

MONITORAMENTO DOS AGENTES CAUSADORES DE MASTITE E A SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

MONITORING OF AGENTS THAT CAUSE MASTITIS AND SUSCEPTIBILITY TO ANTIMICROBIALS

Jéssica Dal Vesco ¹

Juliana Carolina Siebel ²

Giuliano Orlandi Suzin ³

Natacha Deboni Cereser ⁴

Helenice de Lima Gonzalez ⁴

RESUMO

O estudo teve por objetivo avaliar a prevalência de mastite subclínica e a sensibilidade dos agentes isolados frente aos antimicrobianos. Foram acompanhadas vinte UPL da Região Sul do RS de maio de 2010 a maio de 2015. Foram coletadas amostras de leite dos quartos mamários com mastite subclínica. As amostras foram identificadas e as colônias características foram submetidas ao teste de disco-difusão. Do total de 2350 amostras coletadas, 44% dos isolados foram identificados como *Staphylococcus coagulase negativa*, 26% *Staphylococcus coagulase positiva*, 10% como *Streptococcus spp.*. Os *Staphylococcus coagulase positiva* apresentaram maior resistência a cefalexina, gentamicina, neomicina, tetraciclina e trimetoprima. Os *Staphylococcus coagulase negativa* mostraram-se mais resistentes a gentamicina, neomicina, tetraciclina, trimetoprima e penicilina G. Os resultados obtidos mostram que é necessário realizar um controle de mastites mais eficiente nas propriedades, assim como salientar o uso consciente de antimicrobianos nos tratamentos terapêuticos.

Palavras chave: Antibiograma. Qualidade do leite. Microorganismos. Extensão universitária.

¹ Graduanda em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas.

E-mail: jessica.dalvesco@gmail.com

² Médica Veterinária Residente em Inspeção de Leite e Derivados. E-mail: julianasiebel@gmail.com

³ Pós-Graduando da Universidade Federal de Pelotas. E-mail: giuliano.suzin@gmail.com

⁴ Professoras Doutoradas na Universidade Federal de Pelotas. E-mails: natachacereser@yahoo.com.br e helenicegonzalez@hotmail.com

ABSTRACT

The objective of this study was to assess the prevalence of sub-clinical mastitis and the sensitivity of the agents isolated to antimicrobials. twenty dairy farms from Southern RS (Rio Grande do Sul) were monitored from May 2010 to May 2015. Milk samples were collected from the mammary quarters with subclinical mastitis. The samples were identified and the colonies features were submitted to disc-diffusion test. Of the total of 2350 samples collected, 44% of the isolates were identified as Coagulase negative Staphylococcus, 26% Coagulase positive Staphylococcus, 10% as Streptococcus spp.. Staphylococcus coagulase positive revealed higher resistance to cephalixin, gentamicin, neomycin, tetracycline and trimethoprim. The coagulase-negative Staphylococcus were more resistant to gentamicin, neomycin, tetracycline, trimethoprim and penicillin G. The results show that it is necessary to perform mastitis control more efficiently in the properties, as well as to emphasize the conscious use of antimicrobials in therapeutic treatments.

Keywords: Antibiogram. Milk quality. Microorganism. University extension.

INTRODUÇÃO

A produção de leite está em constante crescimento no Brasil, e segundo a pesquisa trimestral do leite realizada pelo IBGE, no primeiro trimestre de 2015, a aquisição de leite cru pelos laticínios foi de 6,128 bilhões de litros de leite, 1% a mais que no mesmo período do ano anterior (IBGE, 2015). Os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná são responsáveis por uma grande parte da produção leiteira do País, e em 2013, produziram 11,7 bilhões de litros, correspondendo a 34,16% da produção brasileira (SEAB, 2014). O Rio Grande do Sul aparece na segunda colocação em relação a produção de leite, com 4,5 bilhões de litros, ficando atrás somente do estado de Minas Gerais, com 9,3 bilhões de litros produzidos (IBGE, 2013). O Rio Grande do Sul destaca-se também pela maior produtividade nacional de produção de leite, com 3.034 litros/vaca/ano (IBGE, 2014). No Estado predominam as pequenas propriedades, com o uso de mão de obra familiar.

Considera-se leite de qualidade aquele que está dentro dos parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa 62 de 2011 do MAPA. Dentre estes, tem-se a composição química, como teor de gordura, proteína e sólidos totais; características organolépticas (sabor, odor, aparência); contagem bacteriana total (CBT); e contagem de células somáticas (CCS). Além desses fatores, um leite de qualidade deve estar isento de resíduos de antibióticos, desinfetantes e produtos que adulterem

suas características. O manejo de ordenha, o manejo nutricional e o ambiente também estão relacionados a qualidade do leite. A IN 62 (BRASIL, 2011) estabeleceu, a partir de julho de 2015, limites máximos que estão em vigor para CCS de $5,0 \times 10^5$ CS/mL e $3,0 \times 10^5$ UFC/mL para CBT, mas os aspectos relacionados à remuneração ao produtor baseada na qualidade do leite são estabelecidos mediante acordo setorial específico.

