

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS – PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Mastite bovina no município de Itaporanga, Paraíba. Ocorrência, etiologia, sensibilidade antimicrobiana *in vitro* e fatores de risco associados à infecção

Anna Valezka Vicente de Sá

Patos –PB  
Setembro de 2009



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS - PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Mastite bovina no município de Itaporanga, Paraíba. Ocorrência, etiologia, sensibilidade antimicrobiana *in vitro* e fatores de risco associados à infecção

Anna Valezka Vicente de Sá  
Graduanda

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo  
Orientador

Prof. Dr. Felício Garino Júnior  
Colaborador

Patos -PB  
2009

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO  
CAMPUS DE PATOS - UFCG

S111m  
2009

Sá, Anna Valezka Vicente de.

Mastite bovina no município de Itaporanga, Pataíba. Ocorrência, etiologia, sensibilidade antimicrobiana in vitro e fatores de risco associados à infecção / Anna Valezka Vicente de Sá. - Patos: CSTR/UFCG, 2009.

51p. : il. Color.

Inclui bibliografia.

Orientador (a): Sérgio Santos de Azevedo.

Graduação (Medicina Veterinária), Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1- Mastite Bovina - Monografia. I - Título.

CDU: 618.19-002:636. 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS - PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ANNA VALEZKA VICENTE DE SÀ  
**Graduanda**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para  
obtenção do grau de Médico Veterinário.

ENTREGUE EM 03/09/2009

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo  
Professor Adjunto UAMV/UFCG

---

Prof. Dr. Felício Garino Júnior  
Professor PPGMV/UFCG

---

Prof. Dra. Sara Simões Vilar  
Professora Adjunta UAMV/UFCG

Dedico esse trabalho aos meus avós, Fernão Dias Sá (*in memoriam*) e Maria Nóbrega Sá, que tanto me ensinaram, apoiaram e dedicaram a mim parte de seus infinitos conhecimentos, amor e carinho, me ajudando a tornar-me, com muito orgulho, a pessoa que sou e principalmente me ensinaram a importância de uma conduta correta e exemplar em todos os aspectos de minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por todos as conquistas;

Aos meus pais Brás Guilherme e Edinalva Vicente por terem me dado tanto apoio e por ter me mostrado o caminho da honestidade e dignidade;

Ao meu orientador Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo, por ter acredito na minha capacidade, por todos as orientações, sendo um incentivador e exemplo como profissional para minha vida acadêmica;

Ao Prof. Dr. Felício Garino Júnior, meu amigo, que literalmente deu seu sangue para a conclusão desse projeto, ajudando-me não só com seu vasto conhecimento, mas também com seu carinho e amizade em todos os momentos de dificuldade e alegria, a quem eu serei eternamente grata... És nosso pequeno grande homem;

Aos produtores de leite do município de Itaporanga que colaboraram prontamente para execução do trabalho;

Aos meus amigos Felício, Luiz Fernando e Patrícia pelo incentivo, paciência e disposição, por todas as horas de sono perdidas para me ajudar a realizar as coletas de leite tão trabalhosas;

Aos amigos Euclides e Marlon pelas risadas, carinho, trocas de conhecimentos, confiança e incentivo durante essa longa caminhada;

A minha mãe Rosana com a qual eu sempre posso contar e sempre esteve perto a me socorrer, me dar carinho e me acalantar;

Aos meus amigos Expedito, Artur e Priscila por toda ajuda no laboratório, e todos os momentos de descontração, que fez as intermináveis horas no laboratório mais agradáveis;

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a minha formação acadêmica.

## **O que me cabe**

Não me cabem os ternos,  
Os escritórios, os restaurantes por quilo.  
Não me cabem também a rotina,  
O certo, o previsível.  
Não me cabem o amor eterno,  
As juras de felicidade, o matrimônio.  
Nada disso me cabe!  
Cabem-me apenas os meus sonhos  
Sonhando eu amo, me entrego  
Sonhando eu vivo, e me farto em mim mesmo  
Podes até ser mais do que eu  
Mas nunca viverá o que vivi

(Poema dedicado a mim por meu irmão/amigo Luiz Fernando Trevisan)

## Sumário

|   |    |
|---|----|
| FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO.....       | 2  |
| CAMPUS DE PATOS - UFCG.....                           | 2  |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                   | 13 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA .....                        | 15 |
| 2.1. MASTITE .....                                    | 15 |
| 2.1.1. MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA .....             | 15 |
| 2.1.2. MASTITE AMBIENTAL E CONTAGIOSA.....            | 16 |
| 2.1.3. DIAGNOSTICO DA MASTITE.....                    | 17 |
| 2.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA.....                       | 19 |
| 2.3. ETIOLOGIA .....                                  | 21 |
| 2.4. SUSCEPTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> .....           | 22 |
| 2.5. RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS ..... | 23 |
| 2.6. PROGRAMA CONTROLE DE MASTITE .....               | 24 |
| 2.7. CONTROLE DE MASTITE EM NOVILHAS .....            | 25 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS.....                            | 27 |
| 3.1. AS PROPRIEDADES RURAIS .....                     | 27 |
| 3.2. OS ANIMAIS.....                                  | 27 |
| 3.3. AS AMOSTRAS .....                                | 28 |
| 3.4. EXAMES MICROBIOLÓGICOS.....                      | 30 |
| 4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....                         | 32 |
| 5. RESULTADOS.....                                    | 33 |
| 6. DISCUSSÃO.....                                     | 42 |
| 7. CONCLUSÕES .....                                   | 47 |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                    | 48 |
| 9. ANEXOS .....                                       | 53 |



## LISTA DE TABELAS

|  | <b>Pg.</b> |
|--|------------|
| <b>Tabela 1.</b> Resultados do teste de tamis (caneca de fundo escuro) realizados em 578 quartos mamários de 154 animais em lactação, para verificação de mastite clínica, de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.....     | <b>32</b>  |
| <b>Tabela 2.</b> Resultados do teste de CMT (California Mastitis Test) realizados em 560 quartos mamários de 154 animais em lactação, para verificação de mastite subclínica , de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009..... | <b>32</b>  |
| <b>Tabela 3.</b> Níveis de mastite clínica e subclínica em animais e quartos mamários, de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.....   | <b>33</b>  |
| <b>Tabela 4.</b> Etiologia da mastite: clínica, subclínica e portadores, de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.....   | <b>34</b>  |
| <b>Tabela 5.</b> Ocorrência de microrganismos ambientais e contagiosos isolados de glândulas mamárias no município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.....  | <b>35</b>  |
| <b>Tabela 6.</b> Susceptibilidade dos <i>Staphylococcus</i> spp, <i>Streptococcus</i> spp e isolados mastite bovina de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.....  | <b>36</b>  |
| <b>Tabela 7.</b> Resultados de 110 cepas de <i>Staphylococcus</i> spp que apresentaram múltipla- resistência – Itaporanga – PB , 2004.....   | <b>38</b>  |
| <b>Tabela 8.</b> Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para Mastite Bovina em 10 propriedades rurais do município de Itaporanga - Paraíba, 2009.....   | <b>39</b>  |
| <b>Tabela 9:</b> Fatores de risco para a Mastite Bovina em 10 propriedades rurais do município de Itaporanga-Paraíba.....  | <b>40</b>  |

