

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**MASTITE BOVINA NA ILHA DE SÃO LUÍS, MA:  
FREQUÊNCIA, ETIOLOGIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS  
AOS ANTIMICROBIANOS**

Daniela Aguiar Penha

São Luís - MA  
2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DANIELA AGUIAR PENHA

**MASTITE BOVINA NA ILHA DE SÃO LUÍS, MA:  
FREQUÊNCIA, ETIOLOGIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS  
AOS ANTIMICROBIANOS**

Dissertação apresentada como requisito  
parcial à obtenção do título de Mestre em  
Ciências Veterinárias

**Área:** Sanidade Animal

**Orientadora:** Prof. Dra. Francisca Neide  
Costa

São Luís - MA

2009

Penha,Daniela Aguiar

Mastite bovina na Ilha de São Luis, MA: freqüência, etiologia e perfil de sensibilidade de bactérias aos antimicrobianos / Daniela Aguiar Penha. – São Luis, 2009.

78f.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão, 2008.

Orientador: Profa. Francisca Neide Costa

1.Mastite                    2.Bovinos                    3.Microrganismos  
4.Antimicrobianos    I. Título

CDU: 619:618. 19 (812.1)

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 28 de abril de 2009 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

PhD. Valério Monteiro Neto – UNICEUMA/UFMA

---

Dr. Rudson Almeida de Oliveira - UEMA

---

Dr. Francisca Neide Costa - UEMA  
(Orientadora)

*Ao meu esposo e a minha família*

## **AGRADECIMENTOS**

Àquele que tem sido o meu amigo fiel, meu refúgio e razão do meu viver, Jesus Cristo. Agradeço a Ti por mais uma etapa conquistada sob Teus cuidados. Teu amor e Tua força são as fontes das minhas conquistas.

Ao meu maravilhoso esposo, Danilo Rodrigues Barros Brito, por estar presente nos momentos que mais precisei de apoio. Obrigada por sua companhia e ajuda durante a pesquisa.

À minha família, em especial a minha irmã Diana Aguiar Penha, pelo carinho e incentivo em todas as etapas importantes da minha vida.

À minha orientadora e amiga, Prof. Dra. Francisca Neide Costa, que me deu a grande oportunidade de conhecer a pesquisa científica, orientando-me de forma ética e confiante, durante a graduação e pós-graduação. Aprendi muito com você.

À Universidade Estadual do Maranhão, por ter proporcionado toda a estrutura para a realização da pesquisa, assim como para a aprendizagem durante a pós-graduação.

Aos órgãos de fomento, Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), pela bolsa concedida durante um ano e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento do projeto de pesquisa, que foram fundamentais para realização do experimento.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota e a MSc. Elisabeth Sampaio de Medeiros, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela gentileza de me acolherem no laboratório de bacterioses da UFRPE e se disponibilizarem no meu treinamento nas análises microbiológicas.

Aos alunos de graduação Iara dos Santos da Silva Oliveira, Fernando Almeida de Souza e Ilderlane da Silva Lopes, que não mediram esforços em

me ajudar na realização da pesquisa, cada um, em momentos diferentes, mas com igual importância.

As técnicas Viramy Marques de Almeida e Januária Ruthe Cordeiro Ferreira, amigas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, que tiveram ao meu lado durante todo o experimento, sendo companheiras e parceiras na pesquisa.

A Profa. Lúcia Maria Coêlho Alves, por sua generosidade inigualável, sempre prestativa. É o exemplo de educadora e pesquisadora que sempre vou me espelhar.

Aos alunos do Mestrado em Ciências Veterinárias, em especial a Nancyleni Pinto Chaves, Joice Bitencourt Athayde Lima e Selma C. Abib de Camargo, pela convivência harmoniosa e proveitosa durante as disciplinas.

À todos do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, principalmente, a Prof. Dra. Ana Lúcia Abreu Silva e Caroline Romão, pela paciência em orientar-me nas diversas tarefas exigidas no programa.



PENHA. D.A.B; COSTA, F.N. **Mastite bovina na Ilha de São Luís, MA: frequência, etiologia e perfil de sensibilidade de bactérias aos antimicrobianos** [Bovine mastitis in Island of São Luís, MA: frequency, etiology and sensitivity of bacteria to antimicrobial]. 2008. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

## RESUMO

A mastite bovina causa grandes perdas econômicas para o rebanho leiteiro, interferindo na produtividade e na qualidade do leite. Objetivou-se nessa pesquisa determinar a frequência, a etiologia e o perfil de sensibilidade antimicrobiana das cepas bacterianas isoladas de vacas leiteiras. Foram avaliadas 217 vacas de 14 propriedades situadas nos municípios de São Luís, Paço do Lumiar, São José de Ribamar e Raposa, no estado do Maranhão, utilizando-se os testes da caneca de fundo escuro e *California Mastitis Test* (CMT). Dos 857 quartos mamários avaliados, 27 (3,12%) apresentaram mastite clínica e 215 (25,08%) apresentaram mastite subclínica. Das amostras reagentes ao CMT, 69 apresentaram escore 1 +, 103 escores 2 + e 43 escore 3 +. Foram colhidas 242 amostras de leite positivas para mastite clínica e subclínica e realizadas análises microbiológicas para o isolamento e identificação dos microrganismos. O perfil de sensibilidade antimicrobiana das cepas isoladas de leite foi avaliado pelo método de difusão em discos, frente a 14 antimicrobianos, utilizando-se a técnica de difusão em discos. Das amostras positivas, isolou-se *Staphylococcus* coagulase positivo (14,23%), *Staphylococcus* coagulase negativo (26,42%) e *S. aureus* (14,23%), *Streptococcus spp.* (20,33%), *Corynebacterium spp.* (4,13%), Leveduras (2,44%) e Bacilo Gram negativo (1,24%). Em 15,70% das amostras, não houve crescimento microbiano. Os antimicrobianos que apresentaram maior eficácia contra *S. coagulase* negativo, *S. coagulase* positivo e *S. aureus* foram a vancomicina, sulfa+trimetopim, bacitracina e gentamicina, respectivamente. A bacitracina, vancomicina e amoxicilina foram os antimicrobianos mais eficazes contra as cepas de *Streptococcus spp.* O *Staphylococcus* coagulase negativo foi o agente etiológico isolado com maior frequência e apresentou maior perfil de multirresistência, nos quais 32,65% foram resistentes a mais de 8 antimicrobianos, simultaneamente. Os resultados indicam a necessidade de adoção de medidas de prevenção e controle da mastite e do tratamento ser baseado no perfil de sensibilidade antimicrobiana dos microrganismos causadores da doença.

**Palavras-chave:** mastite, bovinos, microrganismos, antimicrobianos

PENHA. D.A.B. **Bovine mastitis in Island of São Luís, MA: frequency, etiology and sensitivity of bacteria to antimicrobial** [Mastite bovina na Ilha de São Luís, MA: frequência, etiologia e perfil de sensibilidade de bactérias aos antimicrobianos] 2008. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

## **ABSTRACT**

The bovine mastitis causes great economic losses to the dairy herd, interfering with the productivity and quality of milk. The objective of this research was to determine the frequency, etiology and antimicrobial susceptibility profile of bacterial strains isolated from dairy cows. 217 dairy cows were evaluated of 14 properties located in São Luís, Paço do Lumiar, São José de Ribamar and Raposa, state of Maranhão, using Tamis and California Mastitis Test (CMT). Of 857 rooms mammary evaluated, 27 (3.12%) had clinical mastitis and 215 (25.08%) subclinical mastitis. In samples of reagents to CMT, 69 showed score 1 +, 103 scores 2 + and 43 score 3 +. 242 milk samples positive for clinical and subclinical mastitis were collected and microbiological analysis for the isolation and identification of microorganisms. The profile of antimicrobial susceptibility of strains was estimated by the method of distribution in disks, using the 14 antibiotics agents, using the technique of diffusion discs following. Coagulase positive *Staphylococcus* (14.46%), coagulase negative *Staphylococcus* (26.86%) and *S. aureus* (14.46%), *Streptococcus* spp. (20.66%), *Corynebacterium* spp. (4.13%), yeasts (2.48%) and Gram negative bacilli (1.24%) were isolated of samples. There was not microbial growth in 15.70% of the samples. The antibiotics that showed greater efficacy to coagulase negative *Staphylococcus*, coagulase-positive *Staphylococcus* and *S. aureus* were vancomycin (96.0%, 95.9% and 96%), sulfa + trimetropim (92.0%, 77.5% and 96%), bacitracin (89.8%, 94.0% and 92.9%) and gentamicin (72.0%, 71.4% and 92.6%), respectively. The bacitracin (93.4%), vancomycin and amoxicillin (92.6%) were the most effective antimicrobial agents against strains of *Streptococcus* spp. The coagulase-negative *Staphylococcus* was the etiologic agent most frequently isolated and showed higher profile of multiresistance in which 32.65% were resistant to more than 8 antimicrobials, simultaneously. The results indicate the need for adoption of measures for prevention and control of mastitis and treatment based on the profile of antimicrobial sensitivity of microorganisms causing disease.

**Key words:** mastitis, bovine, microorganisms, antimicrobial

## SUMÁRIO

1.	CAPÍTULO I.....	12
	Introdução.....	12
2.	CAPÍTULO II.....	19
	Resumo.....	20
	Abstract.....	21
	Introdução.....	21
	Material e Métodos.....	23
	Resultados e Discussão.....	24
	Conclusão.....	31
	Referências.....	32
3.	CAPÍTULO III.....	38
	Resumo.....	39
	Abstract.....	40
	Introdução.....	41
	Material e Métodos.....	42
	Resultados e Discussão.....	44
	Conclusão.....	51
	Referências.....	51
4.	CONCLUSÕES GERAIS.....	61
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62
	APÊNDICES.....	71

## LISTA DE TABELAS

	p.
1. CAPÍTULO 1 – Tabela 1: Frequência da mastite clínica e subclínica em rebanhos leiteiros da Ilha de São Luís, MA, 2008.....	25
2. CAPÍTULO 1 – Tabela 2: Resultados das amostras de leite reagentes aos testes do <i>California Mastitis Test</i> (CMT) e da caneca de fundo escuro e do exame microbiológico, São Luís-MA, 2008.....	28
3. CAPÍTULO 1 – Tabela 3: Frequência dos agentes etiológicos isolados da mastite clínica e subclínica em rebanhos leiteiros, na Ilha de São Luís, 2008.....	29
4. CAPÍTULO 2 - Tabela 1: Frequência relativa (%) da sensibilidade (S), sensibilidade intermediária (I) e resistência (R) “in vitro” de 35 cepas de <i>Staphylococcus coagulase positivo</i> , 65 de <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> e 35 de <i>S. aureus</i> isoladas de vacas, frente a antimicrobianos, São Luís-MA, 2008.....	57
5. CAPÍTULO 2 - Tabela 2: Frequência relativa (%) da sensibilidade (S), sensibilidade intermediária (I) e resistência (R) “in vitro” de 50 cepas de <i>Streptococcus spp.</i> isoladas de vacas com mastite, frente a antimicrobianos, São Luís - MA, 2008.....	58

## LISTA DE FIGURAS

	p.
1. CAPÍTULO 1 – Figura 1: Medidas de prevenção e controle da mastite bovina adotadas, durante a ordenha, em 14 propriedades leiteiras da Ilha de São Luís, MA, 2008.....	27
2. CAPÍTULO 2 – Figura 2: Perfil de multirresistência antimicrobiana de 35 cepas de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (SCP), 65 de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativo (SCN), 35 de <i>S. aureus</i> e 50 de <i>Streptococcus spp.</i> isoladas de vacas com mastite, São Luís, MA, 2008.....	59

## **1. CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO**

O leite é considerado o mais nobre dos alimentos, pois fornece todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento do organismo (DIAS, 2007). A qualidade deste alimento está diretamente relacionada com a qualidade higiênica da ordenha, e esta se inicia com a sanidade do rebanho, visto que muitas enfermidades do gado leiteiro afetam a composição e a qualidade microbiológica do leite (SOMMERHÄUSER et al., 2003; DINGWELL et al., 2004).

A mastite bovina é a principal doença que influencia nos padrões de qualidade do leite e seus derivados (MÜLLER, 2002). Segundo Brabes (1999), ela é a reação inflamatória da glândula mamária, que pode ser provocada por fatores fisiológicos, traumáticos, alérgicos, metabólicos, psicológicos, mas principalmente por agentes infecciosos. Os microrganismos causadores da infecção invadem o canal do teto e multiplicam-se no interior da glândula mamária, provocando lesões ao tecido glandular. Estas lesões resultam na redução da produção leiteira, alterações nas características físico-químicas do leite e contaminação do alimento com microrganismos causadores de intoxicações alimentares. (WATTIAUX, 1999; DELLA LIBERA et al., 2001).

Na mastite, a extensão da reação inflamatória varia de acordo com a natureza do estímulo e a capacidade de resposta imunológica do animal (MEDEIROS, 2008). Respostas inflamatórias que resultam em mudanças evidentes no tecido mamário (edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor) e/ou mudança no aspecto da secreção láctea (grumos, pus ou coágulos) denominam-se mastite clínica (BRADLEY, 2002). Por outro lado, as respostas inflamatórias com ausência de alterações visíveis no leite ou no úbere, porém, com aumento do número de células somáticas no leite e com redução da produção leiteira, denominam-se mastite subclínica (DIAS, 2007).

As pesquisas realizadas, em várias regiões do Brasil, mostram que a frequência da mastite subclínica é mais elevada que a mastite clínica, observando valores de 16,50% a 41,10% na frequência da forma sem sinais clínicos, em rebanhos leiteiros (SAMARA et al., 1996; ALMEIDA e SILVA, 1998; BRITO et al., 1999; RIBEIRO et al., 2003; FERREIRA et al., 2007).

Segundo Santos e Fonseca (2007), para cada caso clínico da mastite, há dez casos subclínicos no rebanho. Este fato representa um importante aspecto epidemiológico, pois a mastite subclínica contribui para a manutenção de fontes de infecção, disseminando os agentes infecciosos pelo rebanho e provocando inúmeras perdas econômicas, de forma quase imperceptível ao produtor (COSTA et al., 2001).

O desencadeamento da mastite está relacionado à complexa tríade: animal, agente etiológico e meio ambiente, fazendo desta uma enfermidade multifatorial (MEDEIROS, 2008). Os principais fatores relacionados ao animal são o número de parições, o estágio de lactação, a alta produção e conformação do úbere e tetos (COENTRÃO et al., 2008). As instalações, o clima e os procedimentos durante a ordenha, tais como a desinfecção dos tetos, funcionamento e higiene dos equipamentos de ordenha, hábitos higiênicos dos ordenhadores são importantes fatores relacionados ao meio ambiente (SOUZA et al., 2005). Quanto aos fatores relacionados ao agente etiológico, destacam-se a espécie, a quantidade, a patogenicidade e a infectividade do microrganismo. Estes últimos fatores determinam consideravelmente, as características epidemiológicas da mastite bovina (PRESTES et al., 2003).

De acordo com o tipo de microrganismo causador, a mastite pode ser do tipo ambiental ou contagiosa. A primeira é causada por patógenos cujo reservatório é o ambiente em que a vaca vive, principalmente onde há acúmulo de fezes, urina, barro e camas orgânicas. Caracteriza-se por alta frequência de casos clínicos, geralmente de curta duração, com manifestação aguda. A maioria das novas infecções ocorre no período entre ordenhas (COSTA et al., 1998; BEAUDEAU et al., 2002).

Os *Streptococcus* spp. são considerados o grupo de microrganismos de maior importância na etiologia das mastites ambientais em ruminantes (SANTOS et al., 2007). São bactérias em forma de cocos, com arranjo em cadeia, gram-positivas, catalase negativa, que possuem mais de 50 espécies (INNINGS et al., 2005). Autores descrevem os *Streptococcus* spp. como os principais agentes relacionados com casos clínicos da mastite, de difícil

tratamento, devido a elevada resistência ao tratamento antimicrobiano (COSTA et al., 1995; COSTA et al., 1998; RIBEIRO et al., 2001).

Outros agentes importantes das mastites ambientais são as bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes e as leveduras. Os coliformes são bactérias em forma de bastonetes Gram negativos que habitam o solo e o trato intestinal de animais, apresentando grande capacidade de multiplicação nesses locais. Por produzirem endotoxinas potentes, essas bactérias possuem importância clínica, pois podem provocar episódios de severa manifestação clínica, com sinais sistêmicos, que levam o animal ao choque e morte (OLIVEIRA *et al.*, 2000). Em relação as leveduras e fungos filamentosos, estes têm sido considerados patógenos ambientais emergentes, em função do uso abusivo dos antibióticos no tratamento de mastites bacterianas (COSTA et al., 2008). As leveduras causam infecções intramamárias crônicas que, muitas vezes, implica na esterilização dos quartos infectados ou no descarte dos animais acometidos (ELAD et al., 1995).

A inflamação da glândula mamária causada por microrganismos que habitam, principalmente, o interior da glândula mamária e a superfície da pele dos tetos, denomina-se mastite contagiosa. A ordenha constitui o principal momento de transmissão dos agentes contagiosos, a partir da contaminação dos tetos por meio de teteiras, mãos do ordenhador e panos utilizados na limpeza e secagem do úbere (SVILAND e WAAGE, 2002). É caracterizada por baixa frequência de casos clínicos e alta frequência de casos subclínicos, geralmente de longa duração (SANTOS e FONSECA, 2007). Vários estudos epidemiológicos sobre a etiologia da mastite bovina revelam que os microrganismos de origem contagiosa são os mais frequentes e os principais agentes são *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus agalactiae* e *Corynebacterium spp.* (BARBALHO e MOTA, 2001; VOLTOLINI et al., 2001; ZSCHOCK et al., 2004; ZAFALON et al., 2005).