A CCS reflete o estado de saúde da glândula mamária. Quando há infecção bacteriana ou processo inflamatório afetando o tecido mamário o número de CCS aumenta drasticamente no leite. As células somáticas são compostas pelos glóbulos brancos responsáveis pela defesa imunológica associadas às células de descamação das superfícies internas do úbere, o aumento da CCS está ligado à migração dessas células de defesa para a glândula mamária com a função de protegê-la de agressões (DONG et al., 2012; HULSEN et al., 2013). A CCS, também, é um dos parâmetros para determinar o preço pago do leite adquirido pela indústria de beneficiamento para realizar o pagamento de bonificação pela qualidade do leite produzido (PEIXOTO et al., 2017). Como as indústrias beneficiadoras realizam análises rotineiras do leite do tanque, esse dado tornou-se útil ao produtor que pode ter um maior controle e precisão da porcentagem de vacas com mastite subclínica, ou seja, CCS do tanque maior que 250.000 cél/mL (LIEVAART et al., 2017).

A contagem de células somáticas é influenciada por vários fatores, mas especialmente pela presença de infecções intramamárias, tornando-se um indicador confiável de sanidade da glândula mamária. Outros fatores que podem interferir são a época do ano, raça, estágio de lactação, produção de leite, número de lactações, estresse causado por deficiências no manejo, problemas nutricionais, efeito rebanho, condições climáticas e doenças intercorrentes (VIANA, 2000; OSTRENSKY, 1999).

A elevação da CCS no leite geralmente está associada à diminuição na produção de leite. Esta redução na produção de leite ocorre devido ao dano físico às células secretoras da glândula mamária e também com as alterações na permeabilidade vascular no alvéolo secretor. Em termos econômicos, a elevada CCS, que é um indicativo da ocorrência da mastite, traz prejuízos econômicos tanto ao produtor de leite, quanto a indústria de laticínios e consumidores (DA COSTA, 2009; BEHMER, 1999).

Além da CCS outra análise é empregada para tentar agregar valor ao leite, denominada de Contagem Bacteriana Total (CBT), que avalia a qualidade microbiológica do leite. A carga bacteriana do leite é uma variável que depende de alguns fatores, como: carga bacteriana inicial logo após a ordenha, limpeza e desinfecção da superfície dos tetos, condições de higiene dos equipamentos de ordenha, qualidade da água utilizada no sistema de ordenha (FONSECA; SANTOS, 2000). A taxa de multiplicação bacteriana está diretamente relacionada com a temperatura de armazenamento do leite. Deve-se destacar a importância do correto funcionamento e dimensionamento do sistema de produção frio, a IN 62 de 2011 determina que o leite cru deve

ser resfriado em temperatura igual ou inferior a 4°C no tempo máximo de três horas após a ordenha (BRASIL, 2011; NICKERSON, 1998). Altas contagens bacterianas indicam falhas na limpeza dos equipamentos, na higiene da ordenha ou problemas na refrigeração do leite, resultados de CBT inferiores a 20.000 UFC/mL refletem boas práticas de higiene (RIBEIRO NETO et al., 2012). Devido a este fator, investir em qualidade tornou-se um papel fundamental para as indústrias, em vários Países como Austrália, União Européia, Nova Zelândia e até mesmo o Brasil, desenvolve-se pesquisas e programas constantes para reduzir o limite máximo de CCS e CBT, uma vez que o aumento do mesmo acarreta aparecimentos de defeitos nos produtos processados com essa matéria-prima (GIGANTE, 2004).

Sendo assim, a qualidade do produto é afetada diretamente pela saúde da glândula mamária, que quando sofre inflamação, geralmente por infecção de diversos micro-organismos, sendo as bactérias os principais agentes, desenvolve a mastite, que pode manifestar-se na forma clínica ou subclínica. A mastite clínica apresenta sinais característicos, como aumento de temperatura, edema, endurecimento, dor na glândula mamária, pus e alterações das características do leite, com a formação de grumos (FONSECA; SANTOS, 2000), enquanto a mastite subclínica provoca alterações nas propriedades do leite, como aumento na contagem de células somáticas, aumento de teores de proteínas séricas, diminuição dos teores de caseína, lactose, gordura e cálcio no leite, sem apresentar sinais clínicos evidentes (RIBEIRO et al., 2003). Um dos grandes problemas da mastite no rebanho é a sua prevalência silenciosa, ou seja, subclínica, determinando perdas de até 70%, enquanto 30% devem-se à mastite clínica (SANTOS, 2001).

A mastite clínica determina perdas elevadas por descarte do leite, gastos com medicamentos, perda funcional de glândulas e até por morte do animal. No entanto, os maiores prejuízos são causados pela mastite subclínica, pelo fato de esta ter caráter silencioso e não despertar tanto a atenção dos produtores (FONSECA; SANTOS, 2001; WORKSHOP SOBRE PROGRAMA INTEGRADO DE MASTITE BOVINA, 1996).

É importante ressaltar a importância da mastite, no que se refere à saúde pública, devido ao envolvimento de bactérias patogênicas que podem colocar em risco a saúde humana. De acordo com a legislação vigente, a cadeia produtiva de lácteos deve ter comprometimento em alcançar e sustentar padrões de qualidade e inocuidade dos produtos, desde a matéria-prima até o consumidor final (BRITO, 2006). Além de prejudicar os tratamentos tecnológicos na indústria, visto que não há tratamento que inative tais resíduos, também pode causar problemas em nível de saúde pública, com possibilidade de reações alérgicas e seleção de cepas bacterianas resistentes (ARAÚJO et al., 2015; SANTOS, 2003).