## LISTA DE FIGURAS

|  | <b>Pg.</b> |
|--|------------|
| <b>Figura 1.</b> Estimativa de perdas econômicas ocasionadas por mastite.....  | <b>19</b>  |
| <b>Figura 2.</b> Mastite clínica, alteração visível do leite, presença de grumos no teste da caneca preta.....   | <b>27</b>  |
| <b>Figura 3.</b> Realização do exame de CMT “ <i>California Mastites Test</i> ”.....   | <b>27</b>  |
| <b>Figura 4.</b> Coleta de leite bovino no município de Itaporanga-Paraíba – 2009.....   | <b>28</b>  |
| <b>Figura5.</b> Cultivo microbiológico em ágar sangue ovino.....   | <b>29</b>  |
| <b>Figura 6:</b> Testes de susceptibilidade <i>in vitro</i> dos microorganismos isolados de casos de mastite bovina de dez propriedades do município de Itaporanga – 2009.....   | <b>30</b>  |
| <b>Figura 7.</b> Principais microorganismos isolados de glândulas mamárias, de 154 animais em lactação de dez propriedades do município Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.....  | <b>33</b>  |
| <b>Figura 8.</b> Porcentagem de microorganismos contagiosos e ambientais isolados de casos de mastite bovina.....  | <b>35</b>  |
| <b>Figura 9.</b> Sensibilidade dos <i>Staphylococcus</i> spp , <i>Streptococcus</i> spp e <i>Corynebacterium</i> spp isolados mastite bovina de dez propriedades frente a dez antimicrobianos diferentes – Itaporanga - Paraíba – Brasil – 2009..... | <b>37</b>  |
| <b>Figura 10:</b> Teste da betalactamase realizado em cepas de <i>Staphylococcus</i> spp. isolados de casos de mastite no município de Itaporanga, PB.....   | <b>37</b>  |

## LISTA DE QUADROS

|   | <b>Pg.</b> |
|---|------------|
| <b>Quadro 1.</b> Critérios de classificação da intensidade do processo inflamatório da glândula mamária por exame clínico.....            | <b>17</b>  |
| <b>Quadro 2.</b> Escores do exame de secreção láctea pelo método do Tamis (Caneca de fundo escuro), para detecção de mastite clínica..... | <b>17</b>  |
| <b>Quadro 3.</b> Interpretações dos escores do exame de CMT, para detecção da mastite subclínica.....                                     | <b>18</b>  |
| <b>Quadro 4.</b> Estimativa da redução da produção de leite por quarto com CMT positivo.....  | <b>20</b>  |

## RESUMO

**SÁ, ANNA VALEZKA VICENTE DE.** Mastite bovina no município de Itaporanga, Paraíba. Ocorrência, etiologia, sensibilidade antimicrobiana *in vitro* e fatores de risco associados à infecção (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária). Patos, CSTR/UFCG. 2009. 51 p.

O presente trabalho teve por objetivo determinar a ocorrência, etiologia e fatores de risco relacionados a mastite bovina em dez propriedades rurais no município de Itaporanga, PB, bem como testar a sensibilidade antimicrobiana *in vitro* dos microorganismos isolados das 557 amostras de leite coletadas frente a dez diferentes antibióticos. Os principais agentes isolados foram *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, e *Corynebacterium spp.* Sendo também identificados agentes ambientais como levedura e *Arcanobacterium pyogenes* e *Streptococcus uberis*. Também foi observado nas cepas de *Staphylococcus spp.* isoladas uma taxa de 90% positivo para o teste da betalactamase, sendo que a correlação de estirpes resistentes a penicilina e a produção de betalactamase de 78,16%. Tratar os animais num período de 1 a 3 dias e de 3 a 5 dias para mastite clínica foram apontados neste estudo como fatores de risco para infecção.

**Palavras-Chaves:** Mastite Bovina, sensibilidade *in vitro*, betalactamase, fatores de risco.

## ABSTRACT

**SÁ, ANNA VALEZKA VICENTE DE. Bovine mastitis in Itaporanga, Paraíba. Occurrence, etiology, *in vitro* sensibility antimicrobial and factors of risk associated to the infection.** (Work of Conclusion the Veterinary Medicine Course). Patos, CSTR/UFCG. 2009. 51 p.

The present research had as objective to determine the occurrence, etiology and factors of risk related to the bovine mastitis in ten rural shelters in Itaporanga, PB, and to test out the *in vitro* antimicrobial sensibility of the isolated microorganisms of 557 samples of milk collected facing ten different antibiotics. The main isolated agents were *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., and *Corynebacterium* spp. Being also identified environmental agents as yeast and *Arcanobacterium pyogenes* and *Streptococcus uberis*. Also it was observed in the *Staphylococcus* spp. strains isolated a rate of 90% positive for the test of the beta-lactamase, being that the correlation of resistant lineages the penicillin and the output of beta-lactamase of 78.16%. Treat animals in a period of 1 to 3 days and 3 to 5 days for clinical mastitis in this study were pointed out as for infection risk factors.

**Keywords:** Bovine mastitis, *in vitro* sensibility, beta-lactamase, risk factors.

## 1. INTRODUÇÃO

O leite é considerado o principal alimento para crianças no primeiro ano de vida, sendo fonte de cálcio, proteínas e outros nutrientes. Indicado também na dieta nutricional de adolescentes para um bom desenvolvimento físico e para indivíduos da terceira idade, como um fator de diminuição de risco a osteoporose.

Por ser um alimento de origem animal, pode ser veículo de microrganismos patogênicos ao Homem (Zoonoses). A qualidade do leite oferecida ao consumidor, esta relacionada à produção, distribuição e armazenamento do produto.

A mastite bovina tem sido apontada como a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros no mundo inteiro, causando sérios prejuízos econômicos tanto ao produtor de leite quanto à indústria de laticínios, apresentando aspectos importantes em relação à saúde pública.

O impacto da mastite vai além dos portões da fazenda. Mudanças na composição do leite (redução em cálcio, fósforo, proteína e gordura, e aumento em sódio e cloro) reduzem sua qualidade.

Atualmente, a questão da “qualidade e segurança” do leite e derivados, tem sido tratada com maior atenção. Fato esse, que se reflete com a criação da Instrução Normativa 51 que estabelece critérios mais rígidos quanto a contagem de células somática, contagem bacteriana e resíduos de antibióticos.

Para se obter um leite de boa qualidade, são adotados critérios de manejo, higiene e sanidade animal, diretamente na propriedade rural. Dentre estas medidas destaca-se o programa de controle de mastite que tem como princípio a prevenção.

Mastite é a inflamação da glândula mamária e caracteriza-se por alterações físicas, químicas e organolépticas do leite e alteração no tecido glandular. Causada principalmente por bactérias. Provoca perdas econômicas significativas e apreciáveis (leite descartado, custos com tratamento e reposição de indivíduos não produtivos, redução na produção leiteira total, etc.) e ainda que o controle desta enfermidade seja fundamentado na adoção de medidas higiênico-sanitárias, a antibioticoterapia pode exercer um importante papel especialmente se considerada a possibilidade da redução das infecções intramamárias e a conseqüente eliminação das prováveis fontes de infecção.

O município de Itaporanga, situado no Vale do Piancó , Sertão da Paraíba, tem se destacado no aumento contínuo da produção leiteira, bem como na utilização de tecnologias avançadas na criação de bovino de leite. Contudo, a escassez de dados sobre a ocorrência de mastite em vacas leiteiras e o uso de métodos inadequados no controle desta, dificulta o desenvolvimento da produção leiteira neste município.