O gênero *Staphylococcus* é apontado como a principal etiologia das mastites clínicas e subclínicas em várias regiões do Brasil (NADER et al., 1985; LANGONI et al., 1991; LONGO et al., 1994; COSTA et al., 1995; LANFFRANCHI et al., 2001; ALMEIDA et al., 2005; FREITAS et al., 2005;



FERREIRA et al., 2007). São bactérias cocóides, Gram positivas e mesófilas, produtoras de enzimas coagulase, hemolisinas e DNase, além de várias toxinas (CARTER, 1988). A espécie *Staphylococcus aureus* destaca-se como o microrganismo de maior ocorrência em casos subclínicos, podendo estar presente em cerca de 50% das infecções subclínicas da glândula mamária dos bovinos leiteiros (FREITAS e MAGALHÃES, 1990; LANGONI et al., 1991; SÁ et al., 2000; BARBALHO e MOTA, 2001; BUENO et al., 2003; ALMEIDA et al., 2005). Paralelamente, o *S. aureus* é considerado um microrganismo de grande relevância na Saúde Pública devido à produção de toxinas causadoras de intoxicações alimentares e diversas formas de alergia e doenças auto-imunes (JAY, 1994; BALABAN e RASOOLY, 2000; DINGES et al., 2000; ZECCONI e HAHN, 2000; SÁ et al., 2004).

Outras espécies de *Staphylococcus* que têm recebido destaque são as pertencentes ao grupo coagulase negativo. Apesar de serem considerados patógenos secundários da mastite, alguns trabalhos têm apontado os *Staphylococcus* coagulase negativo como os patógenos mais frequentemente isolados nas mastites clínicas e subclínicas em rebanhos leiteiros, destacando a resistência das cepas bacterianas a vários antibióticos e a capacidade de formação de biofilmes (ARCHER E CLIMO, 1994; GENTILINI et al., 2002; MACHADO et al., 2008; MEDEIROS, 2008).

Outro gênero bacteriano da mastite contagiosa é o *Corynebacterium spp.* Ele é considerado um agente de baixa patogenicidade (secundário), porém é o mais contagioso dos microrganismos isolados dos casos de mastite bovina (VICTÓRIA et al., 2005). São bactérias aeróbias, gram-positivas e imóveis, que se apresentam em grupamentos celulares paralelos (“paliçadas”) ou criss-crossing (“letras chinesas”) com formas cocóide, bastonete, em clava e filamentosa (HIRSH e ZEE, 2003). A espécie de maior importância na mastite é *C. bovis*, isolada, quase exclusivamente, do canal do teto da glândula mamária, e está associada com elevação da contagem de células somáticas (CCS) no leite (QUINN et al., 1994; ZAFALON et al., 2005).

Uma medida primária no programa de controle da mastite é a identificação dos animais com a enfermidade. O diagnóstico da mastite clínica

é realizado pela inspeção e palpação do úbere, verificando as alterações inflamatórias, e com auxílio da caneca de fundo escuro ou telada, visualiza-se alterações macroscópicas do leite como coágulos, grumos ou pus, nos primeiros jatos de leite da ordenha (ROSENBERG 1989; RIBEIRO et al., 2003).

O diagnóstico da mastite subclínica é baseado em alterações celulares no leite. Um método prático, muito utilizado a campo, que estima a CCS no leite é o *California Mastitis Test* (CMT) (THIERS et al., 1999). Este método baseia-se na reação de um detergente aniônico (alquil-lauril sulfonato de sódio) capaz de emulsionar os lipídeos das membranas dos leucócitos presentes no leite, liberando o material nuclear (DNA), altamente viscoso. De acordo com a intensidade da reação classifica-se em negativa (0 a 200.000 células/mL), traços ou suspeitos (150.000 a 400.000 células/mL), leve ou 1+ (300.000 a 1.000.000 células/mL) moderada ou 2+ (700.000 a 2.000.000 células/mL) e intensa ou 3+ (maior que 2.000.000) (SCHALM et al, 1971). Voltolini et al. (2001) ressaltam que o início e o final da lactação são as fases mais estressantes para a vaca, razão pela qual apresentará, naturalmente, uma elevada contagem de células somáticas, portanto, apresentando CMT falso-positivo.

Além do diagnóstico dos animais doentes, o tratamento antimicrobiano dos casos clínicos de mastite durante a lactação e subclínicos durante o período seco exerce um papel fundamental no controle da doença, pois reduz as infecções intramamárias e prováveis fontes de infecção (ERSKINE et al., 1993). O sucesso da antibioticoterapia depende principalmente da seleção do antimicrobiano apropriado e do uso correto e racional do medicamento. De acordo com Andrei (1999), os antimicrobianos mais utilizados no tratamento da mastite são amoxicilina, ampicilina, penicilina, enrofloxacina, estreptomicina, gentamicina, oxitetraciclina, sulfa+trimetropim e tetraciclina.

Apesar do mercado disponibilizar várias opções de medicamentos antimicrobianos para o tratamento da mastite, o ideal é que a escolha seja baseada no isolamento, cultivo e perfil de sensibilidade antimicrobiano do agente etiológico da mastite (SPNOSA, 2006). Tal fato é justificado pela constatação do surgimento de microrganismos isolados de casos de mastite

bovina resistentes a vários antibióticos e quimioterápicos (TEALE e DAVID, 1999).

Diversos estudos sobre a susceptibilidade antimicrobiana de patógenos da mastite apontam para um aumento crescente no padrão de resistência, especialmente dos *Staphylococcus* spp. Tem sido registrado também o fenômeno de múltipla resistência antimicrobiana em microrganismos isolados de bovinos (VARGAS et al., 1996; LANGE et al., 1997; ANDRADE et al., 2000; VIEIRA-DA-MOTA et al., 2000; GENTILINI et al., 2002; CORREA et al., 2005; MACHADO et al., 2008). Fatores que tem contribuído, ao longo dos anos, para a seleção de bactérias resistentes a antibióticos, tornando-as predominantes são as indicações terapêuticas realizadas de forma empírica, com o uso excessivo de antibióticos e aplicações sub-terapêuticas, situações comuns em várias regiões brasileiras (BARBERIO et al., 2002; MOTA et al., 2008).

Hirsh e Zee (1999) enfatizam que uma cepa bacteriana sensível pode adquirir resistência a diversos agentes antimicrobianos e ter o potencial de passar esses genes de resistência para outras, independente de espécies ou gêneros bacterianos, representando risco para saúde animal e para Saúde Pública. Assim, como forma de impedir a resistência bacteriana em rebanhos, torna-se cada vez mais imprescindível que a escolha do medicamento a ser utilizado no tratamento da mastite bovina seja baseada no conhecimento do perfil de sensibilidade das cepas isoladas frente aos antibióticos e quimioterápicos (NADER et al, 2007).

O diagnóstico e tratamento da mastite devem ser acompanhados de outras medidas de controle, principalmente aplicadas durante a ordenha, tais como a higienização das instalações, utensílios e equipamentos de ordenha, higiene pessoal do ordenhador, utilização de substâncias germicidas nos tetos antes e após a ordenha e tratamento e segregação dos animais com casos clínicos da doença (COSTA et al., 1999). Estes procedimentos evitam a disseminação de agentes infecciosos da mastite, podendo reduzir a frequência da enfermidade no rebanho, em níveis economicamente aceitáveis, uma vez que sua erradicação não se apresenta como uma meta viável (PRESTES et al., 2003).

Apesar dos avanços tecnológicos surgidos na cadeia produtiva do leite, a mastite ainda é considerada um problema sério no panorama da pecuária nacional, acarretando prejuízos relevantes para este setor. As perdas econômicas devem-se aos custos com o tratamento, descarte precoce de vacas, redução da produção leiteira e menor rendimento dos derivados lácteos (RADOSTITS et al., 2002; LANGONI, 2001). Para um país que tem produzido alimentos de qualidade compatível com os padrões de exigências internacionais, esta é uma das doenças que deve ser prevenida e controlada a fim de proporcionar para a população um alimento seguro e de boa qualidade nutricional.

Diante das considerações apresentadas e verificando que no estado do Maranhão não se conhece a frequência e a etiologia das mastites clínica e subclínica, pois não há estudos que evidenciem os aspectos epidemiológicos da doença e a resistência antimicrobiana de agentes infecciosos da mastite, é que realizou-se esta pesquisa com os seguintes objetivos:

- Determinar a frequência da mastite clínica e subclínica de vacas leiteiras da Ilha de São Luís, MA;
- Pesquisar os microrganismos causadores da mastite;
- Realizar a identificação bioquímica das cepas de *Staphylococcus spp.*;
- Submeter as cepas bacterianas isoladas a testes de sensibilidade “in vitro” a antimicrobianos;
- Obter informações epidemiológicas sobre a mastite bovina na Ilha de São Luís, MA.

Estruturalmente este trabalho está dividido em dois capítulos a seguir, sendo o primeiro “Frequência e etiologia da mastite clínica e subclínica em rebanhos bovinos da Ilha de São Luís, MA” e o segundo “Perfil de sensibilidade antimicrobiana “in vitro” de cepas de *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.* isoladas de vacas com mastite da Ilha São Luís, MA”. Os capítulos foram elaborados na forma de artigos científicos, sendo o primeiro de acordo com as normas da Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia e o segundo obedecendo às normas da Revista Arquivos do Instituto Biológico, os quais serão submetidos à publicação.

## 2. CAPÍTULO II\*

---

\* Apresentado segundo as normas da Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

## FREQUÊNCIA E ETIOLOGIA DA MASTITE EM BOVINOS DA ILHA DE SÃO LUÍS, MA

Daniela Aguiar Penha<sup>1</sup>; Iara dos Santos da Silva Oliveira<sup>2</sup>; Fernando Almeida de Souza<sup>2</sup>; Francisca Neide Costa<sup>3</sup>

### RESUMO

Com o objetivo de pesquisar a frequência e a etiologia da mastite clínica e subclínica, foram avaliadas 217 vacas de 14 propriedades localizadas em São Luís, Paço do Lumiar, São José de Ribamar e Raposa, no estado do Maranhão, utilizando-se a caneca de fundo escuro e o *California Mastitis Test* (CMT). Dos 857 quartos mamários avaliados, 27 (3,12%) apresentaram mastite clínica e 215 (25,08%) apresentaram mastite subclínica. Das amostras reagentes ao CMT, 69 apresentaram escore 1 +, 103 escores 2 + e 43 escore 3 +. As amostras de leite positivas para os testes foram submetidas ao exame microbiológico para o isolamento e identificação dos microrganismos envolvidos. Das 242 amostras de leite analisadas, 204 (84,29%) apresentaram crescimento de microrganismos e em 38 (15,70%) não houve crescimento. Os microrganismos isolados foram *Staphylococcus* coagulase negativa (26,42%), *Staphylococcus* coagulase positiva (14,23%), *S. aureus* (14,23%), *Streptococcus* spp. (20,33%), *Corynebacterium* spp. (3,25%), leveduras (2,44%) e bastonetes Gram negativos (1,22%). Os resultados mostram uma alta frequência de quartos mamários com mastite clínica e subclínica e o agente etiológico mais frequentemente isolado foi *Staphylococcus* coagulase negativa, indicando a necessidade de adoção de medidas de controle e de melhorar as condições de higiene durante a ordenha.

**Palavras-chave:** mastite, bovinos, CMT, caneca telada, microrganismos

---

<sup>1</sup> Pós-graduanda do Programa de Mestrado em Ciências Veterinárias da UEMA/Bolsista FAPEMA/ Cidade Universitária Paulo VI, Tirirical, Caixa Postal 09, São Luís-MA.  
Email: dani.penha@terra.com.br

<sup>2</sup> Curso de Graduação em Medicina Veterinária/ UEMA

<sup>3</sup> Docentes do Departamento de Patologia/ Curso de Medicina Veterinária/ UEMA

## FREQUENCY AND ETIOLOGY OF CLINICALLY AND SUBCLINICALLY MASTITIS IN DAIRY COWS IN SÃO LUIS ISLAND, MA

### ABSTRACT

Aiming to find the frequency and etiology of subclinical and clinical mastitis, 217 cows were evaluated in 14 properties located in Paço do Lumiar, São José de Ribamar and Raposa, state of Maranhão, Brazil, using Tamis and California Mastitis Test (CMT). Of 857 rooms mammary evaluated, 27 (3.12%) had clinical mastitis and 215 (25.08%) subclinical mastitis. In samples of reagents to CMT, 69 showed score 1 +, 103 scores 2 + and 43 score 3 +. The milk positive samples for the tests were subjected to microbiological tests for the isolation and identification of infectious agents. Of the 242 samples of milk examined, 204 (84.29%) had growth of microorganisms and 38 (15.70%) had not growth. The microorganisms isolated were coagulase negative *Staphylococcus* (26.42%), *Staphylococcus* coagulase positive (14.23%), *S. aureus* (14.23%), *Streptococcus spp.* (20.33%), *Corynebacterium spp.* (3.25%), yeast (2.44%) and Gram negative bacilli (1.22%). The results show a high frequency of breast quarters with clinical and subclinical mastitis and *Staphylococcus* coagulase negative was the etiologic agent most frequently isolated was, indicating the need for adoption of control measures aimed at improving hygiene conditions during milking.

**Key-words:** mastitis, CMT, Tamis, microorganisms.

### INTRODUÇÃO

A mastite bovina continua sendo uma das doenças de maior impacto econômico na cadeia produtiva do leite (Moroni et al., 2006). As perdas econômicas envolvem tanto as propriedades de criação com finalidade leiteira como as indústrias beneficiadoras. Nas propriedades rurais, essa enfermidade ocasiona custos com tratamento, descarte precoce de animais doentes e redução na produção de leite. Nas indústrias, o leite obtido de vacas com mastite promove diminuição da qualidade e rendimento dos produtos lácteos, bem como põem em risco a segurança dos alimentos pela veiculação de agentes patogênicos para os seres humanos (Costa et al., 1999; Zafalon et al., 2005).

O processo inflamatório da glândula mamária pode ser provocado por vários

microrganismos infecciosos, que penetram através do canal do teto, onde se multiplicam e danificam o tecido glandular (Wattiaux, 1999). Mais de 80 diferentes microrganismos causadores da mastite foram identificados, mas aqueles transmitidos para outros animais durante a ordenha, os chamados contagiosos, são considerados os de maior ocorrência (Fagundes e Oliveira, 2004).

Estudos epidemiológicos realizados no Brasil mostram que as bactérias mais frequentemente isoladas de casos de mastites são as dos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium* (Longo et al., 1994; Costa et al., 1995; Barbalho e Mota, 2001; Laffranchi et al., 2001; Ferreira et al., 2007). Destaca-se o *Staphylococcus spp.* como o grupo de maior importância e ocorrência nos rebanhos mundiais e de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antibióticos e à diversos mecanismos de virulência (Zecconi & Hahn, 2000; Freitas et al., 2005). A espécie *S. aureus* possui grande relevância na saúde pública, em virtude da alta frequência de isolamento em leite cru e da capacidade de causar intoxicações alimentares em seres humanos (Jay, 1994; Dinges et al., 2000).

Um aspecto característico da mastite bovina é a alta frequência da forma subclínica nos animais, fator que dificulta o seu controle nos rebanhos leiteiros (Costa et al., 2001). Assim, uma das principais medidas de controle da mastite é a eficácia no diagnóstico dos animais doentes, a identificação dos agentes causadores e a eliminação da infecção mamária (Radostis et al., 2002; Zecconi, 2006).

O *California Mastitis Test* (CMT) é um método prático e popular, internacionalmente aceito para diagnóstico de campo das mastites subclínicas (Schalm e Noorlander, 1957). Quando aliado a análise microbiológica do leite e apoiado em teste de sensibilidade *in vitro* à antimicrobianos, estes testes oferecem orientação para o tratamento e para as medidas de controle da mastite bovina em propriedades leiteiras (Brito et al., 1999; Cunha et al., 2006).

No Brasil, de modo geral, o leite é obtido sob condições higiênico-sanitárias deficientes quanto ao manejo e higiene da ordenha, com limpeza e desinfecção dos equipamentos e utensílios de forma inadequada e inexistência de qualificação da mão de obra (Monteiro et al., 2007). Em consequência, apresenta condições predisponentes ao surgimento dos casos de mastite bovina, o que pode constituir um fator da baixa produtividade leiteira e risco à saúde da população consumidora, situação comum na



região Nordeste (Martins e Albuquerque, 1999; Catão e Ceballos, 2001; Padilha et al., 2001).