Os patógenos causadores de mastite são classificados como contagiosos ou ambientais, de acordo com o modo de transmissão. Em relação aos patógenos ambientais, o meio ambiente é a principal fonte de

contaminação (RYSANEK et al., 2009). As bactérias causadoras de mastite contagiosa podem ser divididas em dois grandes grupos: os patógenos principais e os patógenos secundários. Dentre os principais evidenciam-se o *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Mycoplasma bovis* e entre os secundários, o *Corynebacterium bovis*. Já as mastites ambientais, são causadas por um grupo composto de três tipos de bactérias: coliformes, estreptococos ambientais e enterococos. Dentre os coliformes, estão presentes alguns micro-organismos Gram-negativos como: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, entre outros (SANTOS; FONSECA, 2006). Para o controle e prevenção da mastite devem ser observados os seguintes aspectos: adequado funcionamento do equipamento de ordenha; boas práticas de ordenha (pré e pós-dipping); tratamento imediato de todos os casos de mastite clínica (identificados pelo teste da caneca de fundo escuro); tratamento de todos os animais que tenham mastite subclínica na secagem (antibiótico para vaca seca); segregação ou descarte de animais com mastite crônica; estabelecimento da linha de ordenha, em que os animais saudáveis (baixa CCS) são ordenhados primeiramente; fornecimento de alimentação aos animais após a ordenha, com o objetivo de mantê-los em pé até que o esfíncter do teto se feche; e o uso de controle leiteiro para monitorar a produtividade e a qualidade do leite em cada lactação da vida produtiva da vaca (MONARDES, 2008; MANUAL, 2005). A condição e higiene dos tetos também são importantes para a prevenção de mastites (MANZI et al., 2012). O diagnóstico precoce desempenha papel fundamental neste processo, os testes diagnósticos podem ser realizados no campo ou laboratório: os de campo são mais simples e podem ser realizados diariamente no momento da ordenha, destacando-se a caneca de fundo escuro e o California Mastitis Test (CMT). O CMT é um teste popular e prático que pode ser realizado no momento da ordenha, o teste baseia-se na estimativa de células somáticas presentes no leite. O reagente é um detergente com indicador de pH, que, ao ser misturado, em partes iguais ao leite, dissolve as paredes celulares e nucleares dos leucócitos presentes, liberando o material nuclear. A reação é classificada de acordo com a sua viscosidade em: leve (+), moderada (++) e intensa (+++) (FONSECA; SANTOS, 2000; MELLENERBERGERG, 2001).

PRINCIPAIS AGENTES ETIOLÓGICOS DA MASTITE BOVINA

Cerca de 137 espécies de micro-organismos pertencentes a 35 gêneros já foram relacionadas na literatura como agentes etiológicos causadores de mastite em bovinos, o que torna necessária a identificação destes micro-organismos que causam a infecção da glândula mamária, tanto para o controle e prevenção, quanto para o monitoramento de rebanhos (RIBEIRO et al., 2003). Observou-se que ocorre a predominância de bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* como principais agentes etiológicos causados-

res de mastite (RANJAN et al., 2006; SCHOCKEN-ITURRINO et al., 1993).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. destacam-se por serem os micro-organismos de origem contagiosa mais frequentemente isolados em casos de mastite, sendo responsáveis por grandes gastos com antimicrobianos. Dentro do gênero, existem as bactérias conhecidas como *Staphylococcus coagulase negativa*, que são consideradas oportunistas, que estão presentes na pele do teto do animal, na sala de ordenha e nos equipamentos utilizados para a ordenha (SANTOS et al., 2011). Dentro desse grupo, há diferentes espécies de bactérias, que incluem *Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. haemolyticus*. A mastite causada por esses micro-organismos resulta em fibrose interalveolar do tecido mamário, perdas da função secretória e alteração da quantidade e qualidade do leite produzido pelo animal (SILVA, 2006).

Os *Staphylococcus coagulase positiva*, sendo principalmente o *Staphylococcus aureus*, também é um dos agentes contagiosos encontrados com maior frequência em casos de mastite bovina. São cocos Gram-positivos, que podem ser encontrados na pele dos tetos, camas e mãos do ordenhador (PHILPOT; NICKERSON, 2002). A maioria das infecções causadas por ele são de manifestação subclínica, e sua capacidade de formar biofilmes, resulta em vacas contaminadas, com elevação da contagem de células somáticas (CCS) por vários períodos de lactação, sendo que a sua erradicação é considerada difícil (BRITO; BRITO, 1998).

Do gênero *Streptococcus*, tem destaque o *Streptococcus agalactiae*, que é uma bactéria Gram-positiva encontrada nas superfícies que estiveram em contato recente com o leite contaminado, incluindo o equipamento de ordenha, as mãos dos ordenhadores e o material da cama (PHILPOT; NICKERSON, 2002), sendo então, disseminada principalmente durante a ordenha (FONSECA; SANTOS, 2000). É eliminada em grande quantidade no leite, podendo ser isolada facilmente do leite de vacas infectadas (BRITO; BRITO, 1998). Segundo dados relatados por Philpot e Nickerson (2002), a CCS de um único quarto afetado pode variar de 1 milhão a 10 milhões céls/mL, pois é um micro-organismo que leva a uma reação intensa do sistema imune da vaca devido as lesões causadas aos tecidos secretores da glândula mamária.

Devido à grande quantidade de micro-organismos envolvidos na inflamação da glândula mamária, existe a necessidade da realização periódica de testes de sensibilidade *in vitro*, pois ocorrem variações no perfil de sensibilidade e resistência que podem comprometer o tratamento do animal bem como os programas de controle da mastite bovina nos rebanhos (MEDEIROS et al., 2009).