Os objetivos do presente trabalho foram determinar a ocorrência e a etiologia da mastite bovina no município de Itaporanga, Paraíba, e identificar fatores de risco associados a infecção, considerando que as indicações terapêuticas são na maioria das vezes realizadas de forma empírica e que os testes de sensibilidade aos antimicrobianos são instrumentos muito úteis para avaliar o desenvolvimento de resistência em patógenos, também foi objetivo trabalho desse objetivo conhecer a sensibilidade “*in vitro*” frente a alguns antibióticos das cepas isoladas no leite de vacas com mastite podendo assim colaborar com os produtores de leite, com a finalidade de obter uma melhor qualidade do produto, maior lucratividade, bem como possibilitar um tratamento adequado aos animais acometidos por mastite, visando também o bem estar animal e diminuindo os riscos à saúde pública.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. MASTITE**

A mastite bovina é considerada a doença que acarreta os maiores prejuízos econômicos à produção leiteira, pela redução da quantidade, comprometimento da qualidade do leite produzido, perda total da capacidade secretora da glândula mamária ou mesmo pela morte de animais (COSTA, 2007). A mastite pode ser clínica (superaguda, aguda, subaguda e crônica) ou subclínica (LADEIRA et al, 2007).

As alterações mais importantes observadas no leite são: descoloração, aparecimento de coágulos e presença de grande número de leucócitos. A glândula mamária apresenta aumento de volume, elevação da temperatura e endurecimento em muitos casos clínicos. Contudo, uma grande proporção de glândulas acometidas não é facilmente identificada pela palpação manual ou no exame visual do leite empregando a caneca telada ou o caneco de fundo preto (RADOSTITS, 2000).

#### **2.1.1. MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA**

A mastite apresenta-se sob a forma clínica ou subclínica de acordo com a intensidade da inflamação; podendo ser de natureza fisiológica, traumática, alérgica, metabólica, psicológica, mas a infecção por bactérias invasivas e outros microrganismos (fungos, levedura, algas e possivelmente vírus) é a principal causa da doença (COSTA, 1998)

A mastite clínica apresenta sinais evidentes, tais como: edema, aumento de temperatura, endurecimento, dor na glândula mamária, grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite (FONSECA & SANTOS, 2000).

A forma subclínica é importante devido à maior prevalência nos rebanhos, difícil detecção e longa duração no tecido da glândula mamária. Embora a mastite clínica seja responsável por perdas expressivas, a subclínica assume elevada relevância econômica, em virtude dos prejuízos na produção e da maior ocorrência, comparativamente às formas clínicas de mastite (GROSS et al., 1987).



Segundo RUEGG (2003), a mastite infecciosa subclínica pode ser detectada através das alterações na composição do leite, apresentando resultado positivo aos testes de *California Mastitis Test* (CMT), Contagem de Células Somáticas (CCS) ou condutibilidade elétrica do leite, sendo confirmada pelo crescimento microbiano. Para o controle da mastite é necessário a realização dos exames microbiológicos de cada quarto mamário para determinar os patógenos existentes no rebanho.

Devido ao fato de diferentes e inúmeros microrganismos patogênicos estarem envolvidos na etiologia da mastite e estes poderem ser disseminados no rebanho ou mesmo transmitidos ao homem pela ingestão de leite e derivados determina-se a importância não só do diagnóstico da mastite como também a ocorrência dos portadores, que são aqueles que possuem o microrganismo, mas foram negativos ao exame de caneca preta e CMT (COSTA, et al. 2005)

### **2.1.2. MASTITE AMBIENTAL E CONTAGIOSA**

A mastite infecciosa é causada por uma ampla variedade de microrganismos, particularmente de origem bacteriana, com base nas fontes de infecção e características ou vias de transmissão, subdivididos em agentes contagiosos e ambientais.

A forma contagiosa caracteriza-se por baixa incidência de casos clínicos e alta incidência de casos subclínicos, geralmente de longa duração ou crônicos e apresentam alta contagem de células somáticas (CCS). Esse tipo de mastite é causado por patógenos cujo habitat preferencial é o interior da glândula mamária e a superfície da pele dos tetos. Desta forma, o principal momento de transmissão ocorre durante a ordenha, causados principalmente por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Corynebacterium bovis*. (SVILAND & WAAGE, 2002)

Na mastite ambiental ao contrário da mastite contagiosa, a maioria das novas infecções ocorre durante o período entre as ordenhas, embora também haja ocorrência de novos casos durante a ordenha, especialmente em situações nas quais há problemas de funcionamento do sistema de ordenha. Além disso, dada a grande disseminação dessas bactérias ambientais na propriedade, todas as categorias animais estão sob risco: vacas em

lactação, vacas secas e novilhas (BEAUDEAU et al., 2002). Representados principalmente pelas enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klesbsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*), *Pseudomonas aeruginosa*, fungos e algas (SMITH e HOGAN, 1998; RADOSTITS et al., 2002).

### 2.1.3. DIAGNOSTICO DA MASTITE

A mastite clínica pode se apresentar de forma superaguda, aguda, subaguda e crônica. Seu diagnóstico é realizado através dos sinais clínicos, como às anormalidades na glândula mamária e no leite. Na forma superaguda da doença são observados além dos sinais característicos de inflamação, como calor, dor e endurecimento da glândula mamária, os sintomas sistêmicos como: febre, depressão e anorexia (Quadro 1).

O leite apresenta alterações, como presença de grumos e ou sangue; nas mastites agudas o quadro é idêntico a superaguda sem os sinais sistêmicos; as formas subagudas e crônicas não apresentam sintomas sistêmicos, sendo marcadas por menores alterações da glândula mamária e da secreção e composição do leite (LADEIRA et al., 2007) (Figura1). Para o diagnostico de mastite clínica é realizado o teste da caneca fundo preto ou telada (Tamis), antes do início de cada ordenha, neste observa-se a presença de grumos no leite, coágulos de sangue e/ou secreção com aspecto de soro (Quadro2).

Outro fator importante no diagnóstico de mastite clínica é a realização do exame microbiológico, com a finalidade de conhecer o agente etiológico e proceder ao tratamento adequado.

Para o diagnostico da mastite subclínica, pode ser utilizados métodos simples, que podem ser realizados a campo e que, apesar de serem subjetivos, estimam o número de célula somáticas no leite como o “*California Mastites Test*” (CMT), Winsconsi Mastitis Test (WMT) ou o *Whiteside*. Entretanto, existem teste que necessitam de equipamentos específicos, como medidor de condutibilidade elétrica e o contador eletrônico de células somáticas. As células somáticas são células do mecanismo de defesa do organismo, que migram da corrente circulatória para a glândula mamária. Valores superiores a 280.000 células são indicativos de mastite subclínica (FONSECA & SANTOS, 2000).

**Quadro1:** Critérios de classificação da intensidade do processo inflamatório da glândula mamária por exame clínico.

| Classificação | Palpação                                  | Intensidade do processo inflamatório da glândula mamária |
|---------------|---|--|
| SE            | Sem edema                                 | Sub-aguda  |
| EL            | Edema leve                                | Sub-aguda  |
| EM            | Edema moderado                            | Aguda  |
| EG            | Edema grave                               | Aguda  |
| ECS           | Edema grave com comprometimento sistêmico | Hipergaguda  |
| F             | Fibrosamento                              | Crônica  |

Fonte: GARINO 2004

**Quadro2:** Escores do exame de secreção láctea pelo método do Tamis (Caneca de fundo escuro), para detecção de mastite clínica.

| Tamis | Grumos | Grumos e /ou filamento e nº e tamanho |
|-------|--------|---------------------------------------|
| 1     | PP     | Poucos e pequenos                     |
| 2     | MM     | Moderados e médios                    |
| 3     | GM     | Grandes e muitos                      |
| 4     | SA     | Secreção alterada                     |

Fonte:GARINO, 2004

O California Mastitis Test (CMT) é um dos testes mais usuais para o diagnóstico da mastite subclínica, por sua praticidade de uso e resultado rápido. Sendo um indicador indireto da contagem de células somáticas no leite. (Quadro3)