Assim, diante das considerações apresentadas e constatando-se a ausência de estudos sobre mastite em rebanhos leiteiros no estado do Maranhão, objetivou-se neste trabalho determinar a frequência e a etiologia das mastites clínica e subclínica em rebanhos leiteiros da Ilha de São Luís, MA.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

No período entre março a julho de 2008, foram examinadas 217 vacas leiteiras procedentes de 14 propriedades leiteiras situadas nos municípios de São Luís, Paço do Lumiar, Raposa e São José de Ribamar, estado do Maranhão. O rebanho amostrado constituiu-se de vacas primíparas e multíparas, em período médio de lactação, submetidas à ordenha mecânica e/ou manual, da raça holandesa e de cruzamentos desta com raças zebuínas, criadas em sistema semi-intensivo e não submetidas à antibioticoterapia por até uma semana antes da colheita. Foi aplicado um questionário epidemiológico aos responsáveis pelo rebanho para se obter informações sobre procedimentos da ordenha e medidas de controle e prevenção da mastite adotadas nas propriedades (Apêndice 1).

As vacas em lactação foram submetidas ao exame clínico da glândula mamária e ao teste da caneca de fundo escuro, para detecção de mastite clínica, e ao *Califórnia Mastitis Test* (CMT), para detecção da mastite subclínica (Schalm et al., 1971; Rosenberg 1989). Após a lavagem e desinfecção dos tetos com álcool a 70%, as amostras de leite positivas para um dos testes foram colhidas, de forma asséptica, em frascos estéreis, na quantidade de 10 mL, identificadas e transportadas em caixas isotérmicas, sob refrigeração, para o Laboratório de Bacteriologia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), onde foram analisadas.

Alíquotas de 0,01 mL (10 µL) da amostra de leite foram semeadas em placas de Agar sangue base, contendo 5% de sangue de carneiro desfibrinado, e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, realizando-se leitura após 24, 48 e 72 horas. Foram observadas as características morfológicas das colônias (aspecto, tamanho, coloração e tipo de hemólise), as características morfotintoriais das células microbianas (forma, arranjo e cor) e característica bioquímica (produção de catalase). A partir das

observações, realizou-se, então, a identificação e classificação dos gêneros bacterianos (Lennette et al., 1985; Carter, 1988).

As colônias de *Staphylococcus* spp. foram semeadas em tubos contendo Ágar Soja Trypticase (TSA) inclinado, incubados a 37°C por 24 horas e estocados sob refrigeração. Posteriormente, esses isolados foram submetidos às provas bioquímicas de produção de coagulase livre, DNase e acetoína, fermentação da glicose (anaerobiose) e do manitol (aerobiose e anaerobiose), segundo metodologia de Mac Faddin (1980) e Silva et al. (1997). Em seguida, foi realizada a caracterização dos estafilococos em *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus* coagulase negativo, de acordo com Baird-Parker (1990).

A análise estatística dos dados obtidos foi do tipo descritiva, calculando-se as frequências absoluta e relativa e os parâmetro de média e proporção (Sampaio, 1998).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram avaliadas 217 vacas leiteiras, totalizando 868 quartos mamários, nos quais 857 apresentavam-se funcionais e 11 não-funcionais (quartos secos ou perdidos). Dos 857 quartos mamários funcionais avaliados, 242 (28,23%) apresentaram inflamação da glândula mamária, nos quais 27 (3,12%) por mastite clínica e 215 (25,08%) por mastite subclínica (Tab. 1). A frequência dos quartos mamários com mastite, neste estudo, encontra-se com índice intermediário quando comparadas aos resultados de outras pesquisas realizadas em diferentes regiões do Brasil. Foi superior aos estudos de Lins e Marreiros (1992), Samara et al. (1996) e Almeida e Silva (1998) que verificaram índices de 21,94%, 16,50% e 18,80%, respectivamente. Entretanto, foi inferior aos estudos de Costa et al. (1997), Ribeiro et al. (2003) e Ferreira et al. (2007), com frequência de 66,80%, 37,69% e 41,10%, respectivamente.

Avaliando a proporção de quartos mamários com mastite clínica e subclínica nos rebanhos leiteiros estudados, verificou-se que esta variou de 1:2 a 1:28, com uma média de 1:8. Resultados semelhantes foram observados por Costa et al. (2001) que observaram uma variação da proporção da mastite clínica e subclínica de 1:2 a 1:43, com uma média de 1:7, em rebanhos leiteiros de Minas Gerais e São Paulo. Os resultados confirmam a predominância da forma subclínica da mastite, um importante fator epidemiológico para manutenção de fontes de infecção no rebanho e, relevante

causa de redução significativa na quantidade e na qualidade do leite produzido.

**Tabela 1:** Frequência da mastite clínica e subclínica em rebanhos leiteiros da Ilha de São Luís, MA, 2008

Animais/quartos	N°	Mastite				
		Clínica		Subclínica		
		N	%	N	%	
Vacas	217	16	7,37%	105	48,38%	
Quartos mamários	Funcionais	857	27	3,12%	215	25,08%
	Não funcionais	11	-	-	-	-

Em 50% das propriedades visitadas, observaram-se 11 vacas com quartos mamários não-funcionais. Conforme relatado pelos produtores, 3 destes animais apresentaram inflamação crônica da glândula mamária, com desenvolvimento de tecido fibroso, resultando na perda do quarto. Os outros animais foram adquiridos de outras propriedades com os quartos mamários já retirados. Estas situações provocam perdas econômicas significativas para o produtor, visto que reduz a produção de leite por vaca. Ressalta-se a importância do exame e monitoramento de vacas compradas de outros locais, principalmente quanto a mastite subclínica, pois esses animais podem ser fontes de agentes contagiosos, disseminando-os para o rebanho (Santos e Fonseca, 2007).

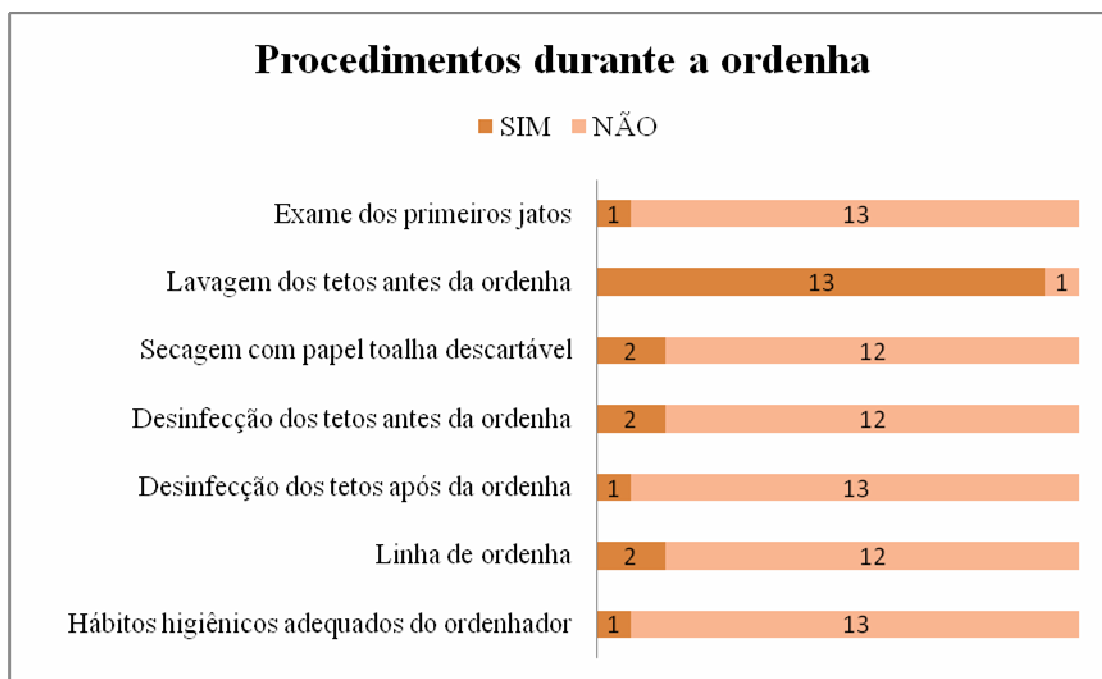
Avaliando a ocorrência da mastite nas 217 vacas examinadas, verificou-se que a 16 (7,37%) dos animais apresentaram mastite clínica e 105 (48,38%) apresentaram pelo menos um dos quartos com mastite subclínica (Tab. 1). A frequência da mastite subclínica encontrada foi semelhante aos observado por Costa et al. (1999), que encontraram 46,10% de vacas com mastite subclínica, e inferior a Bueno et al. (2002) que encontraram frequência de 63,68%. Os índices da mastite clínica e subclínica encontrados nos animais examinados são considerados elevados, pois, segundo Santos e Fonseca (2007), os valores ideais são abaixo de 2% para mastite clínica e 15% para mastite subclínica.

A ausência de práticas de controle e prevenção da mastite, durante a ordenha,

pode explicar a elevada frequência da enfermidade nos rebanhos estudados. Na Bacia leiteira de Ilha de São Luís, o sistema de produção leiteiro processa-se, predominantemente, de forma rústica, baseado na ordenha manual, com bezerro ao pé, com poucos cuidados higiênicos e sanitários, principalmente durante a ordenha. Observou-se que, em quase todas as 14 propriedades visitadas, era realizada a lavagem dos tetos, porém em apenas duas eram efetuadas a secagem com papel toalha individual procedida de desinfecção dos tetos antes da ordenha e, somente numa propriedade era feita a desinfecção dos tetos após a ordenha (Fig. 1). Um fator importante na veiculação de agentes contagiosos da mastite entre vacas é o uso de panos coletivos na secagem dos tetos, procedimento adotado em 12 propriedades avaliadas.

Brito et al. (2000) constataram que a lavagem dos tetos com água seguida de secagem com papel toalha reduz o número de microrganismos da superfície dos tetos, mas a redução é muito maior quando se emprega um desinfetante. De acordo com Souza et al. (2005), os procedimentos que mais contribuem para evitar a alta contagem de células somáticas no leite, o principal indicativo da mastite em rebanhos leiteiros, são a anti-sepsia dos tetos antes e após a ordenha, pois evitam a disseminação de agentes infecciosos e aparecimento de novas infecções.

Quanto às práticas de tratamento e diagnóstico da mastite, em todas as propriedades visitadas, o tratamento dos casos clínicos de mastite era uma medida adotada. No entanto, em 12 rebanhos avaliados, observou-se que as vacas com mastite clínica e em tratamento, permaneciam com as vacas clinicamente sadias, durante a ordenha, constituindo-se como potenciais fontes de infecção para o rebanho. Verificou-se ainda que não havia preocupação dos produtores rurais no diagnóstico da enfermidade no rebanho, pois apenas um realizava o exame dos primeiros jatos de leite pela caneca telada e poucos conheciam o CMT.



**Figura 1:** Medidas de prevenção e controle da mastite bovina adotadas, durante a ordenha, em 14 propriedades leiteiras da Ilha de São Luís, MA, 2008.

No exame microbiológico, observou-se que das 242 amostras de leite analisadas, 204 (84,30%) apresentaram crescimento de microrganismos e 38 (15,70%) não houve crescimento. Os resultados de positividade ao exame microbiológico foram elevados, semelhantes ao observado por Beloti et al. (1997) e Barbalho e Mota (2001), com 75,60% e 84,50% de positividade ao exame bacteriológico, respectivamente. De modo geral, as amostras que apresentaram resultados negativos no exame microbiológico podem ser explicadas pela presença de agentes infecciosos que não se desenvolvem nos meios de culturas utilizados na presente pesquisa ou pela etiologia da mastite não ser de ordem infecciosa, mas traumática ou alérgica (Della Libera et al., 2001).

Observando os resultados do exame microbiológico do leite e os resultados aos testes do CMT e caneca de fundo escuro (Tab. 2), verificou-se que o menor isolamento de microrganismos ocorreu nas amostras oriundas de casos clínicos da doença, na qual 7 (25,92%) das 27 amostras de leite não houve crescimento microbiano. Os resultados falso-negativos são muitas vezes encontrados em amostras de casos clínicos, em virtude do processo de inflamação, no qual os microrganismos podem estar no interior de células fagocitárias, dificultando o isolamento do agente pela técnicas microbiológicas rotineiras. Em alguns casos, a infecção pode já ter sido eliminada, mas persiste uma

elevada contagem de células somáticas pelo processo de cura das lesões na glândula mamária (BRITO et al., 2008)

**Tabela 2:** Resultados das amostras de leite reagentes aos testes do *California Mastitis Test* (CMT) e da caneca de fundo escuro e do exame microbiológico, São Luís-MA, 2008

Testes		N° amostras reagentes	Exame Microbiológico			
			Positivo		Negativo	
			N	%	N	%
CMT	+	69	52	75,36	17	24,63
	++	103	92	89,32	11	10,67
	+++	43	40	93,02	03	6,97
Caneca telada		27	20	74,07	07	25,92

Em relação a etiologia das mastites clínica e subclínica, verificou-se que o gênero *Staphylococcus* foi o principal agente etiológico da doença nos rebanhos (55,78%), nos quais 59,06% dos isolamentos foram de casos subclínicos da doença (Tab 3). Apesar da frequência do gênero *Staphylococcus* em casos de mastite bovina ser bastante variável em pesquisas no Brasil, a maioria aponta esta bactéria como responsável por mais de 50% das mastites subclínicas nos rebanhos leiteiros do país (Nader et al., 1985; Langoni et al., 1991; Longo et al., 1994; Lanfranchi et al., 2001; Almeida et al., 2005; Freitas et al., 2005; Ferreira et al., 2007).

As infecções intramamárias por *Staphylococcus* estão relacionadas com falhas higiênicas durante a ordenha, visto que a principal via de veiculação dessa bactéria são as mãos dos ordenhadores, utensílios e equipamentos utilizados na ordenha (Fagundes e Oliveira, 2004). Observou-se que o sistema de ordenha predominante nas propriedades leiteiras da Ilha de São Luís é o manual (13 de 14 propriedades), portanto, um ponto crucial na prevenção das infecções intramamárias estafilocócicas deve ser a higiene do ordenhador. Em quase todas as propriedades visitadas, os ordenhadores possuíam hábitos higiênicos inadequados e pouca informação sobre a transmissão da doença. Na única propriedade que adotava a ordenha mecânica, observou-se que o ordenhador realizava de forma adequada a lavagem e a desinfecção das mãos e dos equipamentos de ordenha, adotando medidas de controle e tratamento da mastite. Entretanto, observou-se alta frequência de isolamento de *Staphylococcus spp.* (94,44%) nas amostras de leite

analisadas. Este fato deve-se, possivelmente, aos numerosos mecanismos de virulência dos estafilococos que lhes permitem resistência aos tratamentos por antibióticos e persistência no tecido mamário, tais como a formação de abscessos, dificultando seu controle no rebanho (Piccinini et al., 1999; Young et al., 2001).

**Tabela 3:** Frequência dos agentes etiológicos isolados da mastite clínica e subclínica em rebanhos leiteiros, na Ilha de São Luís, 2008

Agentes etiológicos	Frequência		Mastite			
			Clínica		Subclínica	
	N	%	N	%	N	%
<i>Staphylococcus coagulase positivo</i>	35	14,46	01	3,70	34	15,81
<i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	65	26,86	02	7,40	63	29,30
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	14,46	05	18,52	30	13,95
<i>Streptococcus spp.</i>	50	20,66	07	25,93	43	20,00
<i>Corynebacterium spp.</i>	10	4,13	0	0	10	4,65
Leveduras	06	2,48	05	18,52	01	0,47
Bastonentes Gram negativo	03	1,24	0	0	03	1,40
Sem crescimento	38	15,70	07	25,93	31	14,42
<b>Total</b>	242	99,99	27	100	215	100

Dentro do gênero *Staphylococcus*, foram isoladas 35 (14,46%) cepas do grupo *Staphylococcus coagulase positivo*, 65 (26,86%) *Staphylococcus coagulase negativo* e 35 (14,46%) *S. aureus*. Verificou-se que o grupo dos *Staphylococcus coagulase negativo* foi o de maior frequência de isolamento, especialmente nos casos subclínicos da doença (29,30%). Pesquisas realizadas por Medeiros et al. (2008), no estado de Pernambuco, Machado et al. (2008), nos Estados da regiões sul e sudeste e Bahia, e Laffranchi et al. (2001), nos estados do Paraná e São Paulo, também constataram este grupo como o de maior ocorrência nos casos de mastite, com isolamento de 22,97%,

14,5% e 68,05%, respectivamente. Em países como a Finlândia (Pitkala et al., 2004), Estados Unidos (Makovec e Ruegg, 2003) e Bélgica (Piepers et al., 2007), a frequência do grupo coagulase negativo tem se elevado em mastites bovinas, com índices de 49%, 17% e 50%, respectivamente.

Apesar de serem considerados como patógenos secundários, os *Staphylococcus* coagulase negativo têm merecido destaque, pois tem aumentado, nos últimos anos, sua importância como causa das infecções intramamárias em bovinos, sendo associado a danos no tecido mamário e a redução significativa da produção de leite (Gentilini et al., 2002). Segundo Rupp et al. (2001), os *Staphylococcus* coagulase negativos possuem capacidade de produzir várias enzimas que os fazem aderir às superfícies poliméricas como ordenhadeiras e baldes, produzindo biofilmes. Este fato, provavelmente, é uma característica que facilita sua permanência no ambiente e sua disseminação entre os animais.

O grupo dos *Staphylococcus* coagulase positivo e a espécie *S. aureus* apresentaram iguais frequências de isolamento dos casos de mastite (14,46%). Estes grupos destacam-se pela capacidade de produção de enterotoxinas causadoras de intoxicações alimentares, altamente resistentes a pasteurização do leite (Jay, 1994; Zecconi e Hahn, 2000; Dinges et al., 2000). Observando que 13 das 14 propriedades visitadas comercializa o leite de forma “in natura” para as comunidades rurais, padarias e creche da região, esse produto contaminado por *Staphylococcus* produtores de enterotoxinas pode representar risco para os consumidores.