PROJETO REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA BOVINOCULTURA DE LEITE - QUALIDADE DE LEITE E TESTES DE SENSIBILIDADE

Visando melhorar a produtividade e qualidade do leite produzido nas Unidades Produtoras de Leite (UPL's) situadas na Região Sul do Rio Grande do Sul, é realizado o acompanhamento destas por docentes e alunos das áreas de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Pelotas, participantes do Programa de Desenvolvimento da Bovinocultura Leiteira (PDBL), onde são desenvolvidos diferentes projetos com um mesmo objetivo, de propor alterações de manejo e melhorias que irão auxiliar na obtenção de um produto de melhor qualidade para ser comercializado, beneficiando não só o produtor, como também os consumidores. Ainda, proporciona o contato dos participantes com diferentes unidades produtoras de leite, permitindo que estes tenham vivência prática da área de ensino e a interação com os produtores e técnicos através das visitas realizadas às propriedades.

O Programa tem parceria com a Embrapa Clima Temperado, Instituto Federal Sul Rio-grandense (IFSul), Associação dos Municípios da Zona Sul (Azonasul) e Emater/RS- Ascar.

Até o ano de 2015 foram acompanhadas 22 propriedades localizadas em 7 municípios da Região Sul: Pelotas, Capão do Leão, Arroio Grande, Morro Redondo, Cerrito, Rio Grande e São Lourenço do Sul.

Entre os projetos desenvolvidos, está o de melhorar a qualidade do leite e a realização de testes de sensibilidade aos antimicrobianos, que estimula a adoção de boas práticas agropecuárias, com a aplicação correta das técnicas de manejo de ordenha, promovendo equilíbrio ambiental e o uso racional de insumos e trabalho, e assim, produzindo leite de qualidade sob os pontos de vista sanitário, nutritivo e de rendimento ao processamento, onde os resultados positivos geram ganhos financeiros para o produtor.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em vinte Unidades de Produção Leiteira (UPL) participantes do Programa de Desenvolvimento da Bovinocultura Leiteira da Região Sul do Rio Grande do Sul (PDBL) de maio de 2010 a maio de 2015. As UPL's possuem sistemas de ordenha distintos, desde sistema de ordenha manual, mecanizada balde ao pé até sistema de ordenha mecanizada canalizada, e ainda são caracterizadas, principalmente, pela mão de obra familiar. Os rebanhos são compostos por animais das raças Jersey, Holandês e mestiças. E as vacas são mantidas em sistemas a pasto com suplementação no cocho durante ou após a ordenha. O manejo de ordenha difere entre as propriedades, parte delas ainda não adotou o uso de pré e pós-dipping, fazendo uso de água para higienização dos tetos. A higienização e sanitização dos equipamentos de ordenha, geralmente, são realizados de acordo com a indicação dos produtos utilizados pela propriedade.

Durante o período do estudo, foram realizadas visitas mensais as

UPL's para acompanhamento do manejo de ordenha, realização do California Mastitis Test (CMT) e coleta de leite dos quartos acometidos por mastite subclínica.

Os quartos que apresentaram reação positiva ao teste foram coletados em tubos estéreis identificados, de forma asséptica, onde se utilizou algodão embebido em álcool 70°GL para desinfecção da extremidade do teto. Após coletadas, as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica com gelo e encaminhadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal de Pelotas (LIPOA-UFPe).

As amostras foram semeadas em ágar-sangue com 6% de sangue de equino desfibrinado, incubados a 37°C por 48 horas. As colônias que cresceram foram identificadas conforme a metodologia descrita por BRASIL (2000), quanto a coloração de Gram, Catalase, Hemólise e Teste da Coagulase.

Essas colônias selecionadas foram inoculadas em Caldo de Infusão Cérebro e Coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após, foi ajustada a densidade óptica, para que atingisse a concentração entre 0,5 e 0,7 \square , através de absorbância, para então, serem semeadas em ágar Mueller-Hinton, adicionados os discos embebidos com antimicrobianos e incubadas a 37° por 24 a 48 horas, a fim de verificar a susceptibilidade aos antimicrobianos, pelo teste de disco-difusão de Bauer (BRASIL, 2003).

Os antimicrobianos testados foram amoxicilina (10 μ g/disco), bacitracina (10 μ g/disco), cefalexina (30 μ g/disco), enrofloxacina (5 μ g/disco), gentamicina (10 μ g/disco), neomicina (30 μ g/disco), norfloxacina (10 μ g/disco), penicilina G (10 μ g/disco), tetraciclina (30 μ g/disco) e trimetoprima (5 μ g/disco).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 2350 amostras coletadas (Tabela 1), 44% dos isolados foram identificados como *Staphylococcus coagulase negativa*, 26% como *Staphylococcus coagulase positiva*, 10% como *Streptococcus spp.* e 8% foram outras bactérias diversas, como *Kocuria kristinae*, *Aerococcus spp.* e *Enterococcus spp.*; em 10% das amostras não houve crescimento e em 2% das colônias foram identificadas bactérias Gram-negativas. Os principais agentes encontrados no trabalho são similares aos relatados por Ribeiro Júnior et al. (2008), com uma prevalência maior para agentes contagiosos que ambientais.

Tabela 1: Micro-organismos isolados de amostras de leite de vacas com mastite.