Este consiste na coleta de leite dos quartos mamários, individualmente, em uma bandeja apropriada, adicionando-se um detergente aniônico neutro, que atua rompendo a membrana das células e liberando o material nucléico (DNA), que apresenta alta viscosidade. De acordo com a intensidade da reação classifica-se em: negativa (0), reação leve (+), moderada (++) e intensa (+++) (FONSECA & SANTOS, 2000). (Figura2)

**Quadro 3:** Interpretações dos escores do exame de CMT, para detecção da mastite subclínica.

| Símbolo                 | Significado | Descrição da reação   |
|-------------------------|-------------|---|
| (-) negativo            |             | Reação ainda se apresenta fluída  |
| (T) traços              |             | Surge um ligeiro precipitado que some com a movimentação  |
| + ligeiramente positiva |             | A viscosidade se torna aumentada, porém, sem a formação de gelatina que dificilmente some com a movimentação. |
| ++ francamente positiva |             | Mistura bem viscosa durante a movimentação de sentido centrífugo  |
| +++ fortemente positiva |             | Tem-se uma evidente gelificação, de sentido centrípeta, onde a massa se adere ao fundo da placa               |

SCHALM *et al.*,(1971). (FONTE: GARINO, 2004)

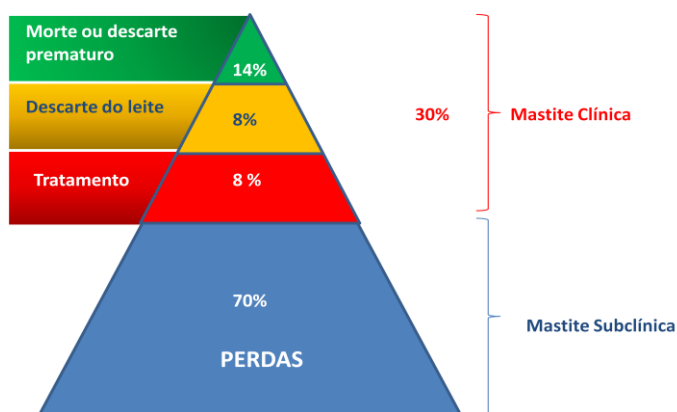
## 2.2. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Sob o ponto de vista econômico, a mastite é a doença mais relevante de bovinos leiteiros em todos os continentes, afetando drasticamente a produção e a qualidade do leite e derivados (PYÖRÄLÄ, 2002).

Estima-se um prejuízo de cerca de US\$ 1,8 bilhão por ano nos Estados Unidos, em função da ocorrência de mastite (NMC, 1996). Já no Brasil, em função da alta prevalência da doença nos rebanhos, a perda da produção estaria entre 12 e 15%, ou seja, um total de 2,8 bilhões de litros/ano de uma produção anual de 21 bilhões de litros (FONSECA E SANTOS, 2000).

Aproximadamente 30% das perdas econômicas causadas pela mastite referem-se à mastite clínica, onde 14% é devido à casos de morte e descarte prematuro dos animais, 8% descarte do leite anormal e leite proveniente das vacas em tratamento com antibiótico e 8% de custos com veterinários e medicamentos utilizados no tratamento. Na mastite subclínica, a

perda estimada é de 70%, tendo como principal causa a redução na produção de leite (Figura1).



**Figura 1:** Estimativa de perdas econômicas ocasionadas por mastite.  
**Fonte:** Adaptado de <http://www.itambe.com/Cmi>

Conforme citado por Fonseca e Santos (2000) estima-se que os casos clínicos de mastite apresentam o custo médio de R\$310,00 por vaca/ano, incluindo neste valor os seguintes itens:

- ✓ Perdas de produção de leite;
- ✓ Descarte do leite em função do tratamento;
- ✓ Medicamentos;
- ✓ Serviços veterinários;
- ✓ Mão de obra extra.

Porém, a perda menos observada, e a mais importante, é a redução na produção de leite em função da mastite subclínica. Uma das principais formas de estimar as perdas daí decorrentes na produção de leite é pelo uso da CCS (Contagem de Células Somáticas). Trata-se de perdas de produção que podem variar de 10 a 30% da produção leiteira por lactação. (FONSECA E SANTOS, 2000).

**Quadro 4:** Estimativa da redução da produção de leite por quarto com CMT positivo.

| Escore CMT | Redução de Produção por Quarto |
|------------|--------------------------------|
| T          | 3 a 6%                         |
| +          | 10 a 11%                       |
| ++         | 16 a 26%                       |
| +++        | 25 a 46%                       |

PHILPOT, W.E. Symposium on Bovine Mastitis, 1984.

Fonte: GARINO, 2004

### 2.3. ETIOLOGIA

Até 1998, podia-se estimar mais de 150 diferentes espécies de microrganismos envolvidos na etiologia da mastite infecciosa bovina. Porém, os principais gêneros de microrganismos são poucos. Os microrganismos envolvidos na casuística da mastite bovina foram convencionalmente agrupados de acordo com as fontes de infecção e vias de transmissão, sendo classificados como agentes contagiosos ou ambientais. Em relação aos agentes contagiosos, são aqueles que são transmitidos de uma vaca infectada e/ou do quarto infectado para uma vaca sadia e/ou quarto sadio principalmente durante a ordenha. Os agentes ambientais são oportunistas, estão presentes no ambiente em que o animal vive, sendo que a infecção pode ocorrer em qualquer momento da vida do animal. (COSTA, 1998).

As mastites causadas por patógenos ambientais são importantes devido ao difícil tratamento, podendo determinar a morte do animal, como resultado de septicemia e/ou toxemia (COSTA, 1998). De acordo com SMITH e HOGAN (1993) os principais patógenos ambientais são as bactérias Gram negativas, dentre estas, destacam-se as da família *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella* spp, e *Enterobacter* spp).

Destacam-se como agentes contagiosos, as bactérias do gênero *Staphylococcus* spp , *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *coli*, *Corynebacterium bovis*.

Na mastite contagiosa, a infecção da glândula mamária ocorre pelo canal do teto, a infecção originária das glândulas mamárias infectadas também pode ser transmitida para a

pele de outras vacas, pelos insufladores internos da ordenhadeira mecânica, mãos do ordenhador, panos úmidos, e qualquer outro carreador inerte (RADOSTITS, 2000).

O estabelecimento dos microrganismos na glândula mamária e o conseqüente desencadeamento do processo inflamatório apresentam a seguinte seqüência de eventos: penetração – instalação – multiplicação (COSTA, 1998). Portanto, a infecção por um determinado patógeno na glândula mamária depende de vários fatores ligados: a virulência do microrganismo, ao mecanismo de defesa do hospedeiro e ao meio ambiente.

#### **2.4. SUSCEPTIBILIDADE *IN VITRO*.**

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos é uma das provas mais importantes do laboratório de microbiologia clínica, pois avalia a suscetibilidade dos microrganismos frente á diferentes agentes antimicrobianos (LILIAN, 2007).

Os resultados destes testes influenciam diretamente na escolha da terapêutica antimicrobiana, determinando o uso de um antimicrobiano adequado, evitando assim uma conseqüente falha terapêutica e risco para o paciente, e evitando prejuízo ao produtor com o uso de medicamentos ineficientes.

Ainda que o controle desta enfermidade seja fundamentado na adoção de medidas higiênico-sanitárias, a antibioticoterapia pode exercer um importante papel especialmente se considerada a possibilidade da redução das infecções intramamárias e a conseqüente eliminação das prováveis fontes de infecção (SILVA, 2005).