O gênero *Streptococcus* spp. apresentou uma frequência elevada de 20,66% dos isolados. Esses índices assemelham-se aos encontrados por Costa et al. (1995), Costa et al. (1998) e Nader et al. (1985), que relataram isolamento de 28,05%, 21,1% e 26,80%, respectivamente. A elevada frequência deste agente está relacionada a presença de umidade e dejetos na sala de ordenha, situação na qual as amostras foram colhidas em algumas propriedades, que favorecem o aumento deste agente no ambiente e possível infecção da glândula mamária (Wattiaux, 1999). Com exceção da espécie *S. agalactiae*, essas bactérias estão presentes principalmente no local em que o animal vive, portanto as medidas de controle devem ser direcionadas para melhorar as condições higiênico-sanitárias do ambiente de ordenha. Ainda verificou-se que os *Streptococcus* spp. foram os microrganismos mais envolvidos nos casos clínicos da doença, com isolamento em 7



casos clínicos (25,93%). Conforme Ribeiro et al. (2001), este gênero é uma causa comum da mastite clínica, especialmente no início da lactação.

Destacam-se também como agente causador da mastite clínica, neste estudo, as leveduras. Das seis amostras em que se isolaram estes microrganismos, cinco (18,52%) foram de casos clínicos, cujos proprietários dos animais relataram dificuldade de resposta ao tratamento antimicrobiano. Isto demonstra a importância de se realizar a identificação do agente causador da enfermidade antes de se iniciar o tratamento medicamentoso, visto que as leveduras não são destruídas por antibióticos ou quimioterápicos e podem ser importantes causas de mastite, em locais com inadequadas condições de higiene do ambiente (Costa et al., 2008).

Os agentes etiológicos com menor frequência foram o *Corynebacterium* spp. (4,13%) e bastonetes Gram negativos (1,24%), todos isolados de mastite subclínica. O papel dos *Corynebacterium* spp. como agente das mastites é controverso, pois alguns autores o consideram comensal da glândula mamária (Honkanen et al., 1984; Pocięcha, 1989), outros afirmam sua patogenicidade por alterar significativamente a contagem de células somáticas (Victória et al., 2005). Independente de sua patogenicidade, os *Corynebacterium* são altamente contagiosos, quase sempre relacionados com casos subclínicos, com reação leve ao CMT, o que foi observado neste estudo (Zafalon et al., 2005).

Percebe-se que tanto os agentes contagiosos da mastite (*Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp.), que são disseminados entre vacas durante a ordenha, quanto os agentes ambientais (*Streptococcus* ambientais, leveduras e bacilos Gram negativos), que são carregados do ambiente à vaca, principalmente no intervalo entre ordenhas, podem ter contribuído para as infecções intramamárias nos rebanhos estudados.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho revelam elevada frequência da mastite bovina nos rebanhos leiteiros da Ilha de São Luís-MA, principalmente da forma subclínica. Os agentes contagiosos da mastite tiveram maior participação na etiologia da doença, com predominância do *Staphylococcus* coagulase negativo. Há necessidade de melhorar o manejo higiênico-sanitário do rebanho, do ambiente e dos ordenhadores, adotar medidas eficazes na prevenção e controle da mastite, como forma de reduzir os índices desta

doença, aumentando a produtividade do rebanho e melhorando a qualidade do leite produzido.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L.A. DO B.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; PIRES, M. de F.Á.; BENITES, N.R. Benites. Tratamento de mastite clínica experimental por meio de ordenhas múltiplas em vacas leiteiras inoculadas com *Staphylococcus aureus*. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v.72, n.1, p.1-6, jan./mar., 2005.

ALMEIDA, M.A.C.; SILVA, F.F. Prevalência de mastite subclínica em bovinos por *Staphylococcus* SP e *Streptococcus* SP na microrregião de Garanhuns. *Ciência Veterinária Tropical*, v.1, n.1, p.18-24, 1998.

BAIRD-PARKER, A.C. *The Staphylococci: an introduction*. Journal of Applied Bacteriology, Oxford, v.19, p.15-85, 1990.

BARBALHO, T.C.F.; MOTA, R.A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.2, n.2, p.31-36, 2001.

BELOTI, V.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C. Estudo da mastite subclínica em rebanhos leiteiros no norte do Paraná. *Seminário Ciências Agrárias*, Londrina, v. 18, n. 1, p. 45-53, Mar.1997.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M.T.; et al. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 51, n.2, p. 33-35. 1999.

BRITO, J.R.F.; BRITO, M.A.V.P.; VERNEQUE, R.S. contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.30, n.5, p.847-850, 2000.

BUENO, V.F.F.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J. DE; RIBEIRO, A.R.; SILVA, M.A.B; COSTA, E.O.DA; COELHO, K.O.; NEVES, R.B.S. Mastite clínica e subclínica na região de Pirassununga, SP: frequência e redução na produção. *Ciência Animal Brasileira*, v. 3, n. 2, p. 47-52, jul./dez. 2002

CARTER, G.R. *Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária*. 1ed. São Paulo:

Roca, 1988. 249p.

COSTA, E. O.; CARCIOFI, A. C.; MELVILLE, P. A.; PRADA, M. S.; PANTANO, T.; TIBEIRO, A. R. Influência do manejo de ordenha com a participação do bezerro sobre a ocorrência de mastite. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 19, n.1, p.19-22, 1997.

COSTA, E.O.; RIBEIRO, A.R; WATANABE, E.T.; SILVA, J.A.B.; GARINO JR., F.; BENITES, N.R.; HORIUTI, A.M. Mastite subclínica: prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. *Napgama*, ano II, n.2, mar/abr, 1999.

BRITO, M.A.V.P.B. Importância do Diagnóstico Microbiológico para a Detecção da Mastite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE. 2008, 3., Recife. *Anais...* Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008, 373p.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria* spp., coliformes totais e fecais e E.Coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.21, n.3, p.281-287, set./dez. 2001.

COSTA, E.O.; GARINO JR, F.; WATANABE, E.T.; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B. Proporção de ocorrência de mastite clínica em relação à subclínica correlacionada aos principais agentes etiológicos. *Napgama*, v.4, n.3, p.10-13, 2001.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; WHITE, C.R.; PARDO, R.B. Índices de mastite clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.17, p.215-7, 1995.

COSTA, G.M.; SILVA, N.DA; ROSA, C.A.; FIGUEREIDO, H.C.P.DA; PEREIRA, U.P. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Revista Ciência Rural*, v.38, n.7, p.1938-1942, out, 2008.

CUNHA, A.P.; SILVA, L.B.G. da; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; SILVA, D.R. da; OLIVEIRA, A.A. da; SILVA, K.P.C. da; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade microbiana de agentes contagiosos e ambientais isolados de mastite clínica e subclínica de búfalas. *Arquivo do Instituto Biológico*, v.73, n.1, p.17-21, jan./mar., 2006

DELLA LIBERA, A.M.M.P.; ARAUJO, W.P.; COSTA, E.O.; GARCIA, M.; TÁVORA, J.F.P.; BENATTI, L.A.T. Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas sem alterações ao exame físico da glândula mamária e com alta contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.1,

n.2, p.42-47, 2001.

DINGES, M.M; ORWIN, P.M; SCHLIEVERT, P.M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, v.13, p.16-34, 2000.

FAGLIARI, J. J. et al. Mastite bovina: comparação entre os resultados obtidos pelo California Mastitis Test e o exame bacteriológico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Minas Gerais, v.35, n.3, p. 310-315, 1983

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

FERREIRA, J.L.; LINS, J.L.F.H.A.; CAVALCANT, T.V.; MACEDO, N.A. de; BORJAS, A. de los R. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. *Ciência animal Brasileira*, v.8, n.2, p.261-266, abr./jun, 2007.

FREITAS, M.F.L. DE; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; STAMFORD, T.L.M.; RABELO, S.S. de A.; SILVA, D.R. da; SILVEIRA FILHO, V.M. da; SANTOS, F.G.B.; SENA, M.J. de; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de leite de vacas com mastite no agreste do Estado de Pernambuco. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.72, n.2, p.171-177, 2005.

GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR,A.; REBUELTO, M.; FERMEPIN, R.M.; DE TORRES, R.A.. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis in Argentina. *Journal Dairy Science*, v.85, p.1913-1917, 2002.

HONKANEN, B. T.; GRIFFIN, T. K.; DODD, F. H. Observations on *Corynebacterium bovis* infection of the bovine mammary glandI. natural infection. *Journal of Dairy Research*, v. 51, p. 371-378, 1984.

JAY, J.M. *Microbiologia moderna de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 1994. 804p.

LAFFRANCHI, A.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C. DE; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, J.A.; SALVADOR, R. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. *Ciência Rural*, v.31, n.6, p.1027-1032, 2001.

LANGONI, H; PINTO, M. P; DOMINGUES, P. F; LISTONI, F. J. P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia*, v. 43, n. 6, p. 507-515, 1991.

LENNETTE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER Jr., W.J. & SHADOMY, H.J. *Manual of clinical microbiology*. 4ed. Washington; American Society of Microbiology. 1985. 1149p.

LINS, J. L. F. H. A.; MARREIROS, V. P. N. Mamite bovina na bacia leiteira de Teresina, PI. I – Avaliação do sistema de produção. II – Prevalência de mastite. III – Contribuição à análise epidemiológica. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA EM LÍNGUA PORTUGUESA, 6., 1992, Salvador, BA. *Anais...* Salvador, BA, 1992. p. 227-228.

LONGO, F.; BEGUIN, J.C.; CONSALVI, P.J.; DELTOR, J.C. Quelques données épidémiologiques sur les mammites subcliniques de la vache laitière. *Revue de Médecine Vétérinaire*, v.145, n.1, p. 43-47, 1994.

MAC FADDIN, J.F. *Biochemical test for identification of medical bacteria*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980. 527p.

MACHADO, T.R.O; CORREA, M.G.; MARIN, J.M. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from mastitic cattle in Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.1, p.278-282, 2008.

MAKOVEC, J.A.; RUEGG P.L. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8,905 samples (1994-2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222, p.1-8, 2003.

MARTINS, S. C. S.; ALBUQUERQUE, L. M. B. Qualidade do leite pasteurizado tipo C comercializado no município de Fortaleza. Bactérias multiresistentes a antibióticos. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.13, n.59, p.39-42, jan./fev. 1999.

MEDEIROS, E. S. DE. *Perfil de sensibilidade in vitro de Staphylococcus spp. frente a antimicrobianos e desinfetantes utilizados no controle da mastite bovina*. 2008. 90f. Tese (Mestrado em Ciência Veterinária). Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008

MONTEIRO, A.A.; TAMANIN I, R.; SILVA, C.C.DA; MATTOS, M.R.DE; MAGNANI, D.F.; D’OVIDIO, L.; NERO, L.A.; BARROS, M.A.F. Características da produção leiteira da região do agreste do estado de Pernambuco, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 28, n. 4, p. 665-674, out./dez. 2007.

MORONI, P. PISONI, G.; ANTONINI, M.; VILLA, R.; BOETTCHER, P.; CARLI, S. Curta comunicação: susceptibilidade às drogas antimicrobianas de Staphylococcus

aureus oriundos de mastites bovinas subclínicas na Itália. *Journal Dairy Science*. Champaign, v.89, p.2973-2976, 2006.

NADER FILHO, A. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 5, n. 2, p. 53-56, 1985.

PADILHA, M. R. F.; FERNANDES, Z. F.; LEAL, T. C. A.; LEAL, N. C.; ALMEIDA, A. M. P. Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. *Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v.34, n.2, p.167-171, mar./abr. 2001.

PICCININI, R.; BRONZO, V.; MORONI, P.; LUZZAGO, C.; ZECCONI, A. Study on the relationship between Milk immune factors and Staphylococcus aureus intramammary infections in dairy cows. *Journal of Dairy Research*, v.66, p.501-510, 1999.

PIEPERS, S.; MEULEMEESTER, L. DE; KRUIF, A. DE; OPSOMER, G.; BARKEMA, H. W.; VLIEGHER, S. DE. Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. *Journal of Dairy Research*, v. 74, p. 478–483, 2007.

PITKALA, A, HAVERI M, PYÖRÄ-LA S, MYLLYS V; HONKANEN-BUZALSKI T. Bovine mastitis in Finland 2001 – prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p.2433–2441, 2004.

POCIECHA, J. Z. Influence of *Corynebacterium bovis* on constituents of milk and dynamics of mastitis. *Veterinary Record*, v. 125, p. 628, 1989.

RADOSTITS, O. M., BLOOD D.C.; GAY, C.C. *Clínica Veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1737 p. 2002.

RIBEIRO, M.E.R.; PETRINI, L.A.; AITA, M.F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JR, W.; GOMES, J.F.; SCHRAMM, R.C.; MARTINS, P.R.; BARBOSA, R.S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira Agropecuária*, v.9, n.3, p.287-290, jul-set, 2003.

RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JR., W.; GOMES, J. F.; et al. Relação de CMT positivo e crescimento microbiológico no diagnóstico da mastite bovina na região sul do Rio

Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 21., e CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA, 3., 2001, Goiânia. *Anais...Goiânia:SBZ*, 2001. p.98.

ROSENBERGER, G. *Enfermidades de los Bovinos*. Vol 2. Editora Hemisfério Sul, Buenos Aires. 1989. 135p.

RUPP, M. E.; FEY, P. D.; HEILMANN, C.; GOTZ, F.; RAICHLE, A. Characterization of the importance of *Staphylococcus epidermidis* autolysin and polysaccharide intercellular adhesin in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model. *Journal of Infectious Diseases*, v.183, n.7, p.1038-1042, 2001.

SCHALM, O.W.; CASRROLL, E.J.; JAIN, N.C. *In Bovine mastitis*. Philadelphia: Lea e Febiger, 1971.

SCHALM, O.M., NOORLANDER, D.D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *Journal of American Veterinary Research*, v. 130, n. 5, p. 199-204, 1957.

SAMARA, S.I.; PRATA, L.F.; DUTRA, I.S. Diagnóstico da situação sanitária do gado leiteiro em pitangueiras, SP. *Ars Veterinária*, v.12, n.2, p. 141-7, 1996.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SANTOS, M.V. DOS ; FONSECA, L.F.L.da. *Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite*. 1 ed. Bauru: Editora Manole, 2007. 314p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, 1997. 295p.

SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; MOREIRA, E.C. BRITO, M.A.V.P.; BASTOS, R.R. Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, supl. 2, p.251-260, 2005.

VICTORIA, C.; DA SILVA, A.V.; ELIAS, A.O.; LANGONI, H. *Corynebacterium bovis* e os padrões de contagem de células somáticas no Brasil. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*, v.8, n.2, p.161-164, 2005.

ZAFALON, L.F.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J.V.; RESENDE, F.D. Comparação entre o *California Mastitis Test* e a contagem de células somáticas como métodos auxiliares para diagnóstico da mastite subclínica por *Staphylococcus aureus* e

*Corynebacterium* spp. *B.Industr.anim.*, n.1, p.63-69, 2005.

ZECCONI, A. Can we eradicate *Staphylococcus aureus* mastitis. In: World Buiatrics Congress, 2006, Nice. *Anais...* France: World Buiatrics, 2006. p.225-236.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw Milk and human health risk. *Bulletin of IDF*, v.345, p.15-18, 2000.

YOUNG, F.; PLATT, D.; LOGUE, D.; TERNENT, H.; FITZPATRICK, J. Bovine *Staphylococcus aureus* mastitis: strain recognition and dynamics infection. *Journal of Dairy Research*, v.68, p.377-388. 2001.

WATTIAUX, A.W. Mastite: a doença e sua transmissão. In: WATTIAUX, A.W., *Dairy Essential Four Topics*. 3. ed. Madison: The Babcock Institute for International Dairy Research, p.89-92, 1999.



### **3. CAPÍTULO II†**

---

\* Apresentado segundo normas da Revista Arquivos do Instituto Biológico

**PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA “IN VITRO” DE  
CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS* SPP. E *STREPTOCOCCUS* SPP. ISOLADAS  
DE VACAS COM MASTITE NA ILHA DE SÃO LUÍS, MA**

**Daniela Aguiar Penha<sup>1</sup>; Ilderlane da Silva Lopes<sup>2</sup>; Lúcia Maria Alves Coêlho<sup>3</sup>;  
Francisca Neide Costa<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Pós-graduanda do Programa de Mestrado em Ciências Veterinárias da UEMA/Bolsista FAPEMA/ Cidade Universitária Paulo VI, Tirirical, Caixa Postal 09, São Luís-MA.  
Email: dani.penha@terra.com.br

**RESUMO**

Este trabalho objetivou conhecer o perfil de sensibilidade antimicrobiana “in vitro” de 35 cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, 65 de *Staphylococcus* coagulase negativa, 35 de *Staphylococcus aureus* e 50 de *Streptococcus spp.* isoladas do leite de vacas com mastite, procedentes de 14 propriedades leiteiras situadas nos municípios de São Luís, Paço do Lumiar, Raposa e São José de Ribamar, no estado do Maranhão. As cepas foram avaliadas quanto ao perfil de sensibilidade frente a 14 agentes antimicrobianos, utilizando-se a técnica de difusão em discos. Os antimicrobianos que apresentaram maior eficácia contra *S. coagulase positivo* e *S. coagulase negativo* e *S. aureus* foram a vancomicina, sulfa+trimetopim, bacitracina e gentamicina. Os antimicrobianos que apresentaram menor eficácia frente a todos os grupos de *Staphylococcus* testados foram a penicilina, a amoxicilina e ampicilina. As cepas bacterianas do gênero *Streptococcus* apresentaram maior perfil de sensibilidade a bacitracina, vancomicina e amoxicilina, e menor sensibilidade a estreptomicina e a tetraciclina. O *Staphylococcus* coagulase negativo apresentou maior perfil de multirresistência, com 32,65% das cepas resistentes a mais de oito antibióticos, simultaneamente. Os resultados mostram que a vancomicina e a bacitracina foram os antimicrobianos mais eficazes frente as cepas isoladas da mastite, porém nenhum

apresentou 100% de eficácia, evidenciando a necessidade de se determinar os padrões de sensibilidade antimicrobiana dos agentes causadores da mastite.