Micro-organismos	FA	FR
Staphylococcus coagulase negativa	1034	44%
Staphylococcus coagulase positiva	611	26%
Streptococcus spp.	235	10%
Outras bactérias Gram-positivas	188	8%
Sem crescimento	235	10%
Bactérias Gram-negativos	47	2%
Total	2350	100%

FA – Frequencia Absoluta n

FR – Frequencia Relativa

Dessas amostras de isolados, foi realizado o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, cujos resultados podem ser observados abaixo, na Figura 1. Dos 26% isolados identificados como Staphylococcus coagulase positiva que foram testados, 90% mostraram-se sensíveis à bacitracina. Apresentaram resistência à penicilina (92,96%), cefalexina (84,78%), gentamicina (84,78%), neomicina (82,32%), tetraciclina (82%) e trimetoprima (81,51%). Os Staphylococcus coagulase positiva são importantes, tendo maior ocorrência nos rebanhos mundiais e por sua característica de patogenicidade e resistência à β -lactâmicos. Portanto, é de difícil controle, desenvolvendo resistência a muitos medicamentos antes eficazes (RIBEIRO, 2008).

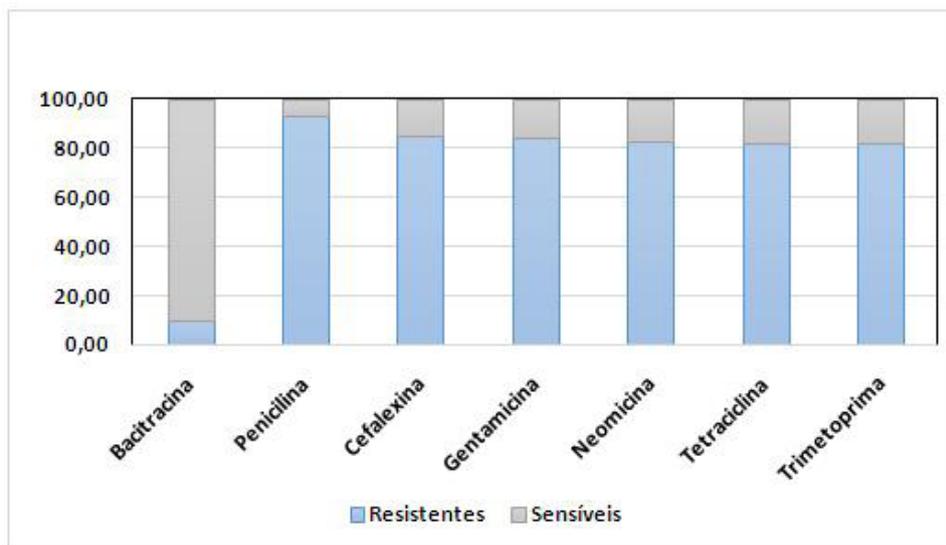


Figura 1
Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus coagulase positiva*.

Fonte: Autores

Silva (2012), ao analisar amostras de rebanhos leiteiros do município de Garanhuns, PE, relatou que 95% e 88% dos 83 isolados de *Staphylococcus aureus* analisados apresentaram resistência à penicilina e a ampicilina, respectivamente. Similar a esses resultados, FREITAS et al. (2005), ao avaliar amostras de *S. aureus* e outros *Staphylococcus coagulase positiva*, relatou 80% de resistência para a penicilina G. Essa alta taxa de resistência encontrada em diferentes regiões, é uma preocupação mundial, pois indica que existe alta pressão seletiva frente as drogas, dificultando assim a eficácia de terapias antimicrobianas. Ainda de acordo com este mesmo autor, a resistência a dois antimicrobianos simultaneamente foi frequente, onde em 66% das amostras avaliadas apresentaram resistência a associação de penicilina e ampicilina.

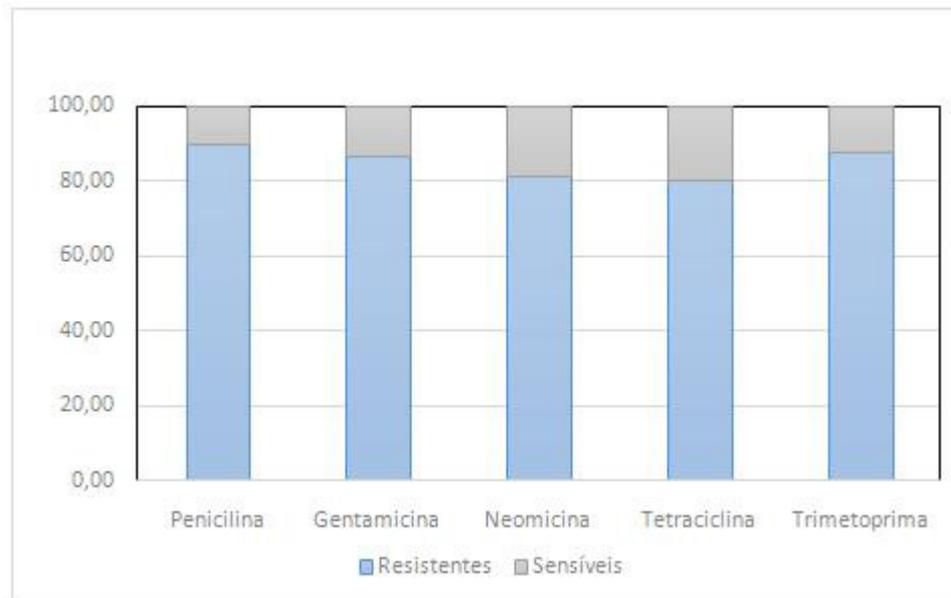
Outros estudos realizados, relataram a sensibilidade de *Staphylococcus coagulase positiva* para antimicrobianos diferentes do que foi encontrado neste trabalho. Segundo relatado por SILVA (2012), 100% das amostras analisadas foram sensíveis a cefalotina, e ainda apresentaram sensibilidade para enrofloxacina, tetraciclina, eritromicina, clindamicina e gentamicina. Já MEDEIROS (2009), testou a associação de bacitracina, neomicina e tetraciclina, para os isolados de *Staphylococcus spp.* da Região Metropolitana do Recife, Agreste e Zona da Mata, e observou a eficácia média de 95% para as três regiões. A bacitracina atua sobre bactérias Gram-positivas e pode ser associada a neomicina para aumentar o seu espectro de ação, visando potencializar a ação dos antimicrobianos e diminuir os efeitos indesejáveis. Por ser um medicamento recente e pouco utilizado, apresenta pouca resistência, o que é confirmado com os dados obtidos nesse trabalho, onde os *Staphylococcus coagulase negativa* também foram sensíveis a bacitracina.