Para tanto o isolamento bacteriano e respectivo antibiograma são ferramentas importantes na determinação de um tratamento eficaz. Além de serem úteis para confirmar o diagnóstico clínico, os resultados laboratoriais demonstram erros de manejo, sugerem possíveis correções, que podem reduzir sensivelmente as recidivas (FERNANDES, 2006).

O antibiograma é um teste que oferece como resultado padrões de susceptibilidade, de uma bactéria específica aos antimicrobianos sejam eles antibióticos ou quimioterápicos. Os resultados desses testes possuem grande importância e são aplicados na triagem dos fármacos. A aferição de sensibilidade é fundamental para a certeza de se estar utilizando o produto certo e que melhor se aplica no combate aos agentes de mastite em cada propriedade (FERNANDES, 2006).

Ainda deve-se ressaltar que os resíduos de antibióticos no leite de consumo representam riscos à saúde pública e interferem na produção dos derivados, inviabilizando muitas vezes a produção destes. Dessa forma o uso racional e quando necessário, bem como a utilização de fármacos adequados a cada caso, diminui consideravelmente os prejuízos ao produtor. (RAIA Jr, et al. 1999).

## 2.5. RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS

A resistência aos antibióticos beta-lactâmicos surgiram mesmo antes do aparecimento do primeiro beta-lactâmico (penicilina) ter sido desenvolvido. A primeira beta-lactamase foi identificada inicialmente em cepas de *Escherichia coli* antes mesmo da liberação das penicilinas para uso terapêutico. Entretanto, na era da penicilina, verificou-se o rápido crescimento da resistência em *Staphylococcus aureus* devido a uma penicilinase codificada por plasmídeo. Posteriormente, foi verificado que este evento se espalhou para outros isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e outras espécies de *Staphylococcus* (BRADFORD, 2001).

Este fator pode ser transmitido a outros microrganismos da mesma espécie, favorecendo à manutenção de linhagens resistentes às diferentes drogas, dificultando conseqüentemente, a terapia antimicrobiana para infecções desencadeadas pelo agente (TRABULSI e TOLEDO, 1999).

A presença do fator R ou plasmídeo de resistência, confere às bactérias a capacidade de produzir enzimas de diversos tipos que podem induzir a resistência às penicilinas, cefalosporinas, cloranfenicol e aos aminoglicosídeos, (BUSH, 1989; MURRAY, 1999).

As enzimas beta-lactamases, possuem atividade inibitória frente às penicilinas e cefalosporinas, localizam-se na membrana citoplasmática da bactéria e são constitucionais e mediadas por plasmídeos. Estas enzimas atuam rompendo o anel beta-lactâmico existente na molécula desses antibióticos (BUSH, 1989; MURRAY, 1999).

Em muitos gêneros de bactérias gram-negativas, a produção de beta-lactamase cromossomal é comum. Estas enzimas constituem o principal mecanismo de resistência das bactérias Gram negativas aos antimicrobianos betalactâmicos. (LIVERMORE, 1995). As beta-lactamases são enzimas que atuam hidrolizando o anel beta-lactâmico, impedindo a sua



atividade antimicrobiana. Porém, a ação das beta-lactamases depende da quantidade enzima produzida e de fatores físicos e químicos (LIVERMORE, 1995).

As beta-lactamases podem ser produzidas por inúmeras espécies bacterianas Gram positivas e Gram negativas, diferindo em estrutura e localização. Em bactérias Gram positivas, as beta-lactamases são secretadas para o meio externo da célula (LIVERMORE, 1997). Os genes codificadores destas enzimas podem estar localizados no DNA cromossômico ou no DNA extra cromossômico (plasmídeos ou transposons) (MEDEIROS, 1984).

## **2.6. PROGRAMA CONTROLE DE MASTITE**

O controle da mastite nos rebanhos leiteiros constitui um importante passo para a elaboração de produtos de boa qualidade e diminuição dos riscos à saúde da população.

Para o controle da mastite deve-se inicialmente, conhecer a situação do rebanho, como manejo adotado na propriedade, o estado geral de saúde dos animais e principalmente o grau de acometimento destes por esta enfermidade.

Segundo Costa (1998), um programa de controle de mastite visa: reduzir as infecções pré-existentes, diagnosticando e tratando precocemente os casos clínicos, tratando as mastites subclínicas durante a interrupção da lactação e descartando animais com três casos clínicos por lactação; prevenir novas infecções, utilizando manejo e higiene de ordenha corretos, desinfecção pós-ordenha e manutenção adequada do equipamento de ordenha e por fim monitorando o nível de mastite clínica, através do teste da caneca de fundo preto realizado a cada ordenha e subclínica, através do CMT ou contagem de células somáticas; estabelecer metas como: nível de mastite clínica igual ou inferior a 1 %, nível de mastite subclínica igual ou inferior a 15 %, nível de vacas recém-paridas com mastite menor que 10 % e contagem celular abaixo de 250.000 células/ml.

As estratégias de controle deverão variar de acordo com o rebanho e seu manejo, com o sistema de ordenha e microrganismos envolvidos, e com outros fatores relacionados à ocorrência da doença (PHILPOT; NICKERSON, 2002). Pesquisadores de vários países consideram fundamental no controle ou erradicação dos principais microrganismos: o manejo correto e a higienização dos animais, da sala e dos equipamentos de ordenha; o

funcionamento adequado da ordenhadeira mecânica; o tratamento correto dos casos clínicos à lactação e o tratamento específico à secagem.

Esta última medida torna-se a melhor forma de controlar infecções por *Staphylococcus aureus* (BRAMLEY et al., 1996).

Além do controle, recomenda-se o tratamento da mastite subclínica durante a lactação, em rebanhos com elevado número de quartos com infecção por *Streptococcus agalactiae*, uma vez que a presença deste microrganismo pode gerar aumento na contagem bacteriana total - CBT e na Contagem de Células Somáticas - CCS (BRAMLEY et al., 1996; KEEFE, 1997).

O tratamento para vaca seca é feita no final da lactação geralmente entre 30 e 60 dias antes do parto dependendo do manejo da propriedade, a condição corporal e o nível de produção das vacas em questão, esta prática é um dos componentes essenciais para qualquer programa de controle da mastite e melhoria da qualidade do leite, por proporcionar uma taxa de cura mais elevada do que o tratamento durante a lactação, recuperando o parênquima da glândula mamária e eliminando agentes causadores da mastite por ação do antibiótico de uso intramamário, específico para esta finalidade (BRAMLEY et al., 1996).

## **2.7. CONTROLE DE MASTITE EM NOVILHAS**

A ocorrência de mastite ao parir ou logo após o parto em novilhas primíparas tem demonstrado grande importância no Brasil e em diferentes países. Vários pesquisadores tem apontado o *Staphylococcus* coagulase negativo como o principal agente etiológico de mastite em novilhas (COSTA et al. 1996; PARDO et al. 1998; GREEN et al , 2005; DE VLIEGHER et al., 2005, PIEPERS et al, 2009).

A adoção de medidas de controle que visam minimizar a exposição aos fatores de risco para a mastite clínica e subclínica em novilhas primíparas no pré e pós-parto, como higienização da glândula mamária, prevenção de distocias no momento do parto, infusão de selantes de tetos, desinfecção de tetos com soluções à base de iodo, controle de moscas nos estábulos, separação das novilhas de vacas adultas, rotação de pastagens, diminuição da densidade animal por área pastejada, manejo nutricional adequado, maior espaçamento nos estábulos, além de limpeza e higienização das instalações, em conjunto com o tratamento de

infecções intramamária existentes, tem sido empregadas na rotina das propriedades (MC DOUGALL, et al, 2009).