**Palavras-chave:** mastite, antimicrobianos, *Staphylococcus Streptococcus*

**PROFILE OF IN VITRO ANTIMICROBIAL SENSITIVITY OF  
STAPHYLOCOCCUS SSP. AND STREPTOCOCCUS SPP. ISOLATED FROM  
COW'S MILK WITH MASTITIS IN SÃO LUÍS ISLAND, MA**

**ABSTRACT**

The purpose of this study was to determine the in vitro susceptibility pattern of 35 coagulase-positive *Staphylococcus* strains, 65 coagulase-negative *Staphylococcus* strains, 35 *Staphylococcus aureus* strains and 50 *Streptococcus spp.* strains isolated from cow's milk with mastitis, on 14 dairy farms in São Luís, Paço do Lumiar, Raposa e São José de Ribamar, the state of Maranhão, Brazil. The strains were assessed for sensitivity profile front to 14 antimicrobial agents, using the technique of diffusion discs following. The antibiotics that showed greater efficacy against *Staphylococcus* coagulase positive, coagulase-negative and *S. aureus* were vancomycin, sulfa + trimetropim, bacitracin and gentamicin, respectively. The penicillin, amoxicillin and ampicillin were less effective. The bacitracin, vancomycin and amoxicillin were the antimicrobials with greater efficiency to *Streptococcus spp.* and streptomycin and tetracycline were the least effective, respectively. *Staphylococcus* coagulase negative showed higher profile of multidrug with 32.65% of strains resistant to most of eight antibiotics, simultaneously. The results show that bacitracin were the most effective antibiotics against the strains isolated from mastitis, but none had 100% efficiency, showing the need to determine patterns of antimicrobial susceptibility of the causative

agents of mastitis.

**Key-words:** mastitis, antimicrobial, *Staphylococcus*, *Streptococcus*.

## INTRODUÇÃO

A mastite é uma das principais causas do uso de antimicrobianos em rebanhos leiteiros (TENHAGEN et al., 2006). A justificativa é a elevada ocorrência dessa enfermidade no gado leiteiro, provocando inúmeras perdas econômicas para o setor de leite (HUIJPS et al., 2008).

A utilização da terapia antimicrobiana é a ferramenta primária para o tratamento da mastite clínica e da mastite subclínica em programas de controle da doença (MORONI et al., 2006). Quando bem conduzida, a antibioticoterapia em vacas infectadas traz inúmeras vantagens, tais como, redução do número de microrganismos patogênicos no leite, após tratamento, aumento do número de quartos sadios, melhoramento do bem-estar animal e redução do número de vacas infectadas na propriedade leiteira (SPNOSA, 2006).

Entretanto, diversos estudos sobre a susceptibilidade de patógenos da mastite bovina a antimicrobianos apontam para um aumento crescente no padrão de resistência aos vários princípios utilizados no tratamento da doença (TEALE; DAVID, 1999; BRITO et al., 2001). As características de virulência que contribuem para persistência do agente causador no tecido mamário e o uso inadequado dos antimicrobianos nas propriedades leiteiras são os principais fatores que propiciam o aparecimento de microrganismos multirresistentes (YOUNG et al., 2001; NADER et al., 2007).

O insucesso terapêutico da mastite bovina por resistência dos agentes infecciosos aos antimicrobianos provoca impactos para a saúde animal e para a

economia do setor leiteiro, pois reduz as taxas de cura dos animais tratados, limitam as alternativas de tratamento antimicrobiano e elevam os gastos com medicamentos e assistência técnica. Além disso, tem implicações para a Saúde Pública, pois aumenta a possibilidade de contaminação química do leite e a veiculação de bactérias resistentes por meio dos produtos lácteos (UNGEMACH, 1999).

Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos são úteis para verificar o desenvolvimento de resistência dos patógenos, auxiliando o médico veterinário clínico na escolha do medicamento apropriado para o tratamento da mastite. Assim, esta pesquisa objetivou avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana “in vitro” de cepas de *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. isoladas de vacas com mastite clínica e subclínica.

## **MATERIAIS E MÉTODO**

Foram testadas um total de 50 cepas de *Streptococcus* spp., 65 de *Staphylococcus* coagulase negativo, 35 de *Staphylococcus* coagulase positivo e 35 de *S. aureus*, isoladas de quartos mamários de 217 vacas leiteiras com mastite, procedentes de 14 propriedades situadas nos municípios de São Luís, Paço do Lumiar, Raposa e São José de Ribamar, no estado do Maranhão. Foi aplicado um questionário epidemiológico aos proprietários, para se obter informações sobre as medidas de controle e tratamento da mastite adotadas nos rebanhos (Apêndice 1).

As cepas bacterianas foram isoladas, identificadas e classificadas de acordo com LENNETTE et al. (1985) e CARTER (1988). As colônias de *Staphylococcus* foram submetidas às provas bioquímicas de produção de coagulase livre, DNase, acetoina, fermentação da glicose (anaerobiose) e do manitol (aerobiose e anaerobiose), segundo

metodologia de MAC FADDIN (1980) e SILVA et al. (1997). Em seguida, foi realizada a caracterização dos estafilococos em *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus* coagulase negativo, de acordo com BAIRD-PARKER (1990).

Após isolamento e identificação, as cepas bacterianas foram repicadas em 2 mL de caldo cérebro coração (BHI) e incubadas a 37°C até atingir turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland. Após este período, as cepas foram submetidas à testes de sensibilidade “in vitro” a antimicrobianos, pelo método de difusão em discos em Ágar Müeller Hinton, seguindo as recomendações do CLSI (2000). Foram utilizados os seguintes princípios de antimicrobianos: gentamicina (10 µg), penicilina (10 U.I.), ampicilina (10 µg), vancomicina (30 µg), oxacilina (1 µg), estreptomicina (10 µg), eritromicina (15 µg), tetraciclina (30 µg), amoxicilina (10 µg), lincomicina (2 µg), norfloxacin (10 µg), enrofloxacin (5 µg), bacitracina (10 U.I.) e sulfa (25mcg) + trimetropim (5mcg).

A análise estatística dos dados obtidos foi do tipo descritiva, calculando-se as frequências absoluta e relativa (SAMPAIO, 1998).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nenhum dos princípios ativos avaliados nessa pesquisa foi 100% eficaz frente as cepas de *Staphylococcus* testadas (Tab.1). As cepas de *S. coagulase* positivo e de *S. coagulase* negativo apresentaram maior sensibilidade “in vitro” frente a ação da vancomicina (96,0% e 95,9%), sulfa+trimetropim (92,0% e 77,5%), bacitracina (92,0% e 89,8%) e a gentamicina (72% e 71,4%), respectivamente. A eficácia destes antimicrobianos está de acordo com o encontrado por FREITAS et al. (2005), que

avaliando o perfil de sensibilidade “in vitro” de *S. coagulase* positivo frente a antimicrobianos, observaram que a vancomicina foi o princípio mais eficaz (100%), seguido da norfloxacina (96,0%) e sulfa+trimetropim (95,0%), diferindo-se apenas quanto a bacitracina (48,0%) e a gentamicina (42,0%), que apresentaram baixa eficácia contra as cepas isoladas.

Quanto ao perfil de sensibilidade antimicrobiana dos *S. aureus*, verificou-se que a maioria das cepas apresentou sensibilidade a vancomicina e sulfa+trimetropim (96,0%). VIEIRA-DA-MOTA et al. (2000) verificaram índices de sensibilidade semelhante para vancomicina (100%) e CRUZ et al. (1998) para sulfa+trimetropim (98,9%). A gentamicina foi o segundo agente antimicrobiano que apresentou maior eficácia para *S. aureus*, juntamente com a bacitracina e amoxicilina, com 92,9% das cepas isoladas sensíveis a estes quimioterápicos. Os elevados índices de sensibilidade dos *S. aureus* frente a gentamicina também foram encontrados por NADER et al. (2007), ANDRADE et al. (2000), e VARGAS et al. (1996) com 98,6%, 90,72% e 95,09%, respectivamente, em diferentes regiões do país.

A alta eficácia da vancomicina frente a todos os grupos de *Staphylococcus* testados deve-se, possivelmente, a pouca utilização deste princípio no tratamento de animais. A vancomicina representa o agente de escolha para o tratamento das infecções humanas provocadas *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina, sendo raro relato de resistência adquirida à vancomicina (SHIOMORI et al., 2002). É de interesse para vigilância epidemiológica conhecer o perfil de resistência das cepas de *Staphylococcus* frente a vancomicina, visto a possibilidade de veiculação de desses microrganismos resistentes de origem animal para seres humanos, por meio dos produtos lácteos (MOTA et al., 2005).

A sulfa+trimetopim e a bacitracina apresentaram eficácia frente as cepas de *Staphylococcus*. Apesar de serem largamente utilizados no tratamento de infecções sistêmicas e tópicas em animais, não foi observado o uso desses antimicrobianos no tratamento de animais das propriedades visitadas, o que possivelmente explica os resultados encontrados. A resistência bacteriana a esses antimicrobianos não é comum, mas pode ocorrer de forma gradativa e lenta, com a exposição contínua (MEDEIROS, 2008).

Apesar de 50% das propriedades visitadas utilizarem a gentamicina no tratamento intra-mamário da mastite clínica, este antimicrobiano apresentou elevados índices de eficácia. Conforme LANGONI et al. (2000), a gentamicina é considerada um dos agentes antimicrobianos mais eficaz para tratamento das mastites estafilocócica, apresentando boa correlação *in vitro* e *in vivo*.

Avaliando o perfil de resistência dos *Staphylococcus* aos antimicrobianos testados (tabela 1), percebe-se um alto percentual do grupo *Staphylococcus* coagulase positivo (80%) e de *Staphylococcus* coagulase negativo (79,6%) resistentes a penicilina. Os índices de resistência encontrados para o *Staphylococcus* coagulase negativo, neste estudo, são semelhantes ao encontrado por CORREA et al. (2005) e MACHADO et al. (2008), 77,8% e 93,5%, respectivamente. Entretanto, foram bem superiores quando comparados com trabalhos realizados em outros países como Argentina (27,6%) (GENTILINI et al., 2002), Finlândia (37,2%) (MYLLIS et al., 1998); Estados Unidos (57%) (OWENS et al., 1997) e Dinamarca (36,1%) (AARESTRUP et al., 1995). FREITAS et al. (2005) encontraram resultados idênticos quanto a resistência de cepas de *Staphylococcus* produtores de toxinas frente a penicilina (80%), no estado de Pernambuco.



A amoxicilina e a ampicilina também apresentaram pouca eficácia, representados pelos elevados índices de resistência dos *S. coagulase positivo* (84% e 84%) e *S. coagulase negativo* (77,5% e 75,5%), respectivamente. Estes princípios, juntamente com a penicilina, fazem parte do grupo dos beta-lactâmicos. A resistência a esse grupo de antimicrobianos é atribuída a provável capacidade de produção da enzima beta-lactamase pelas bactérias, capaz de romper o anel betalactâmico, uma estrutura molecular fundamental para ação do antimicrobiano (ARCHER et al., 1994; ANDRADE et al., 2000).

Quanto a resistência da espécie *S. aureus* frente a penicilina, verificou-se também um elevado índice de resistência (96,4%) pelas cepas avaliadas. Este dado foi semelhante ao encontrado nos estados de São Paulo, 97,2% por NADER et al. (2007) e do Rio de Janeiro, 96,1% por VIEIRA-DA-MOTA et al. (2000). Índices inferiores foram encontrados na Itália, 69,1% por MORONI et al. (2006), Inglaterra, 47% por TEALE; DAVID (1999), Noruega e Suécia, 15% por AARESTRUP; JENSEN (1998).

A penicilina e outros beta-lactâmicos são considerados um dos antimicrobianos mais difundidos e utilizados no tratamento de enfermidades animais, sendo observado seu uso em três propriedades visitadas (SANTOS, 2006). De acordo com FREITAS et al. (2005), os estafilococos isolados de casos de mastite quase sempre apresentam altos índices de resistência as penicilinas, o que restringe seu uso no tratamento das mastites. A resistência a penicilina, apresentada por microrganismos isolados de casos de mastite clínica e subclínica, no Brasil, é mais elevada que as registradas em outros países, o que constitui sério problema não apenas de saúde animal, mas também de saúde pública (SPNOSA, 2006).

Um dos fatores que mais contribui para o aparecimento de linhagens bacterianas

resistentes a antimicrobianos é o tratamento inadequado da mastite nos rebanhos leiteiros, o que foi devidamente observada nas propriedades visitadas. Estas são constituídas, em sua maioria, de pequenos rebanhos, com predominância da ordenha manual, com práticas higiênicas deficientes no processo de obtenção do leite e sem adoção de um programa de controle da mastite. Em quase todas as propriedades avaliadas (92,8%), os produtores utilizam antimicrobianos de largo espectro, como a penicilina G e tetraciclina, baseando-se a escolha apenas na disponibilidade e preço do produto no mercado. Além disso, as dosagens e o tempo de aplicação do medicamento eram fundamentados em conhecimentos empíricos, sem orientação do profissional veterinário. Desse modo, observou-se que mais de 50% dos rebanhos leiteiros estudados já vivenciaram insucessos quanto ao tratamento da mastite, resultando em perdas de quartos mamários e descarte das vacas com casos crônicos da doença, sem resposta ao tratamento.

Na Tab. 2, observa-se que a bacitracina (93,4%), vancomicina e amoxicilina (92,6%) foram os antimicrobianos com maior eficácia frente as cepas de *Streptococcus spp.* Quanto aos índices de resistência, a estreptomina, a tetraciclina e a lincomicina foram os princípios que apresentaram os maiores índices com 93,4%, 85,7% e 75%, respectivamente. Confrontando esses resultados com os obtidos por RIBEIRO et al. (2001), verificou-se que foram semelhantes quanto a vancomicina que também apresentou eficácia, com 93,75% de sensibilidade, porém em relação aos índices de resistência da tetraciclina e lincomicina, os resultados foram bem superiores aos 46,88% e 59,38%, respectivamente, encontrados por esse autor.

A tetraciclina foi relatada, em 10 das 14 propriedades, como o principal antimicrobiano utilizado no tratamento de enfermidades do rebanho. Verificou-se que a

dosagem do medicamento e o tempo de tratamento com o antimicrobiano eram incorretos, baseados no tempo de manifestação dos sinais clínicos da doença. Isto, possivelmente, deve ter contribuído aos elevados índices de resistência encontrados. Segundo SOUZA (1998), a resistência a tetraciclina é mediada por plasmídeo, que confere capacidade de produção da proteína Tet, responsável pelo transporte deste antibiótico para fora da célula bacteriana. Essa resistência plasmidial é altamente transferível para outras bactérias e capaz de desenvolver resistência para outros antimicrobianos (PRESCOTT et al., 2002).

Um dado interessante é que 82,2% das cepas de *Streptococcus spp.* apresentaram sensibilidade a penicilina. Este índice é elevado quando comparado aos resultados de RIBEIRO et al. (2001) com 6,25% e BROWN; SCASSERRA (1990) com 2,6%. A utilização da penicilina pode ser sugerida no tratamento de mastite causada por *Streptococcus spp.*, ao invés, da utilização de um medicamento de última geração, nos rebanhos leiteiros avaliados.

Avaliando o perfil de resistência das cepas bacterianas a vários antibióticos testados (Fig. 1), verificou-se que a maioria dos isolados de *Staphylococcus coagulase positivo* e *S. aureus* foram resistentes a dois, três ou quatro antimicrobianos, simultaneamente. O grupo *Staphylococcus coagulase negativo* foi o que apresentou maior multirresistência, com 32% das cepas isoladas resistentes a mais de oito antimicrobianos, simultaneamente. O gênero *Streptococcus spp.* apresentou 57% dos isolados resistentes a cinco, seis ou sete princípios, simultaneamente.