Com grande frequência, os *Staphylococcus coagulase negativa* representaram 44% dos isolados, onde 90% destes foram resistentes a

Penicilina. Apresentaram resistência também à Gentamicina (86,56%), Neomicina (81,53%), Tetraciclina (80,46%) e Trimetoprima (87,52%), segundo a Figura 2.

Em estudo realizado com 120 cepas de *Staphylococcus coagulase negativa*, SANTOS et al. (2011) relatou que 28% foram resistentes a penicilina, 21% à estreptomicina, 22% a ampicilina e 14% à tetraciclina, mostrando que oferecem resistência a antibióticos β -lactâmicos. Similar a este estudo, onde em 90% das amostras foram resistentes à penicilina. E Schultz (2004), destacou a importância de *Staphylococcus coagulase negativa* no processo infeccioso da glândula mamária, ao observar que 44% dos isolados em seu estudo apresentaram resistência a mais de um antibiótico. É um dado preocupante, pois a resistência aos tratamentos disponíveis causa persistência de casos crônicos no rebanho que podem atuar como fontes de infecção para outros animais do rebanho (ARCHER, 1994; GENTILINI, 2002).

Figura 2
Perfil de sensibilidade do *Staphylococcus coagulase negativa*.



Fonte: Autores

Em estudo realizado com 120 cepas de *Staphylococcus coagulase negativa*, SANTOS et al. (2011) relatou que 28% foram resistentes a penicilina, 21% à estreptomicina, 22% a ampicilina e 14% à tetraciclina, mostrando que oferecem resistência a antibióticos β -lactâmicos. Similar a este estudo, onde em 90% das amostras foram resistentes à penicilina. E Schultz (2004), destacou a importância de *Staphylococcus coagulase negativa* no processo infeccioso da glândula mamária, ao observar que 44% dos isolados em seu estudo apresentaram resistência a mais de um antibiótico. É um dado preocupante, pois a resistência aos tratamentos disponíveis causa persistência de casos crônicos no rebanho que podem atuar como fontes de infecção para outros animais do rebanho (ARCHER, 1994; GENTILINI, 2002).

Os *Streptococcus spp* foram 10% dos isolados e, destes, 70% apresentaram resistência a penicilina G, 50% a cefalexina, 40% a gentamicina e

10% a neomicina. Em relação à sensibilidade, os Streptococcus spp. se mostraram sensíveis à bacitracina, tetraciclina e trimetoprima. Os demais antibióticos apresentaram pelo menos um isolado resistente a algum deles. O percentual de resistências e sensibilidades podem ser observados nas Figuras 3 e 4, respectivamente.

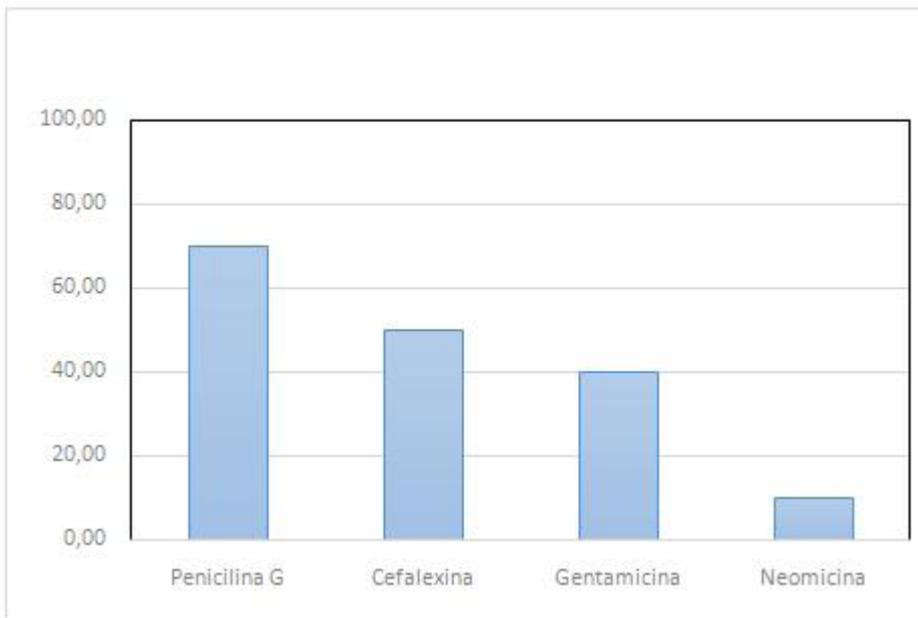


Figura 3
Perfil de resistências de Streptococcus spp.