A maioria das novilhas não é acompanhada no período do pré-parto e os casos de mastite são observados apenas após o parto ou aparecimento dos primeiros sinais clínicos no início da primeira lactação, dessa forma animais jovens podem estar acometidos por infecções intramamárias e transportá-las por um período superior a um ano, antes de serem diagnosticadas. O maior desenvolvimento do tecido secretor em novilhas jovens ocorre durante a primeira gestação por isso a atividade secretória pode ser afetada negativamente, sendo fundamental a proteção da glândula mamária contra microrganismos patogênicos, assegurando a máxima produção durante a primeira lactação (NICKERSON, et al., 2009)

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. AS PROPRIEDADES RURAIS**

Foram selecionadas 10 propriedades rurais aleatoriamente, associadas a Cooperativa Leiteira de Itaporanga, no município de Itaporanga, Paraíba, num total de 154 animais.

Foi aplicado um questionário em todas as propriedades com o intuito de colher informações sobre o seu sistema de manejo com o gado leiteiro, podendo assim identificar os possíveis fatores de risco relacionados a estes (anexo 1).

Dentre estas propriedades rurais, 8 utilizavam um sistema ordenha manual e 2 propriedades realizavam ordenha mecânica, foi observado também o sistema de criação semi-intensivo em todas as unidades de produção leiteira, onde os animais eram soltos no pasto durante o dia, recolhidos ao curral no final da tarde e suplementados com concentrados (milho, torta de algodão, trigo, soja).

Nas fazendas de ordenha manual, esta era realizada no próprio curral e as propriedades de ordenha mecânica possuíam sala de ordenha.

Foi entregue a cada um dos proprietários, das localidades investigadas, um relatório de visita (anexo 2) com sugestões de como melhorar o seu manejo a fim de controlar mais eficientemente a mastite em seus animais e obter um melhor desempenho na produção leiteira. Este relatório ainda continha estimativas de perda na produção, segundo os resultados do CMT, e o resultado dos exames microbiológicos, destacando-se o antibiograma (anexo 3) com a descrição do tratamento mais eficiente para cada um de seus animais.

#### **3.2. OS ANIMAIS**

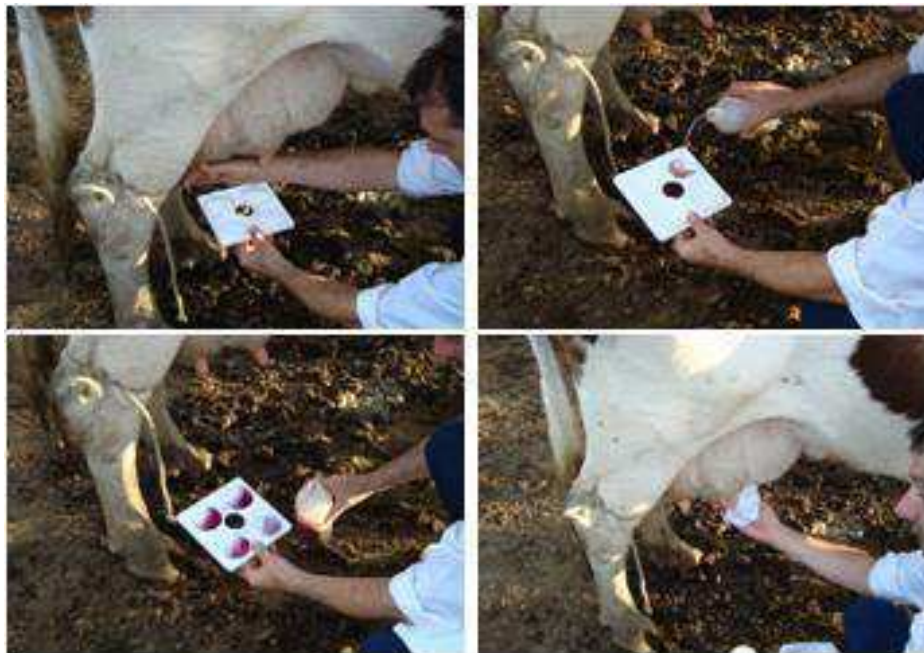
Os rebanhos foram constituídos na sua maioria de vacas Girolando, sendo também encontrados animais da raça Holandesa e SRD, com média de produção de leite 13 litros/animal /dia. Todas as propriedades apresentavam duas ordenhas diárias, sendo o manejo com bezerro ao pé.

### 3.3. AS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas durante a ordenha, sendo as vacas submetidas ao teste de Tamis, para detecção de mastite clínica (figura 1), e o teste de CMT, para detecção de mastite subclínica (figura 2), de acordo com as instruções de Schalm & Nalander (1957).



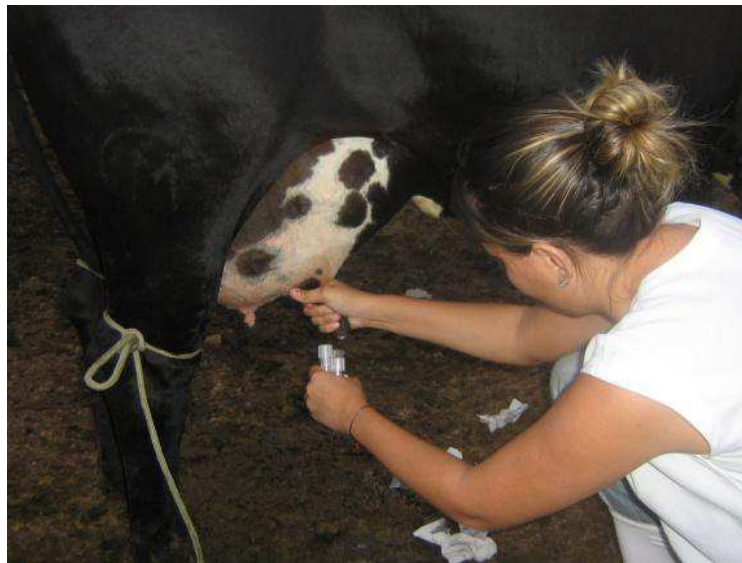
**Figura2:** Mastite clínica, alteração visível do leite, presença de grumos no teste da caneca preta.



**Figura 3:** Realização do exame de CMT “*California Mastites Test*”

Na glândula mamária foi realizado o exame físico através da inspeção e palpação. Para a coleta de amostras de leite, procedeu-se a lavagem dos tetos com água com desinfetante (Hipoclorito de sódio), secos individualmente com papel toalha descartável, era realizado antiseptia com solução de álcool 70% iodado e coletado aproximadamente 5 ml de leite individualmente de cada quarto mamário em tubos de ensaio esterilizados (figura 3).

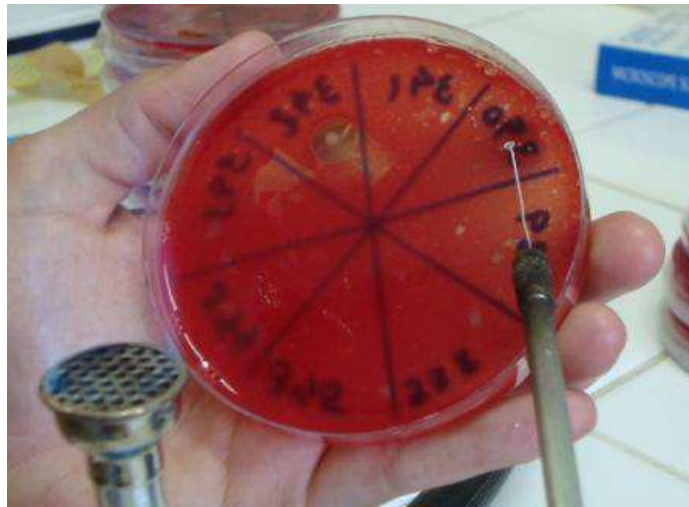
Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmicas e, enviadas sob refrigeração para o Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da UFCG, Campus de Patos, para a realização dos exames microbiológicos.