A elevada multirresistência da bactéria *Staphylococcus* é relatada por vários autores (TEALE; DAVID, 1999; ANDRADE et al., 2000; VIEIRA-DA-MOTA et al., 2000; FREITAS et al., 2005; NADER et al., 2007), em especial ao grupo coagulase

negativo (GENTILINI et al., 2002; MACHADO et al., 2008). Esta característica confere as bactérias vantagem seletiva de colonização e infecção, o que constitui um sério problema para o tratamento dos animais. Apesar da maioria das cepas de *Staphylococcus* apresentar um índice intermediário de multirresistência, há forte evidência que os genes de resistência podem ser transferidos e disseminados entre diferentes populações bacterianas, inclusive entre grupos diferentes do mesmo gênero (MCDERMOTT et al., 2002). Portanto, os patógenos da mastite considerados secundários como *Staphylococcus* coagulase negativo, que apresentou elevada multirresistência aos antimicrobianos neste estudo, podem funcionar como um reservatório dos genes de resistência antimicrobiana para outras espécies de *Staphylococcus* e até outros gêneros bacterianos considerados patógenos primários da doença (ARCHER; CLIMO, 1994).

A elevada resistência bacteriana a vários antimicrobianos verificada neste estudo é preocupante, pois restringe as opções de tratamento da mastite bovina, nos rebanhos leiteiros da Ilha de São Luís. Portanto, enfatiza-se a importância da escolha do medicamento para o tratamento baseada no isolamento do agente etiológico e na realização dos testes de sensibilidade antimicrobiana. Destaca-se ainda que o sucesso do tratamento depende não apenas da sensibilidade dos agentes etiológicos, mas reflete também os mecanismos de virulência do agente infeccioso e a resposta imunológica do animal (COSTA, 1998).

## **CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos neste estudo revelam que a bacitracina é o antimicrobiano de escolha para o tratamento da mastite bovina causada por *Staphylococcus* spp. e

*Streptococcus* spp., em rebanhos leiteiros da Ilha de São Luís. Porém, há necessidade de se realizar o antibiograma para a escolha adequada do antimicrobiano para se utilizar no tratamento da mastite. Ressalta-se a importância do grupo dos *Staphylococcus* coagulase negativo como patógeno emergente com elevada multirresistência aos antimicrobianos testados.

## REFERÊNCIAS

AARESTRUP, F. M., AND N. E. JENSEN. Development of penicillin resistance among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Denmark and other countries. *Microbiology Drug Resistance*.v.4, p.247–256, 1998.

AARESTRUP, F.M.; WEGENER, H.C.; ROSDAHL, V.T. et al. *Staphylococcal* and other bacterial species associated with intramammary infections in Danish herds. *Acta Vet. Scand.*, v.36, p.475-487, 1995.

ANDRADE, M.A.; DIAS FILHO, F.C.; MESQUISTA, A.J.; ROCHA, P.T. Sensibilidade “in vitro” de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. *Ciência Animal Brasileira*, v.1, n.1, p.53-57, 2000.

ARCHER, G.L.; NIEMEYER, D.M.; THANASSI, J.A.; PUCCI, M.J. Dissemination among staphylococci of DNA sequences associated with methicillin resistance. *Antimicrobial Agents Chemother*, v.38, n.3, p.447-454, 1994.

ARCHER, G. L., M. W. CLIMO. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci. *Antimicrobial Agents Chemother*, v.38, p.2231–2237, 1994.

BAIRD-PARKER, A.C. The Staphylococci: an introduction. *Journal of Applied Bacteriology*, Oxford, v.19, p.15-85, 1990.

BARBALHO, T.C.F.; MOTA, R.A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Saúde e*

*Produção Animal*, v.2, n.2, p.31-36, 2001.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, 1966.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, R.F.; SILVA, M.A.S.; CARMO, R.A. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.53, n.5, Belo Horizonte, 2001.

BROWN, M.B.; SCASSERRA, A.E. Antimicrobial resistance in streptococcal species isolated from bovine mammary glands. *American Journal Veterinary Research*, v.51, p.2015-2018, 1990.

CARTER, G.R. *Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária*. 1ed. São Paulo: Roca, 1988. 249p.

CORREA, I.; CORREA, M.G.P.; MARIN, J.M. Antimicrobial susceptibility of strains of coagulase-positive *Staphylococcus* isolated from mastitic bovine milk. *ARS Veterinária*, v.21, p.69-76, 2005.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. *Rev. Educação Continuada*. CRMV-SP, v. 1, p. 3- 9, 1998.

COSTA, E.O.; GARINO JR, F.; WATANABE, E.T.; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B. Proporção de ocorrência de mastite clínica em relação à subclínica correlacionada aos principais agentes etiológicos. São Paulo: *Napgama*, v.4, n.3, p.10-13, 2001.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; WHITE, C.R.; PARDO, R.B. Índices de mastite clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.17, p.215-7, 1995.

- CRUZ, A.D. Atividade *in vitro* do danofloxacin e de sete drogas antimicrobianas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. São Paulo, v.50, n.4, p.369-373, 1998.
- DINGES, M.M; ORWIN, P.M; SCHLIEVERT, P.M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, v.13, p.16-34, 2000.
- FREITAS, M.F.L. de; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; STAMFORD, T.L.M.; RABELO, S.S. de A.; SILVA, D.R. da; SILVEIRA FILHO, V.M. da; SANTOS, F.G.B.; SENA, M.J. de; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de leite de vacas com mastite no agreste do Estado de Pernambuco. *Arquivo do Instituto Biológico*, v.72, n.2, p.171-177, 2005.
- GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR,A.; REBUELTO, M.; FERMEPIN, R.M.; DE TORRES, R.A.. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis in Argentina. *Journal Dairy Science*, v.85, p.1913-1917, 2002.
- HUIJPS, K.; LAM, T.JGM; HOGEVEEN, H.; Costs of mastitis: facts and perception. *Journal of Dairy Research*, v.75, p.113-120, 2008.
- LANGONI, H; PINTO, M. P; DOMINGUES, P. F; LISTONI, F. J. P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia*, v. 43, n. 6, p. 507-515, 1991.
- LANGONI, H.; MENDONÇA, A. O.; DEVELLEY, A. Avaliação do uso da associação da bromexina com gentamicina no tratamento da mastite subclínica bovina. *Revista Napgama*, n. 1, p. 4-7, 2000.
- LENNETTE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER Jr., W.J. & SHADOMY, H.J. *Manual of clinical microbiology*. 4ed. Washington; American Society of Microbiology. 1985.

1149p.

MACHADO, T.R.O; CORREA, M.G.; MARIN, J.M. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from mastitic cattle in Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.1, p.278-282, 2008.

MACDONALD, J.S.; MCDONALD, T.J.; STARK, D.R. Antibigrams of Streptococci isolated from bovine intramammary infection. *American Journal Veterinary Research*, v.37, p.1185-1188, 1976.

MAC FADDIN, J.F. *Biochemical test for identification of medical bacteria*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980. 527p.

MCDERMOTT, P.F.; ZHAO, S.; WAGNER, D.D. et al. The food safety perspective of antibiotic resistance. *Animal Biotechnology*, v.13, p.71-84, 2002.

MEDEIROS, E. S. DE. *Perfil de sensibilidade in vitro de Staphylococcus spp. frente a antimicrobianos e desinfetantes utilizados no controle da mastite bovina*. 2008. 90f. Tese (Mestrado em Ciência Veterinária). Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008

MYLLYS, V., K. ASPLUND, E. BROFELDT, V. HIRVELA-KOSKI, T. HONKANEN- BUZALSKI, J. JUNTILA, L. KULKAS, O. MYLLYKANGAS, M. NISKANEN, H. SALONIEMI, M. SANDHOLM, AND T. SARAMPA-A. Bovine mastitis in Finland in 1988 and 1995—Changes in prevalence and antimicrobial resistance. *Acta Veterinary Scand*, v.39, p.119–126, 1998.

MORONI, P. PISONI, G.; ANTONINI, M.; VILLA, R.; BOETTCHER, P.; CARLI, S. Curta comunicação: susceptibilidade às drogas antimicrobianas de Staphylococcus aureus oriundos de mastites bovinas subclínicas na Itália. *Journal Dairy Science*. Champaign, v.89, p.2973-2976, 2006.



MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; FREITAS, M.F.L.; PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v.42, n.6, p.465-470, 2005

NADER FILHO, A.; FERREIRA, L.M.; do AMARAL L.A.; ROSSI JUNIOR, O.D. OLIVEIRA, R.P. Sensibilidade antimicrobiana dos Staphylococcus aureus isolados no leite de vacas com mastite. *Arquivo do Instituto Biológico*, v.74, n.1, p.1-4, jan./mar., 2007.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. Approved Standard M2-A5 NCCLS, Villanova, PA, 2000.

OWENS, W. E., C.H. RAY, J. L. WATTS, AND R. J. YANCEY. Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility test for bovine mastitis. *Journal Dairy Science*, v.80, p.313–317, 1997.

PRESCOTT, J.F.; BAGGOT, J.D.; WALKER, R.D. *Antimicrobial therapy in Veterinary Medicine*. Ames: Iowa State University Press, 2002.

RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B.; GARINO Jr, F.; COSTA, E.O. *Streptococcus uberis* isolados de mastite bovina: avaliação da susceptibilidade “in vitro” aos antibióticos, quimioterápicos e antisépticos, *Napgama*, v.4, n.2, p.16-19, 2001.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SANTOS, C.D.M. Staphylococcus e enterobactérias isoladas de mastite recorrente de oito rebanhos da Região de Uberlândia-MG: perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, 2006. 69p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias).

Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2006.

SCHALM, O.W.; CASRROLL, E.J.; JAIN, N.C. *In Bovine mastitis*. Philadelphia: Lea e Febiger, 1971.

SHIOMORI, T.; MIYAMOTO, H.; MAKISHIMA, K.; YOSHIDA, M.; FUJIYOSHI, T.; UDAKA, T.; INABA, T.; HIRAKI, N. Evaluation of bedmaking-related airborne and surface methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination. *Journal Hospital Infections*, v. 50, n. 1, p.30-35, 2002.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, 1997. 295p.

SOUZA, E.C. Bactérias ultra-resistentes. *Ciência Hoje*. Belo, v.23, n.138, p.27-35, 1998.

SPNOSA, H.S. *Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária*. São Paulo: Editora Guanabara Koogan, 4 ed. 2006. 918p.

TEALE, C.J; DAVID, G.P. Antibiotic resistance in mastitis bacteria. *Proceedings of the British Mastitis Conference*. p24-29, 1999.

TENHAGEN, B.A.; KÖSTER, G.; WALLMANN, J.; HEUWIESER, W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in Dairy Cows in Brandenburg, Germany. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.2542-2551, 2006.

UNGEMACH, F. R. Einsatz von Antibiotika in der Veterinärmedizin: Konsequenzen und rationaler Umgang. *Tierarztl Prax Journal Articles*, v.27, p.:335–340, 1999.

VARGAS, A.C.; L AZZARINI, A.; DUTRA, V.; WEISS, L.H.N.; FERREIRA, G.L.; F LORES, L.A.S. Agentes infecciosos mais prevalentes em mastite bovina na região de Santa Maria, RS – Perfil de sensibilidade *in vitro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 24., 1996, Goiânia. *Anais*. Goiânia: Sociedade Goiana de

Medicina Veterinária, 1996. p.119.

VIEIRA-DA-MOTTA, O.; DONATELE, D. M.; OLIVEIRA, P. R. DE; FOLLY, M. M. *Staphylococcus aureus* sensíveis à metilina provenientes de leite mastítico no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.7, p.2, p.123-126, 2000.

YOUNG, F.; PLATT, D.; LOGUE, D.; TERNENT, H.; FITZPATRICK, J. Bovine *Staphylococcus aureus* mastitis: strain recognition and dynamics infection. *Journal of Dairy Research*, v.68, p.377-388. 2001

**Tabela 1:** Freqüência relativa (%) da sensibilidade (S), sensibilidade intermediária (I) e resistência (R) “in vitro” de 35 cepas de *Staphylococcus* coagulase positivo, 65 de *Staphylococcus* coagulase negativo e 35 de *S. aureus* isoladas de vacas, frente a antimicrobianos, São Luís-MA, 2008

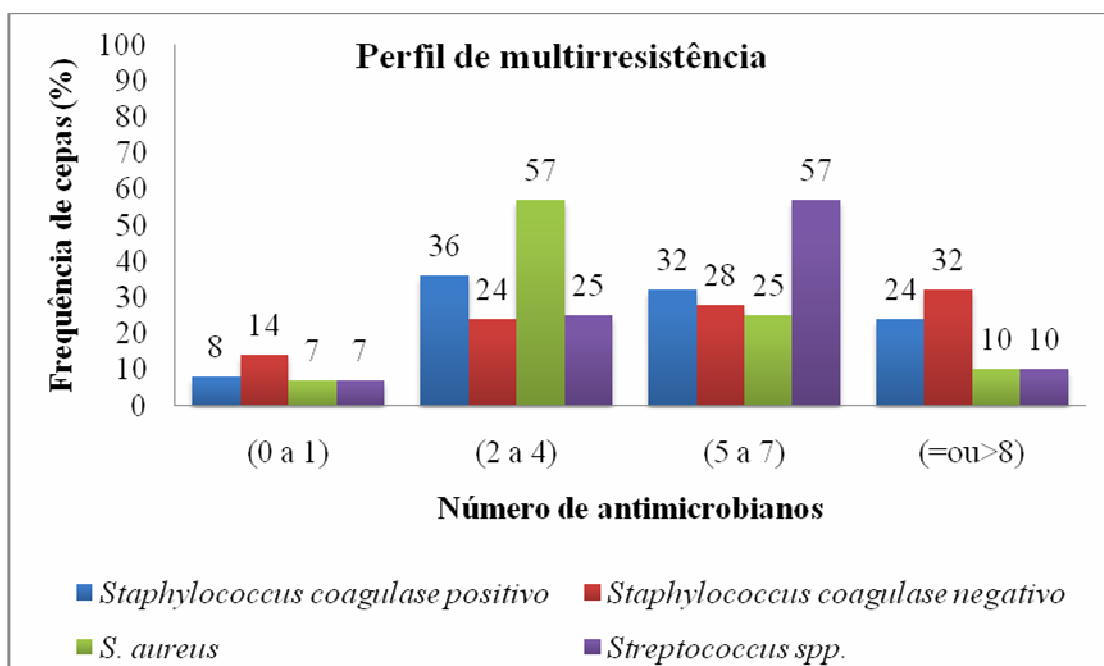
Antimicrobiano	S.coagulase positivo			S.coagulase negativo			S. aureus		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
AMP	16,0	0,0	84,0	24,5	0,00	75,5	89,3	0,0	10,7
AMO	16,0	0,0	84,0	22,5	0,00	77,5	92,9	0,0	7,1
BAC	92,0	8,0	0,0	89,8	6,1	4,1	92,9	0,0	7,1
EST	60,0	0,0	40,0	40,8	0,00	59,2	78,6	0,0	21,4
ERI	44,0	24,0	32,0	63,3	22,3	14,3	53,6	28,6	17,8
ENR	60,0	8,0	32,0	67,4	12,2	20,4	89,3	3,6	7,1
GEN	72,0	0,0	28,0	71,4	0,0	28,6	92,9	0,0	7,1
LIN	8,0	40,0	52,0	18,4	28,6	53,0	10,7	46,4	42,9
NOR	68,0	20,0	12,0	65,1	24,5	10,2	92,8	3,6	3,6
OXA	68,0	0,0	32,0	63,3	0,0	36,7	78,6	3,6	17,8
PEN	20,0	0,0	80,0	20,4	0,0	79,6	3,6	0,0	96,4
SXT	92,0	0,0	8,0	77,5	0,0	22,5	96,4	0,0	3,6
TET	48,0	8,0	44,0	61,2	0,0	38,8	75,0	0,0	25,0
VAN	96,0	0,0	4,0	95,9	0,0	4,1	96,4	0,0	3,6

AMP - ampicilina; AMO - amoxicilina; BAC - bacitracina; EST - estreptomicina; ERI - eritromicina; ENR - enrofloxacina; GEN - gentamicina; LIN - lincomicina; NOR - norfloxacina; OXA - oxaciclina; PEN - penicilina; SXT - sulfametaxazol-trimetropim; TET - tetraciclina; VAN - vancomicina

**Tabela 2:** Frequência relativa (%) da sensibilidade (S), sensibilidade intermediária (I) e resistência (R) “in vitro” de 50 cepas de *Streptococcus spp.* isoladas de vacas com mastite, frente a antimicrobianos, São Luís - MA, 2008

<b>Antimicrobiano</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
AMP	89,3	0,0	10,7
AMO	92,9	0,0	7,1
BAC	93,4	3,6	0,0
EST	6,6	0,0	93,4
ERI	21,4	28,6	50,0
ENR	82,1	14,3	3,6
GEN	32,2	10,7	57,1
LIN	25,00	0,0	75,0
NOR	60,7	25,0	14,3
OXA	78,6	0,0	21,4
PEN	82,2	10,7	7,1
SXT	67,9	0,0	32,1
TET	10,7	3,6	85,7
VAN	92,9	0,0	7,1

AMP - ampicilina; AMO - amoxicilina; BAC - bacitracina; EST - estreptomicina; ERI - eritromicina; ENR - enrofloxacina; GEN - gentamicina; LIN - lincomicina; NOR - norfloxacina; OXA - oxaciclina; PEN - penicilina; SXT - sulfametaxazol-trimetropim; TET - tetraciclina; VAN - vancomicina



**Figura 1:** Perfil de multirresistência antimicrobiana de 35 cepas de *Staphylococcus coagulase positivo*, 65 de *Staphylococcus coagulase negativo*, 35 de *S. aureus* e 50 de *Streptococcus spp.* isoladas de vacas com mastite, São Luís, MA, 2008.