Fonte: Autores

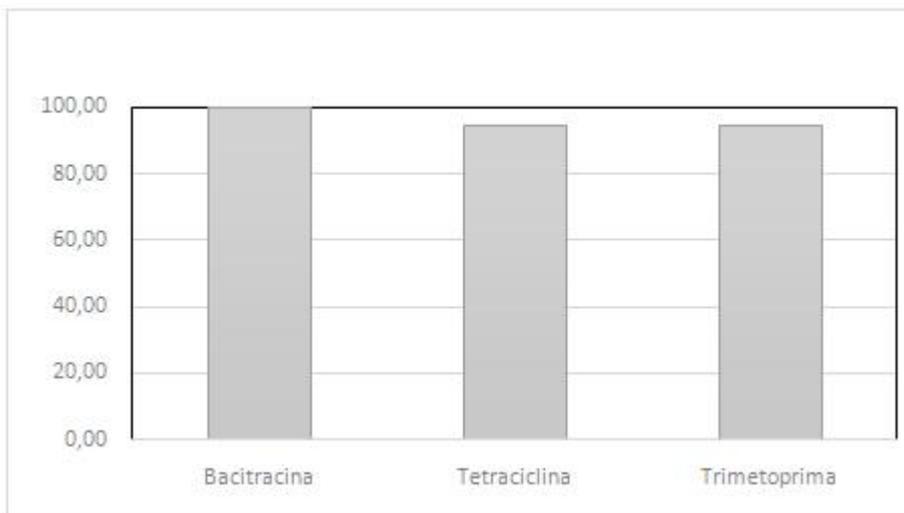


Figura 4
Perfil de sensibilidades de isolados de Streptococcus spp.

Fonte: Autores

Em estudo realizado por Ferreira (2010), que avaliou o perfil de sensibilidade de agentes isolados de rebanhos de Teresina, Piauí, foi observado que os *Streptococcus* apresentaram sensibilidade a bacitracina, semelhante a este trabalho. Foram ainda sensíveis à cefalotina, cloranfenicol, oxacilina, sulfazotrim, kanamicina, dados estes semelhantes aos encontrados por Cunha et al., (2006) em outra região. Ainda foi observado por Ferreira (2010), que 84% das suas amostras apresentaram resistência a penicilina, similar a esse estudo.

CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos é possível concluir que os micro-organismos isolados com maior frequência durante o período estudado foram o *Staphylococcus coagulase negativa*, seguido pelo *Staphylococcus coagulase positiva*. E em relação a susceptibilidade aos antimicrobianos foi possível observar maior resistência aos β -lactâmicos, como penicilina G e cefalexina. Os resultados obtidos mostram que é necessário realizar um controle de mastites mais eficiente nas propriedades acompanhadas, assim como salientar o uso consciente de antimicrobianos e da importância de estudar novos manejos e tratamentos terapêuticos para tratamentos e prevenção das mastites.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, G. B. et al. Detecção de resíduo de antibiótico em leite in natura em laticínio sob inspeção federal. **Scientia Plena**, v. 11. n. 4, 2015.
- ARCHER, G. L.; CLIMO, M. W. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 38, p. 2231-2237, 1994.
- BEHMER, Manuel Lecy Arruda. **Tecnologia do leite**. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1999.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Detecção e identificação de bactérias de importância médica**: módulo 5: manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. [Brasília]: Anvisa, 2000.
- _____. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão**: norma aprovada. 8. ed. [Brasília]: Anvisa, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 62. Diário Oficial, [Brasília], 30 dez. 2011.
- BRITO, J. R.; BRITO, M. A. V. P. **Programas de controle das mastites**

causadas por micro-organismos contagiosos e do ambiente: n. 71. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1998.

BRITO, M. A. V. P. **Resíduos de antibióticos no leite:** um problema que tem solução. Juiz de Fora: Embrapa, 2006. Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br>>. Acesso em: 06 mar. 2016.

DA COSTA, E. O. Binômio: saúde da glândula mamária e produção leiteira. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, p. 1-20, 2009.

DONG, F.; HENNESSY, D. A.; JENSEN, H. H. Factors determining milk quality and implications for production structure under somatic cell count standard modification. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 95, p. 6421-6435, 2012.

FERREIRA, J. L. et al. Bactérias causadoras de mastite subclínica em rebanhos leiteiros no município de Teresina, Piauí. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 14, 2010.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos, 2000.

GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR, A. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. **J. Dairy Sci.**, n. 85, p. 1913-1917, 2002.

GIGANTE, M. L. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 1. 2004. **Anais....** 2004.

HULSEN, J.; LAM, T; SCHUKKEN Y. H. Saúde do úbere. **Cows Signals**. Ed. especial. Holanda, p. 4-9. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatísticas da produção pecuária**. Jul. 2015. Disponível em: <www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201501_publ_completa.pdf>. Acesso em: 07 maio 2017.

LIEVAART, J. J.; KREMER, W. D. J.; BARKEMA, H. W. Comparison of Bulk Milk, Yield-Corrected, and Average Somatic Cell Counts as Parameters to Summarize the Subclinical Mastitis Situation in a Dairy Herd. **Journal of Dairy Science**, v.90: 4145-4148, 2007.