**Figura 4:** Coleta de leite bovino no município de Itaporanga-Paraíba - 2009

### 3.4. EXAMES MICROBIOLÓGICOS

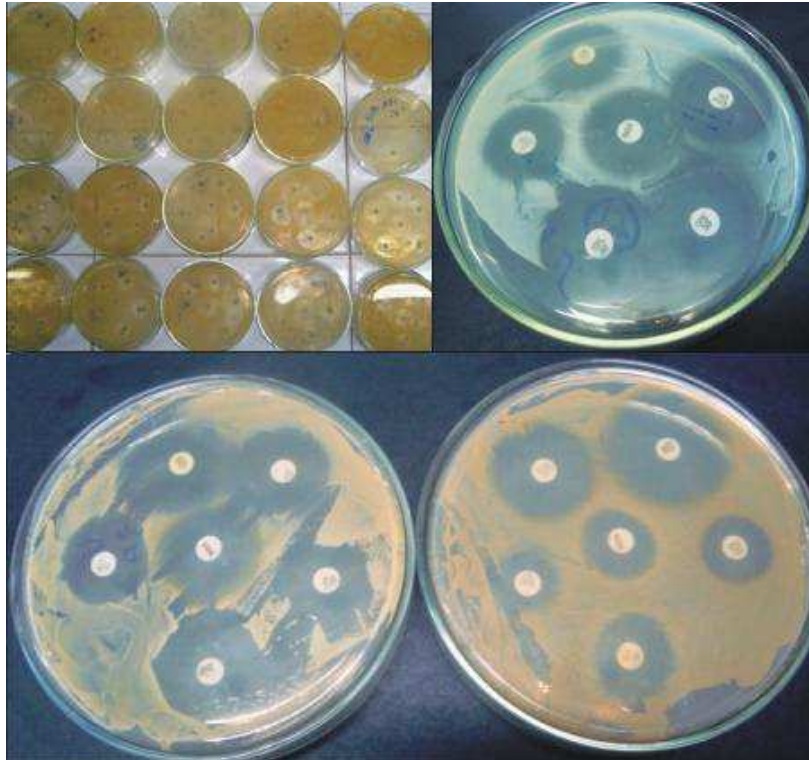
No laboratório, as amostras foram semeadas em meio ágar-sangue ovino 5% e incubadas a 37° C em aerobiose (figura 4), sendo realizadas leituras com 24 a 72 horas de incubação, fazendo-se então a leitura e interpretação de aspectos macroscópicos das colônias e a observação da fisiologia bacteriana após a coloração de Gram.



**Figura 5:** Cultivo microbiológico em ágar sangue ovino

Os microrganismos isolados foram submetidos às provas de identificação. As mais utilizadas foram: produção de catalase, plasma coagulase, urease; esculina, acidificação de carboidratos; "Camp Test", Produção de acetoína, oxidase , DNase teste , baseado em MURRAY *et al*, 1999.

Para a realização dos testes de susceptibilidade *in vitro*, foram utilizados discos impregnados com concentrações fixas dos seguintes antimicrobianos: Gentamicina (10mcg), Ampicilina (30 mcg), Cloranfenicol (30 mcg), Tetraciclina (30 mcg), Oxacilina (1 mcg), Penicilina (10 UI), Norfloxacin (10 mcg), Cefalotina (30 mcg), Cefoxitina (30 mcg), Cefalexina (30 mcg), Gentamicina (10mcg) (figura 5).



**Figura 6:** Testes de susceptibilidade *in vitro* dos microorganismos isolados de casos de mastite bovina de dez propriedades do município de Itaporanga – 2009.

Os antibiogramas foram realizados em meio de Müller e Hinton, método de difusão, segundo técnica de Kirby e Bauer. A interpretação dos antibiogramas foi baseada na medida do diâmetro do halo de inibição do crescimento comparada às tabelas de difusão dos antimicrobianos (CLSI, 2005) para controle de qualidade dos testes de antibiograma foi utilizado a cepa de *Staphylococcus Aureus* ATCC 25922.

Adicionalmente, 110 *Staphylococcus* spp isolados foram submetidos ao teste de produção de beta-lactamase através de cefalosporina cromogênica (Cefinase® - Becton-Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD).



#### 4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A análise de fatores de risco foi efetuada em duas etapas: análise univariada e análise multivariada. Na análise univariada, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente (condição sanitária da propriedade). As que apresentaram um valor de  $p \leq 0,2$  pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher, quando indicado (Zar 1999), foram selecionadas e oferecidas para a análise multivariada, utilizando-se a regressão logística múltipla (Hosmer & Lemeshow 2000). O ajuste do modelo final foi verificado com o teste de Hosmer e Lemeshow, no qual um  $p \geq 0,05$  indica que o modelo está ajustado. A colinearidade entre as variáveis preditoras foi verificada por meio de análise de correlação e, para aquelas que apresentaram forte colinearidade (coeficiente de correlação  $\geq 0,9$ ), uma das duas foi excluída da análise múltipla de acordo com a plausibilidade biológica (Dohoo et al. 1996). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. As análises foram feitas considerando reações sorológicas para qualquer sorovar e para o sorovar mais prevalente. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 13.0 *for Windows*.

## 5. RESULTADOS

Nas tabelas 1 e 2 estão apresentados os resultados de mastite clínica e mastite subclínica nos quartos mamários, respectivamente. Verificou-se que o índice de mastite clínica em quartos mamários nas propriedades avaliadas foi de 1,39% e 5,19% para os animais infectados (tabela 3).

**Tabela 1:** Resultados do teste de tamis (caneca de fundo escuro) realizados em 578 quartos mamários de 154 animais em lactação, para verificação de mastite clínica, de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.

| TAMIS    | N   | %     |
|----------|-----|-------|
| NEGATIVO | 569 | 98,61 |
| T        | 0   | 0     |
| +        | 5   | 0,87  |
| ++       | 0   | 0     |
| +++      | 3   | 0,52  |
| TOTAL    | 577 |       |

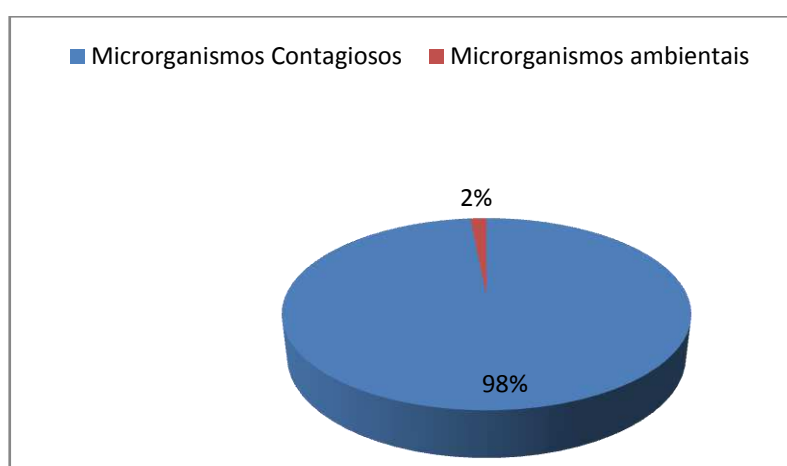
**Tabela 2:** Resultados do teste de CMT (California Mastitis Test) realizados em 560 quartos mamários de 154 animais em lactação, para verificação de mastite subclínica, de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.