## CONCLUSÕES GERAIS

- O rebanho leiteiro da Ilha de São Luís apresentou elevada freqüência da mastite clínica e subclínica;
- Os agentes etiológicos isolados dos casos de mastite bovina foram os *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, leveduras e bacilos Gram negativos.
- As cepas bacterianas isoladas dos rebanhos estudados apresentaram perfil de resistência a vários antimicrobianos, principalmente ao grupo dos beta-lactâmicos e tetraciclina.
- O antimicrobiano bacitracina foi o princípio de escolha para o tratamento das mastites causadas por *Staphylococcus* e *Streptococcus*, nos rebanhos avaliados.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, sugere-se a implementação de medidas direcionadas para melhorar as condições higiênico-sanitárias durante a ordenha, nas propriedades leiteiras da Ilha de São Luís. Deve-se ainda adotar um programa de controle da mastite, como forma de melhorar a produtividade e a qualidade do leite produzido nesses locais.

Alerta-se que a utilização dos antimicrobianos para o tratamento da mastite bovina deve ser orientada por um profissional médico veterinário e auxiliada pela avaliação do perfil de sensibilidade antimicrobiana dos agentes causadores da doença.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L.A. do B.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; PIRES, M. de F.Á.; BENITES, N.R. Benites. Tratamento de mastite clínica experimental por meio de ordenhas múltiplas em vacas leiteiras inoculadas com *Staphylococcus aureus*. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.1, p.1-6, jan./mar., 2005.

ALMEIDA, M.A.C.; SILVA, F.F. Prevalência de mastite subclínica em bovinos por *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. na microrregião de Garanhuns. **Ciência Veterinária Tropical**, v.1, n.1, p.18-24, 1998.

ANDRADE, M.A.; DIAS FILHO, F.C.; MESQUISTA, A.J.; ROCHA, P.T. Sensibilidade “in vitro” de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n.1, p.53-57, 2000.

ANDREI, E. **Compêndio veterinário: dicionário brasileiro de medicamentos veterinários**, 30 ed. São Paulo: Andrei. 1999. p.804-805.

ARCHER, G. L.; CLIMO, M. W.. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. **Antimicrobial Agents Chemother.** v.38, p.2231–2237, 1994.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins: a review. **International Journal Food Microbiology**, v.61, p.1-10, 2000.

BARBALHO, T.C.F.; MOTA, R.A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.2, n.2, p.31-36, 2001.

BARBERIO, A.; GIETL, H.; DALVIT, P. “In vitro” sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* e coliformes isolados de mastite bovina na região de Veneto, Itália, no período de 1996-1999. **Napgama**, v.5, n.1, p.10, 2002.

BEAUDEAU F., FOURICHON C., SEEGERS H. & BAREILLE N. Risk of clinical mastitis in dairy herds with a high proportion of low individual milk somatic-cell counts. **Preventive Veterinary Medicine**, v.53, p.43-54, 2002.



BRABES, K.C.S.; ANDRADE, N.J.; MENDONÇA, R.C.S.; LIMA, J.C.; LOPES. Participação de espécies coagulase positivas e negativas produtoras de enterotoxinas de gênero *Staphylococcus* na etiologia de casos de mastite bovina em propriedades de produção leiteira dos estados de São Paulo e Minas Gerais. São Paulo: **Napgama**, v.3, p.4-11, 1999.

BRADLEY, A.J. Bovine mastitis: an evolving disease. **Veterinary Journal**, v.164, p.116-128, 2002.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO J.R.F.; RIBEIRO, M.T. et al. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.51, n.2, p.33-35, 1999

BUENO, V.F.F; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.de; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B.; COSTA, E.O.da; COELHO, K.O.; COUTO, D.V. Etiologia e suscetibilidade a antimicrobianos dos agentes da mastite bovina isolados na região de Pirassununga- SP-Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.32, n.1, p.33-43, jan./jun, 2003.

CARTER, G.R. **Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária**. 1ed. São Paulo: Roca, 1988. 249p.

COENTRÃO, C.M.; SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; PAIVA E BRITO, W.; LILENBAUM, W. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**. V.60, n.2, p.283-288, 2008.

CORREA, I.; CORREA, M.G.P.; MARIN, J.M. Antimicrobial susceptibility of strains of coagulase-positive *Staphylococcus* isolated from mastitic bovine milk. **ARS Veterinária**, v.21, p.69-76, 2005.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Rev. Educação Continuada**. CRMV-SP, v. 1, p. 3- 9, 1998.

COSTA, E.O.; GARINO JR, F.; WATANABE, E.T.; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B. Proporção de ocorrência de mastite clínica em relação à subclínica correlacionada aos principais agentes etiológicos. São Paulo: **Napgama**, v.4, n.3, p.10-13, 2001.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; WHITE, C.R.; PARDO, R.B. Índices de mastite clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.17, p.215-7, 1995.

COSTA, G.M.; SILVA, N.DA; ROSA, C.A.; FIGUEREIDO, H.C.P.DA; PEREIRA, U.P. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1938-1942, out, 2008.

CUNHA, A.P.; SILVA, L.B.G. da; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; SILVA, D.R. da; OLIVEIRA, A.A. da; SILVA, K.P.C. da; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade microbiana de agentes contagiosos e ambientais isolados de mastite clínica e subclínica de búfalas. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.17-21, jan./mar., 2006.

DELLA LIBERA, A.M.M.P.; ARAUJO, W.P.; COSTA, E.O.; GARCIA, M.; TÁVORA, J.F.P.; BENATTI, L.A.T. Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas sem alterações ao exame físico da glândula mamária e com alta contagem de células somáticas. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v.1, n.2, p.42-47, 2001.

DIAS, R.V. da C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasília**, v.1, n.1, p.23-27, 2007.

DINGES, M.M; ORWIN, P.M; SCHLIEVERT, P.M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, v.13, p.16-34, 2000.

DINGWELL R.T.; LESLIE, K.E.; SCHUKKEN, Y.H.; SARGEANT, J.M.; TIMMS, L.L.; DUFFIELD, T.F.; KEEFE, G.P.; KELTON D.F; LISSEMORE, K.D.; CONKLIN, J. Association of cow and quarter-level factors at dryving-off with new intramammary infections during the dry period. **Preventive Veterinary Medicine**, v.63, p.75-89, 2004.

ELAD, D. et al. Feed contamination with *Candida krusei* as a probable source of mycotic mastitis in dairy cows. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.207, n.5, p.620-622, 1995.

ERSKINE, R.J.; KIRK, J.H.; TYLER, J.W.; DEGRAVES, F.J. Advances in the

therapy for mastitis. **Veterinary clinics north American Food Animal Practice**, v.9, n.3, p.499-513, 1993

FERREIRA, J.L.; LINS, J.L.F.H.A.; CAVALCANT, T.V.; MACEDO, N.A. de; BORJAS, A. de los R. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. **Ciência animal Brasileira**, v.8, n.2, p.261-266, abr./jun, 2007.

FREITAS, M. do A.Q. DE; MAGALHÃES, H. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus aureus*, isolados de vacas com mastite. **Revista de Microbiologia**, v.21, n.4, p.315-9, out./dez. 1990.

FREITAS, M.F.L. de; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; STAMFORD, T.L.M.; RABELO, S.S. de A.; SILVA, D.R. da; SILVEIRA FILHO, V.M. da; SANTOS, F.G.B.; SENA, M.J. de; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de leite de vacas com mastite no agreste do Estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.72, n.2, p.171-177, 2005.

GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR, A.; REBUELTO, M.; FERMEPIN, R.M.; DE TORRES, R.A.. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis in Argentina. **Journal Dairy Science**, v.85, p.1913-1917, 2002.

HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003. 446p.

INNINGS A., KRABBE M., ULLBERG M. & HERRMANN B. Identification of 43 *Streptococcus* species by pyrosequencing analysis of the *rnpB* gene. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, p. 5983-5991, 2005.

JAY, J.M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1994. 804p.

LAFFRANCHI, A.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C. DE; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, J.A.; SALVADOR, R. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, v.31, n.6, p.1027-1032, 2001.

LANGE, C.; CARDOSO, M.; PIANTA, C. Epidemiological characterization of *S.*

*aureus* isolated from bovine mastitis in Porto Alegre, Brasil. **Revista de Microbiologia**, v.28, p.215-219, 1997.

LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; PINTO, M.P.; LISTONI, F.J. P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 43, n. 6, p. 507-515, 1991.

LIMA, M.C.G.; SENA, M.J.; MOTA, R.A.; ALMEIDA, C.C.; SILVA, R.P.P.E. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo c produzido na Região Agreste do Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, n.1, p.89-95, 2006.

LONGO, F. et al. Quelques données épidémiologiques sur les mammites subcliniques de la vache laitière. **Revue Méd. Vet.** v.145, n.1, p. 43-47, 1994.

MACHADO, T.R.O; CORREA, M.G.; MARIN, J.M. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from mastitic cattle in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.278-282, 2008.

MEDEIROS, E. S. DE. **Perfil de sensibilidade *in vitro* de *Staphylococcus* spp. frente a antimicrobianos e desinfetantes utilizados no controle da mastite bovina.** 2008. 90f. Tese (Mestrado em Ciência Veterinária). Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; FREITAS, M.F.L.; PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.42, n.6, p.465-470, 2005

MÜLLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, 2., 2002, Toledo. **Anais...** Maringá: Nupel, 2002. p.206-207.

NADER FILHO, A . Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 2, p. 53-56, 1985.

NADER FILHO, A.; FERREIRA, L.M.; do AMARAL L.A.; ROSSI JUNIOR, O.D. OLIVEIRA, R.P. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.74, n.1, p.1-4, jan./mar., 2007.

OLIVEIRA, C.A.F.; FONSECA, L.F.L.; GERMANO, P.M.L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, v. 13, n.62, jun., p.10-16, 2000

PRESTES, D.S.; FILAPPI, A.; CECIM, M. Susceptibilidade à mastite: fatores que influenciam – uma revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia Veterinária e Agronomia**, Uruguiana, v.9, n.1, p.48-59, 2003.

QUINN, P.J., CARTER, M.E., MARKEY, B., CARTER, G.R. **Clinical veterinary Medicine**, London: Mosby-Year ed., 1994, 648p.

RADOSTITS, O. M., Blood D.C. & Gay, C.C. **Clínica Veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1737 p. 2002.

RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B.; GARINO Jr, F.; COSTA, E.O. *Streptococcus uberis* isolados de mastite bovina: avaliação da susceptibilidade “in vitro” aos antibióticos, quimioterápicos e antisépticos, **Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária e Produção de Leite**, v.4, n.2, p.16-19, 2001.

RIBEIRO, M.E.R.; PETRINI, L.A.; AITA, M.F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JR, W.; GOMES, J.F.; SCHRAMM, R.C.; MARTINS, P.R.; BARBOSA, R.S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agropecuária**, v.9, n.3, p.287-290, jul-set, 2003.

ROSENBERGER, G. **Enfermidades de los Bovinos**. Vol 2. Editora Hemisfério Sul, Buenos Aires. 1989. 135p.

SÁ, M.E.P. de; CUNHA, M. de L.R. de S. da; ELIAS, A.O.; VICTÓRIA, C.; LANGONI, H. Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, n.5, 2004.

SÁ, M.E.P.de; MOTA, R.A.; SOUZA, M.I.de; OLIVEIRA, A.A. da F. Etiologia da mastite subclínica em bovinos leiteiros do agreste meridional do Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.7, n.2, p.100-103, maio/ago. 2000.

SAMARA, S.I.; PRATA, L.F.; DUTRA, I.S. Diagnóstico da situação sanitária do gado leiteiro em pitangueiras, SP: III-Mastite. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.12, n.2, p. 141-7, 1996.

SANTOS, E.M.P DOS; BRITO, M.A.V.P.; LANGE, C.; BRITO, J.R.F.; CERQUEIRA, M.M.P. Streptococcus e gêneros relacionados como agentes etiológicos de mastite bovina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.1, p.17-27, 2007.

SANTOS, M.V. DOS ; FONSECA, L.F.L.da. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1 ed. Bauru: Editora Manole, 2007.

SVILAND, S.; WAAGE, S. Clinical bovine mastitis in Norway. **Preventive Veterinary Medicine**, v.54, p.65-78, 2002.

SCHALM, O.W.; CASRROLL, E.J.; JAIN, N.C. **In Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1971.

SOMMERHAUSER J., KLOPPERT B., WOLTER W., ZSCHOCK M., SOBIRAJ A. & FAILING K. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. **Veterinary Microbiology**, n.96, p.91-102, 2003.

SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; MOREIRA, E.C. BRITO, M.A.V.P.; BASTOS, R.R. Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, supl. 2, p.251-260, 2005.

SPNOSA, H.S. **Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária**. São Paulo: Editora Guanabara Koogan, 4 ed. 2006. 918p.

TEALE, C.J; DAVID, G.P. Antibiotic resistance in mastitis bacteria. **Proceedings of the British Mastitis Conference**. p24-29, 1999.

THIERS, F. de O.; BENITES, N.R.; RIBEIRO, A.R.; COSTA, E.O. da. Correlação entre contagem direta de células somáticas e o teste de "Califórnia Mastitis Test" (CMT) no leite de vacas. **Napgama**, ano 2, n.4, 1999.

VARGAS, A.C.; LAZZARINI, A.; DUTRA, V.; WEISS, L.H.N.; FERREIRA, G.L.; FLORES, L.A.S. Agentes infecciosos mais prevalentes em mastite bovina na região de Santa Maria, RS – Perfil de sensibilidade *in vitro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 24., 1996, Goiânia. **Anais**. Goiânia: Sociedade Goiana de Medicina Veterinária, 1996. p.119.

VICTORIA, C.; DA SILVA, A.V.; ELIAS, A.O.; LANGONI, H. **Corynebacterium bovis** e os padrões de contagem de células somáticas no Brasil. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia, UNIPAR, v.8, n.2, p.161-164, 2005.

VIEIRA-DA-MOTTA, O.; DONATELE, D. M.; OLIVEIRA, P. R. DE; FOLLY, M. M. Staphylococcus aureus sensíveis à meticilina provenientes de leite mastítico no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.7, p.2, p.123-126, 2000.

VOLTOLINI, T.V.; SANTOS, G.T. dos; ZAMBOM, M.A.; RIBAS, N.P.; MÜLLER, E.E.; DAMASCENO, J.C.; ÍTAVO, L.C.V.; VEIGA, D.R. da. Influência dos estágios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.23, n.4, p.961-966, 2001.

WATTIAUX, A.W. Mastite: a doença e sua transmissão. In: WATTIAUX, A.W., **Dairy Essential Four Topics**. 3. ed. Madison: The Babcock Institute for International Dairy Research, p.89-92, 1999.

ZAFALON, L.F.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J.V.; RESENDE, F.D. Comparação entre o *California Mastitis Test* e a contagem de células somáticas como métodos auxiliares para diagnóstico da mastite subclínica por *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium* spp. **B.Industr.anim.**, N.Odessa, n.1, p.63-69, 2005.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw Milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, v.345, p.15-18, 2000

ZSCHÖCK, M; RIBE, K.; SOMMERHAUSER, J. Ocurrence and clonal relatedness of secl/tst- gene positive *Staphylococcus aureus* isolated of quartermilk samples of cows suffering from mastitis. **Letters in Applied Microbiology**, United Kingdon, v.38, p.493-498, 2004.