MANZI, M. P.; NÓBREGA, D. B.; FACCIOLI, P. Y.; TRONCARELLI, M. Z.; MENOZZI, B. D.; LANGONI, H. Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. **Research in Veterinary Science**, v. 93, p. 430-434, 2012.

MEDEIROS, E.S.; MOTA, R.A.; SANTOS, M.V.; FREITAS, M.F.L.; PIN-

HEIRO, J.W.; TELES, J.A. A., Sensibilidade antimicrobiana in vitro de Staphylococcus spp. isoladas do leite de vacas com mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Recife, v.29, n.7, p.569-574, 2009.

MELLENBERGER, R. (2001) **California Mastitis Test (CMT), an invaluable tool for managing mastitis**; Dept of Animal Sciences, Michigan State University. Disponível em: <<http://immucell.com/wp-content/uploads/An-Invaluable-Tool.pdf>> Acesso em: 07 maio 2017.

MONARDES, H. **Controle leiteiro e qualidade do leite**. In: 3º Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Recife: CCS Gráfica e Editora. p.115- 127. 2008.

NICKERSON, S. C. Estratégias para controlar a mastite bovina. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 1, 1998, Curitiba-PR **Anais...**, Curitiba-PR 1998, p. 20-27.

OSTRENSKY, A. **Efeitos de ambiente sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça Holandesa no Paraná**. Curitiba, 1999. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

PEIXOTO, A. L; DA SILVA, M. A. P.; DE MORAIS, L. A.; SILVA, F. R; DO CARMO, M.; LAGE, M. E. Influência do tipo de ordenha e do armazenamento do leite sobre a composição química, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 1, p. 10-18, 2017.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a Luta Contra a Mastite**. Piracicaba: Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192p.

RANJAN, R. SWARUP, D.; PATRA, R. C.; & NANDI, D. Bovine Protothecal Mastites. A review. **Perspect Agric Vet Sci Nutr Nat Res.**, v. 1, n. 17, p. 1-7, 2006.

RIBEIRO JÚNIOR, E.; SILVA, M. H.; VIEGAS, S. A. D. A; RAMALHO, E. J.; RIBEIRO, M. D. & OLIVEIRA, F. C. S. D. California Mastitis Test (CMT) e Whiteside como métodos de diagnóstico indireto da mastite subclínica. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.9, n.4, p. 680-686, out/dez, 2008.

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

RIBEIRO NETO, A. C.; BARBOSA, S. B. P.; JATOBÁ, R. B.; SILVA, A. M.; SILVA, C. X.; SILVA, M. J. A.; SANTORO, K. R. Qualidade do leite cru re-

frigerado sob inspeção federal na região Nordeste. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 5, p. 1343-1351, 2012.

RYSANEK, D.; ZOUHAROVA, M.; BABAK, V. Monitoring Major Mastitis Pathogens at the Population Level Based on Examination of Bulk Tank Milk Samples. **Journal of Dairy Research**, v. 76, p. 117-123, 2009.

ROSEMBERGER, G. **Exame Clínico dos Bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan SA, 1993.

SANTOS, L.L dos; COSTA, G.M.; PEREIRA, U.P.; SILVA, M.A.; SILVA, N.A. Mastites clínicas e subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus coagulase-negativa*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.70, n.1, p.1-7, 2011.

SANTOS, M.C. **Curso sobre manejo de ordenha e qualidade do leite**. Vila Velha: UVV, 2001. 57p.

SANTOS, M. V. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das células somáticas. In: Brito J.R.F., Portugal JAB. (Org). **Diagnóstico de qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora. 1: 139-149. 2003.

SANTOS, M. V., FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1ªed., Barueri: Manole, 314p. 2006.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.A.; NADER FILHO, F.A.; AVILA, G.P.C. Sensibilidade dos *Staphylococcus coagulase positiva*, isolados em casos de mastite subclínica bovina, à ação de antibióticos e quimioterápicos. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, v.12, n.1, p. 57-63. 1996.

SCHULTZ R.P.J., SMITH K.L., HOGAN J.S. & LOVE B.C. 2004. Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogenens from first lactation and older cows. **Vet. Microbiol.** 102:33-42.

SEAB, Secretaria da Agricultura e Abastecimento. Disponível em: <www.agricultura.pr.gov.br> Acesso em 07 maio 2017.

SILVA, B. O. **Rebanhos leiteiros com mastite causada por *Staphylococcus aureus*: diagnóstico e controle**. 2006. 137p. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte- MG.

SILVA, E. R.; PEREIRA, A. M. G.; DA SILVA MORAES, W.; SANTORO, K. R. & SILVA, T. R. M. Perfil de sensibilidade antimicrobiana “in vitro” de “*Staphylococcus aureus*” isolado de mastite subclínica bovina. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. V. 13, n. 3, p. 701-711, 2012.

VIANA, L. C. **Duração das infecções naturais por estafilococos co-**

Expressa Extensão. ISSN 2358-8195 ,v.22, n.1, p. 34-50, JAN-JUN, 2017.

agulase negativos e contagem de células somáticas em vacas primíparas. Londrina, 2000. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal), Universidade Estadual de Londrina.

WORKSHOP SOBRE PROGRAMA INTEGRADO DE MASTITE BOVINA, 1996, Juiz de Fora. **Anais.** Juiz de Fora: Embrapa/CNPGL, 1996. 68p.

Agradecimento: Proext MEC/SEsu 2013 e 2014.

Data de recebimento: 15 de março de 2016.

Data de aceite para publicação: 15 de maio de 2017.