o mais possível a interferência de contaminantes.

Convém frizar que, mesmo se evitando qualquer contaminação, não é possível controlar a interferência dos chamados germes da flora normal do leite.

Todavia, verifica-se neste trabalho em amostras, coletadas nas condições habituais de boa assepsia, que esses fatos não impedi-

ram que se obtivesse bons resultados para uso prático.

Evidentemente, antibiogramas com amostras de germes isolados, conforme se pode ver nas amostras controles, permitem de modo geral obter sensibilidade a um número maior de antibióticos que aqueles feitos com misturas, mormente de amostras de leite "in natura" incubadas a 37°C durante 24 horas.

Convém frizar, como no presente caso, que seria impraticável, dado o alto custo, a realização de 282 antibiogramas, um pelo menos para germes isolados de cada amostra.

Na prova Hotis-antibiograma conseguiu-se reduzir a 11 antibiogramas o necessário para melhor orientação do tratamento do rebanho examinado.

Isso representa evidentemente redução de cerca de 95% no custo operacional, com resultados muito satisfatórios.

CONCLUSÕES

A nova prova Hotis-antibiograma permite obter a custo reduzido e em prazo relativamente curto melhor orientação no tratamento de mastite bovina, num grande rebanho, onde se encontram numerosas vacas infectadas.

RFMV-A/33

CURY, R.; COSTA, E.O.; SCHMIDT, A.M.; PEREIRA, D.A.; ORRICO, J.A.; SERRA, E.G.; HIPOLITO, M.; GENOVEZ, M.; DUTRA, L.F.; MACEDO, M.M. *A new test, "the Hotis-antibiogram", useful for the establishment of bovine mastitis treatment.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 14(2): 309-313, 1977.

SUMMARY: *A new test-the Hotis-antibiogram permitted in a short time, just two days a good and cheap indication for the choice of a more suitable treatment for bovine mastitis.*

Milk samples from 282 infected were submitted to the Hotis test and the results allowed their distribution into 11 groups. A pool represented by an aliquot from each sample of a group was then submitted to the antibiogram. Thus this new test wealed itself as an useful and rapid test once just 11 antibiograms has be performed.

UNITERDS: *Hotis-antibiogram*; Bovine mastitis, treatment*.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BAKER, L.L. & VAN SLYKE, apud SHALM, O.W. & NOORANDER, D.O.⁷.
- 2 - CURY, R. Sensibilidade da *Salmonella abortivoequina* a quimioterápicos e antibióticos. *Rev. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo.* 11: 111-114, 1974.
- 3 - HOVIS, R.P. & MILLER, W.T. A simple test for detecting streptococci in milk. *U. S. Dept. Agr. Circ.*, 400: 1936.
- 4 - LITTLE, R.L. & PLASTRIDGE, W.P. *Bovine mastitis: A simposium.* New York, Mc Graw Hill Book, 1946.
- 5 - MILLER, W.T. 1943 apud SHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O.⁷.
- 6 - MURPHY, J.M. & HANSEN, J.J. A modified Whiteside test for the detection of chronic bovine mastitis. *Cornell Vet.*, 31: 47-55, 1941.
- 7 - SHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading development of the California mastitis test. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 130: 199-204, 1957.
- 8 - SIEGMUND, O.H. et alii Mamitis. In: *Manual Merck Veterinaria*, 1970.
- 9 - THOMAS' S.H. Treatment of clinical mastitis. *Vet. Rec.*, 97(4): 78, 1975.
- 10 - WHITESIDE, W.H. Observations on a new test for the presence of mastitis milk. *Canad. J. publ. Health.*, 30: 44-51, 1939.

Recebido para publicação em 2-8-77
Aprovado para publicação em 30-8-77