## **APÊNDICES**

**APÊNDICE 1: Inquérito epidemiológico da mastite bovina aplicado às propriedades leiteiras da Ilha de São Luís**

PESQUISA DA OCORRÊNCIA DA MASTITE BOVINA EM VACAS LEITEIRAS  
DA ILHA DE SÃO LUÍS, MA

Conduzida: Daniela Aguiar Penha, Mestranda em Ciências Veterinárias, UEMA

**QUESTIONÁRIO DO PRODUTOR**

Proprietário do rebanho: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Nome da propriedade: \_\_\_\_\_

1. N° total de animais: \_\_\_\_\_ 2. N° de vacas em lactação: \_\_\_\_\_

3. Produção média de leite/dia: \_\_\_\_\_ 4. N° de ordenhas/dia e horário: \_\_\_\_\_

5. Raça (cruzamento): \_\_\_\_\_

6. Sistema de criação:  semi-extensivo  intensivo

7. Qual é o tipo de alimentação das vacas leiteiras?

forragem  concentrados  forragem+ concentrado + suplemento mineral

concentrado+ suplemento mineral

OBS: \_\_\_\_\_

8. Como é o acesso ao alimento?  cocho  pasto

9. Qual é a origem da água utilizada na sala de ordenha?

CAEMA  poço artesiano  poço superficial  açudes

10. Realiza teste da caneca de fundo escuro para diagnosticar mastite? Qual é a freqüência?

sim  não Freqüência: \_\_\_\_\_

11. Realiza o teste CMT? Qual é a freqüência?

sim  não Freqüência: \_\_\_\_\_

12. Separa as vacas com mastite dos outros animais durante a ordenha?

sim  não

13. Faz algum tratamento antibiótico nas vacas com mastite?  sim  não

14. Qual é o produto utilizado no tratamento? \_\_\_\_\_

15. Qual é a dose e o tempo de duração dos tratamentos? \_\_\_\_\_

16. Qual período é realizado?  período seco  período de lactação

17. Já teve perda de quartos mamários por causa da mastite? Qual foi a causa?  sim  não Causa: \_\_\_\_\_

18. Já descartou alguma vaca com mastite que não melhorava com o tratamento?  sim  não

19. Faz controle de moscas?  sim  não

20. Os bezerros costumam apresentar diarreias?  sim  não

21. Já houve casos de alguma doença no rebanho leiteiro? Qual?

sim  não Doença ou sintoma: \_\_\_\_\_

22. O rebanho é vacinado? Contra qual doença?

sim  não Vacina contra: \_\_\_\_\_

23. Qual é o destino do leite produzido na propriedade?

OBS: \_\_\_\_\_

**OBSERVAÇÃO**  
**MANEJO GERAL DA ORDENHA**

1. Bezerro ao pé da vaca para indução da ordenha?  sim  não
2. Teste da caneca de fundo preto é feito?  sim  não
3. É feita a lavagem dos tetos?  sim  não
4. Utiliza algum produto desinfetante para limpeza dos tetos antes da ordenha? Qual é o produto utilizado e a concentração?  sim  não  
Produto: \_\_\_\_\_ Concentração: \_\_\_\_\_
5. Faz secagem dos tetos?  sim  não
6. Qual é o material utilizado para secagem dos tetos?  pano individual  
 pano coletivo  esponja  toalha descartável  outro: \_\_\_\_\_
7. Utiliza algum produto desinfetante para limpeza dos tetos depois da ordenha? Qual é o produto utilizado e a concentração?  sim  não  
Produto: \_\_\_\_\_ Concentração: \_\_\_\_\_
8. Armazenamento do leite ordenhado:  latões  tanques  baldes

**INSTALAÇÕES**

• **SALA DE ORDENHA**

13. Presença de cobertura?  sim  não
14. Tipo de cobertura:  amianto  telha  palha  Outro: \_\_\_\_\_
15. Tipo de piso:  concreto  terra batida  Outro: \_\_\_\_\_
16. Presença de pedilúvio?  sim  não
17. Iluminação adequada?  sim  não
18. Ventilação adequada:  sim  não
19. Acúmulo de dejetos?  sim  não
20. Presença de moscas?  sim  não
21. Excesso de umidade?  sim  não
22. Qual é o destino dos dejetos? \_\_\_\_\_

• **ÁREA DE DESCANDO PÓS-ORDENHA**

22. Presença de lama ou barro?  sim  não
23. Tipo de piso  maravalha  palha  terra batida  pasto  concreto
24. Excesso de umidade?  sim  não

• **PERFIL HIGIÊNICO DO ORDENHADOR**

25. Lava as mãos antes da ordenha?  sim  não
26. Unhas curtas e limpas?  sim  não
27. Fardamento completo e limpo?  sim  não
28. Afecções cutâneas nas mãos?  sim  não
29. Realiza a anti-sepsia das mãos?  sim  não

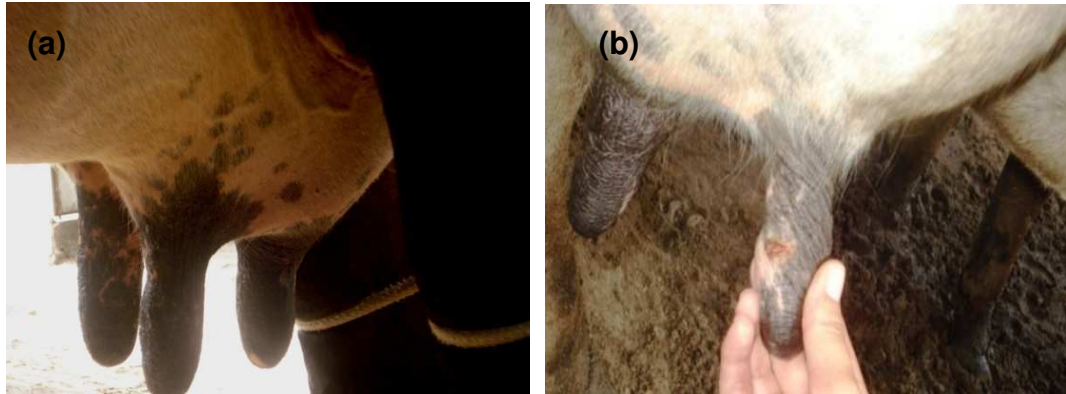
OBS:

Data da visita: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Horário da visita: \_\_\_\_\_

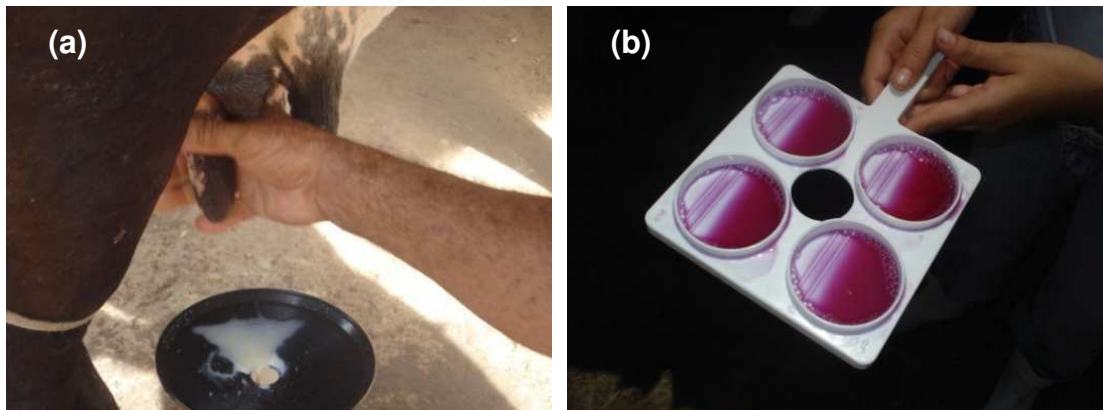


**APÊNDICE 3: Procedimentos de coletas das amostras de leite de vacas com mastite clínica e subclínica, em propriedades leiteiras da Ilha de São Luís, MA.**

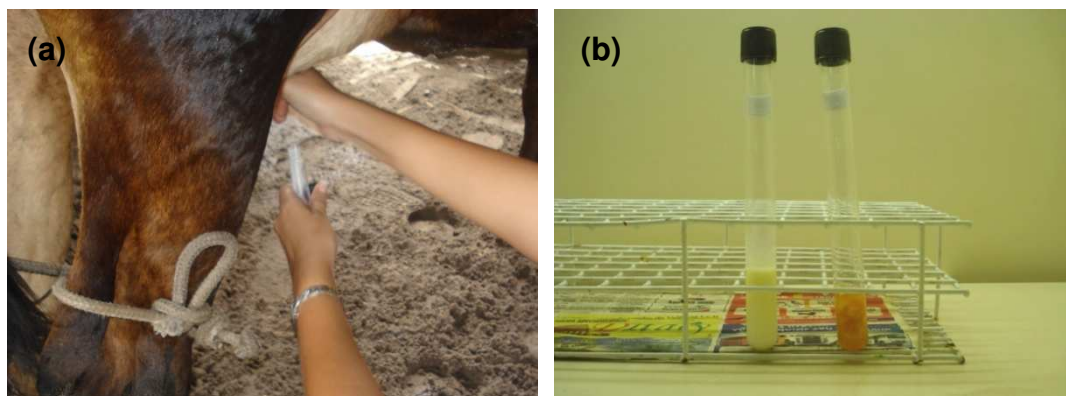
Apêndice 3.1: Quarto mamário posterior esquerdo com sinais de inflamação (a) e teto com lesão (b)



Apêndice 3.2: Diagnóstico da mastite clínica utilizando a caneca de fundo escuro (a) e diagnóstico da mastite subclínica utilizando o CMT (b)

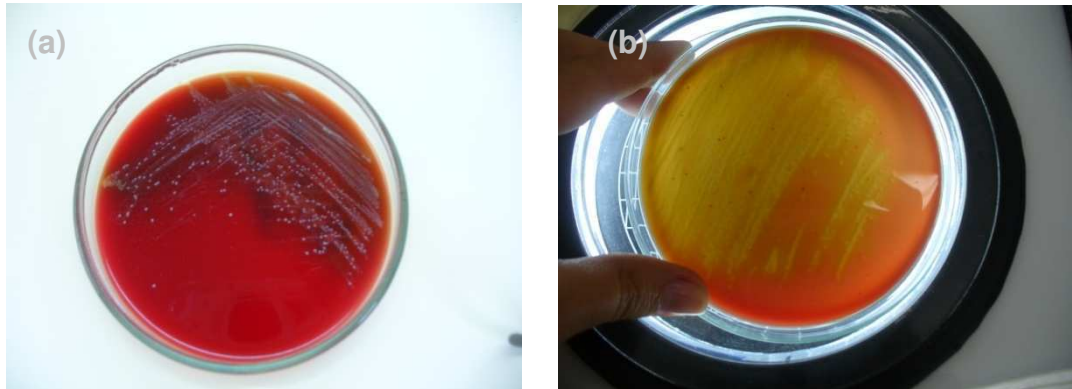


Apêndice 3.2: Coleta (a) e acondicionamento (b) das amostras de leite em frascos estéreis

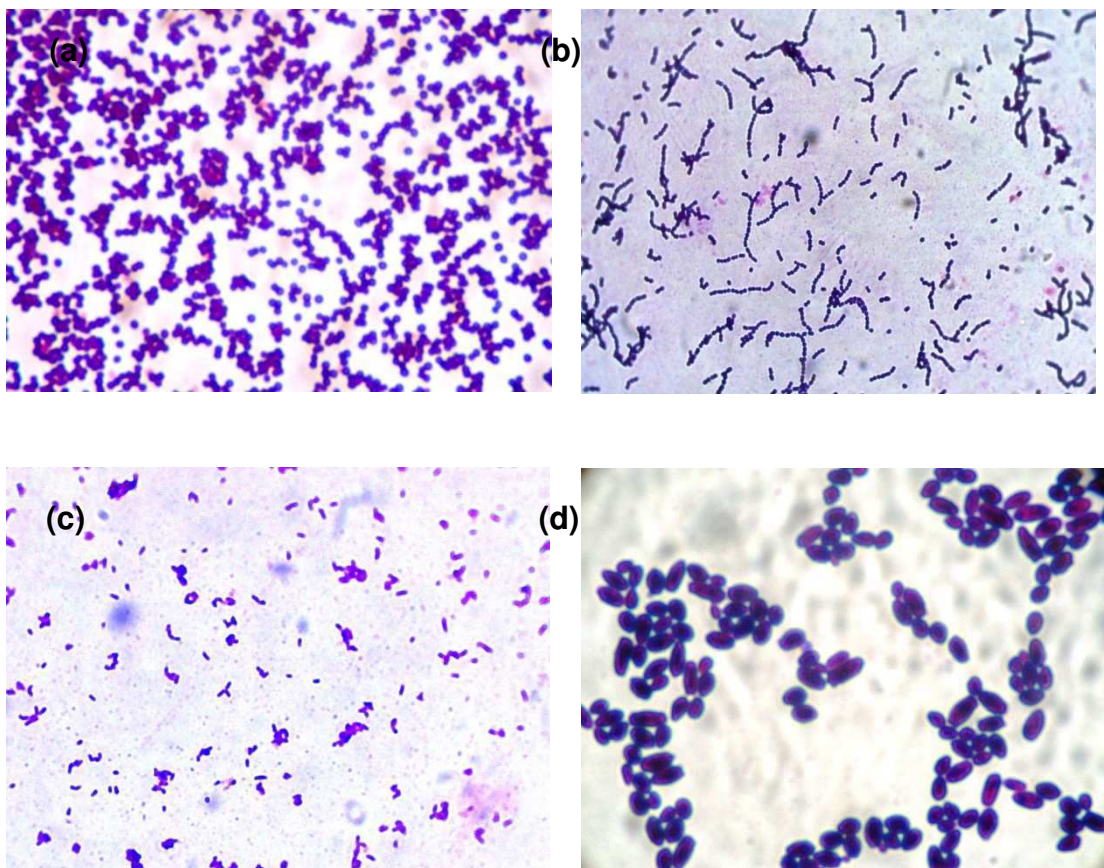


**APÊNDICE 4: Isolamento e identificação de microrganismos das amostras de leite, procedentes de vacas com mastite.**

Apêndice 4.1: Crescimento de colônias bacterianas (a) e hemólise do tipo beta (total) em ágar sangue base, acrescido de 5% de sangue de carneiro

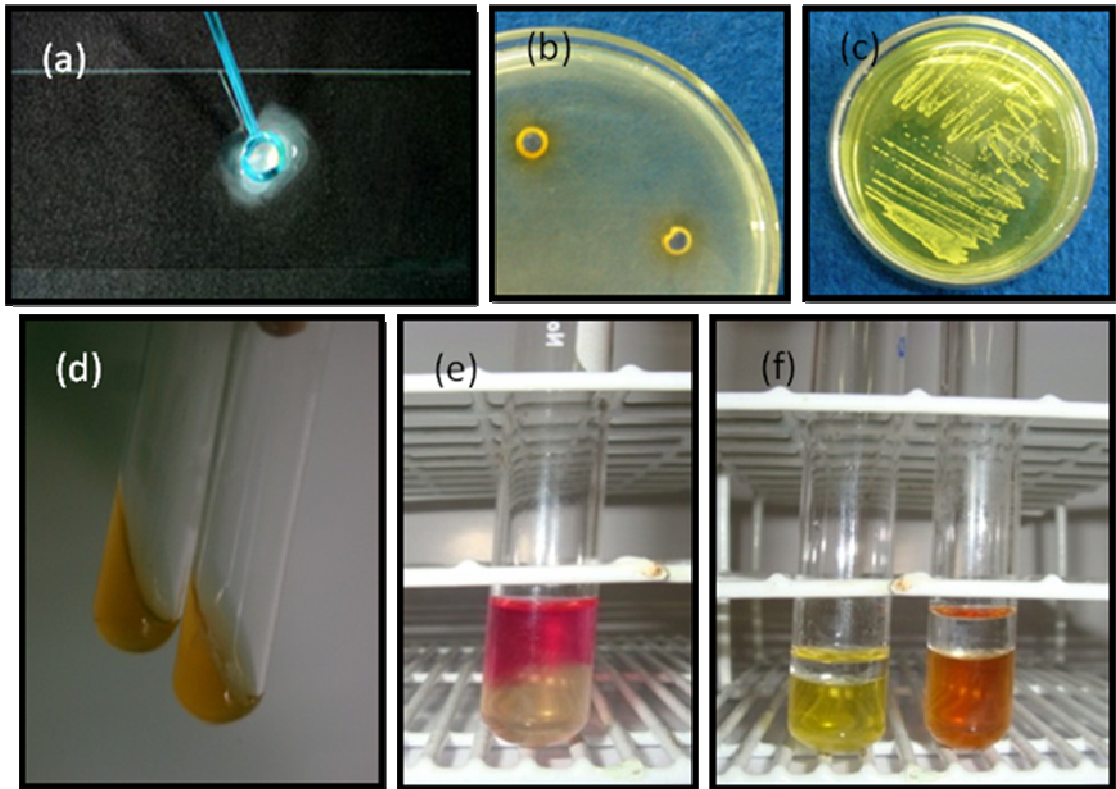


Apêndice 4.2: Morfologia e coloração Gram de *Staphylococcus* spp. (a), *Streptococcus* spp. (b), *Corynebacterium* spp. (c) e leveduras (d), ao microscópio

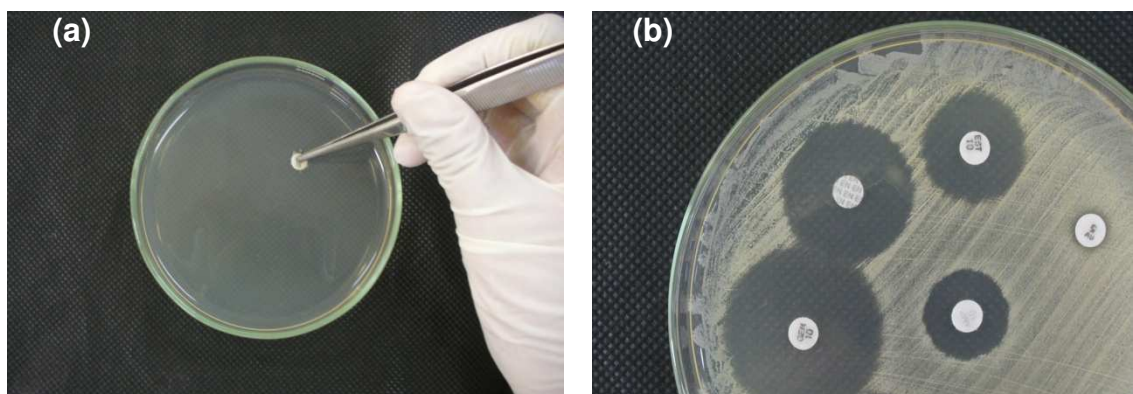


**APÊNDICE 5: Provas bioquímicas e teste de sensibilidade a antimicrobianos das cepas bacterianas isoladas dos casos de mastite**

Apêndice 5.1: Provas positivas para produção de catalase (a), DNase (b), manitol em aerobiose (c), coagulase (d), acetoina (e), glicose e manitol em anaerobiose (f)



Apêndice 5.2: Teste de sensibilidade antimicrobina “in vitro” de cepas bacterianas pela Técnica de difusão em discos: colocação do disco de antibiótico em Ágar Muller-Hinton (a) e leitura dos halos de inibição (b)



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)