| CMT      | Nº  | %     |
|----------|-----|-------|
| NEGATIVO | 329 | 57,82 |
| T        | 10  | 1,76  |
| +        | 124 | 21,79 |
| ++       | 62  | 10,90 |
| +++      | 44  | 7,73  |
| TOTAL    | 569 |       |

**Tabela 3:** Níveis de mastite clínica e subclínica em animais e quartos mamários ,de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.

|  | Nº  | %     |
|--|-----|-------|
| Nível de mastite clínica em quartos    | 8   | 1,39  |
| Nível de mastite subclínica em quartos | 145 | 25,48 |
| Nível de mastite clínica em animais    | 8   | 5,19  |
| Nível de mastite subclínica em animais | 77  | 50,00 |
| Quartos afuncionais (perdidos)         | 15  | 2,60  |

A ocorrência de mastite subclínica em quartos mamários foi de 25,48% com 50% dos animais infectados. Na tabela 4 estão apresentados os resultados das análises microbiológicas dos casos de mastite clínica, subclínica e animais portadores (CMT negativo) das dez propriedade avaliadas. Verificou-se no presente estudo que das 577 amostras coletadas de 154 animais em lactação, 45,75% foram positivos para o exame microbiológico. Em relação aos microrganismos isolados, a frequência de agentes contagiosos foi maior que os ambientais, observando-se 98,48% e 1,52%, respectivamente (tabela 5, figura 6).



**Figura 7:** Porcentagem de microrganismos contagiosos e ambientais isolados de casos de mastite bovina.

**Tabela 4:** Etiologia da mastite: clínica, subclínica e portadores , de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.

| Microbiológico   | MC       | %           | MSC        | %            | Port.      | %            | Total      | %            |
|--|----------|-------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|
| <b>Staphylococcus spp (Total)</b>                                | <b>3</b> | <b>37,5</b> | <b>84</b>  | <b>36,52</b> | <b>29</b>  | <b>8,55</b>  | <b>116</b> | <b>20,10</b> |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo                         | 2        | 25          | 45         | 19,57        | 13         | 3,83         | 60         | 10,40        |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase negativo                         | 1        | 12,5        | 39         | 16,96        | 16         | 4,72         | 56         | 9,71         |
| <i>Staphylococcus</i> spp  | 0        | 0           | 20         | 8,70         | 0          | 0,00         | 20         | 3,47         |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                                     | 1        | 12,5        | 33         | 14,35        | 6          | 1,77         | 40         | 6,93         |
| <i>Staphylococcus chromogenes</i>                                | 0        | 0           | 2          | 0,87         | 3          | 0,88         | 5          | 0,87         |
| <i>Staphylococcus hyicus</i>                                     | 0        | 0           | 3          | 1,30         | 0          | 0,00         | 3          | 0,52         |
| <i>Staphylococcus intermedius</i>                                | 0        | 0           | 3          | 1,30         | 6          | 1,77         | 9          | 1,56         |
| <i>Staphylococcus warneri</i>                                    | 0        | 0           | 5          | 2,17         | 0          | 0,00         | 5          | 0,87         |
| <i>Staphylococcus lugdunensis</i>                                | 0        | 0           | 0          | 0,00         | 1          | 0,29         | 1          | 0,17         |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i>                              | 0        | 0           | 1          | 0,43         | 2          | 0,59         | 3          | 0,52         |
| <i>Staphylococcus schleiferi</i>                                 | 0        | 0           | 2          | 0,87         | 3          | 0,88         | 5          | 0,87         |
| <i>Staphylococcus xilosus</i>                                    | 0        | 0           | 2          | 0,87         | 0          | 0,00         | 2          | 0,35         |
| <i>Staphylococcus aureus</i> / <i>Streptococcus dysgalactiae</i> | 0        | 0           | 1          | 0,43         | 0          | 0,00         | 1          | 0,17         |
| <i>Staphylococcus waineri</i> / <i>Streptococcus uberis</i>      | 0        | 0           | 1          | 0,43         | 0          | 0,00         | 1          | 0,17         |
| <i>Staphylococcus aureus</i> / <i>Corynebacterium</i> spp        | 0        | 0           | 3          | 1,30         | 3          | 0,88         | 6          | 1,04         |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> / <i>Corynebacterium</i> spp   | 1        | 12,5        | 2          | 0,87         | 3          | 0,88         | 6          | 1,04         |
| <i>Staphylococcus intermedius</i> / <i>Corynebacterium</i> spp   | 0        | 0           | 2          | 0,87         | 1          | 0,29         | 3          | 0,52         |
| <i>Staphylococcus hyicus</i> / <i>Corynebacterium</i> spp        | 1        | 12,5        | 1          | 0,43         | 0          | 0,00         | 2          | 0,35         |
| <i>Staphylococcus waineri</i> / <i>Corynebacterium</i> spp       | 0        | 0           | 2          | 0,87         | 1          | 0,29         | 3          | 0,52         |
| <i>Staphylococcus xilosus</i> / <i>Corynebacterium</i> spp       | 0        | 0           | 1          | 0,43         | 0          | 0,00         | 1          | 0,17         |
| <b>Streptococcus spp (total)</b>                                 | <b>3</b> | <b>37,5</b> | <b>17</b>  | <b>7,39</b>  | <b>3</b>   | <b>0,88</b>  | <b>23</b>  | <b>3,99</b>  |
| <i>Streptococcus uberis</i>                                      | 0        | 0           | 1          | 0,43         | 0          | 0,00         | 1          | 0,17         |
| <i>Streptococcus agalactiae</i>                                  | 2        | 25          | 7          | 3,04         | 0          | 0,00         | 9          | 1,56         |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i>                                | 0        | 0           | 4          | 1,74         | 3          | 0,88         | 7          | 1,21         |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> / <i>Corynebacterium</i> spp     | 1        | 12,5        | 1          | 0,43         | 0          | 0,00         | 2          | 0,35         |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i> / <i>Corynebacterium</i> spp   | 0        | 0           | 2          | 0,87         | 0          | 0,00         | 2          | 0,35         |
| <b>Corynebacterium spp (total)</b>                               | <b>4</b> | <b>50</b>   | <b>71</b>  | <b>30,87</b> | <b>76</b>  | <b>22,42</b> | <b>151</b> | <b>26,17</b> |
| <i>Corynebacterium</i> spp                                       | 1        | 12,5        | 57         | 24,78        | 67         | 19,76        | 125        | 21,66        |
| <b>Levedura (total)</b>  | <b>0</b> | <b>0</b>    | <b>1</b>   | <b>0,43</b>  | <b>0</b>   | <b>0,00</b>  | <b>1</b>   | <b>0,17</b>  |
| Levedura   | 0        | 0           | 1          | 0,43         | 0          | 0,00         | 1          | 0,17         |
| <b>Arcanobacterium pyogenes (total)</b>                          | <b>1</b> | <b>12,5</b> | <b>0</b>   | <b>0,00</b>  | <b>0</b>   | <b>0,00</b>  | <b>1</b>   | <b>0,17</b>  |
| <i>Arcanobacterium pyogenes</i>                                  | 1        | 12,5        | 0          | 0,00         | 0          | 0,00         | 1          | 0,17         |
| <b>Negativo</b>  | <b>0</b> | <b>0</b>    | <b>73</b>  | <b>31,74</b> | <b>240</b> | <b>70,80</b> | <b>313</b> | <b>54,25</b> |
| <b>Total</b>   | <b>8</b> |             | <b>230</b> |              | <b>339</b> |              | <b>577</b> |              |

MC = Mastite Clínica

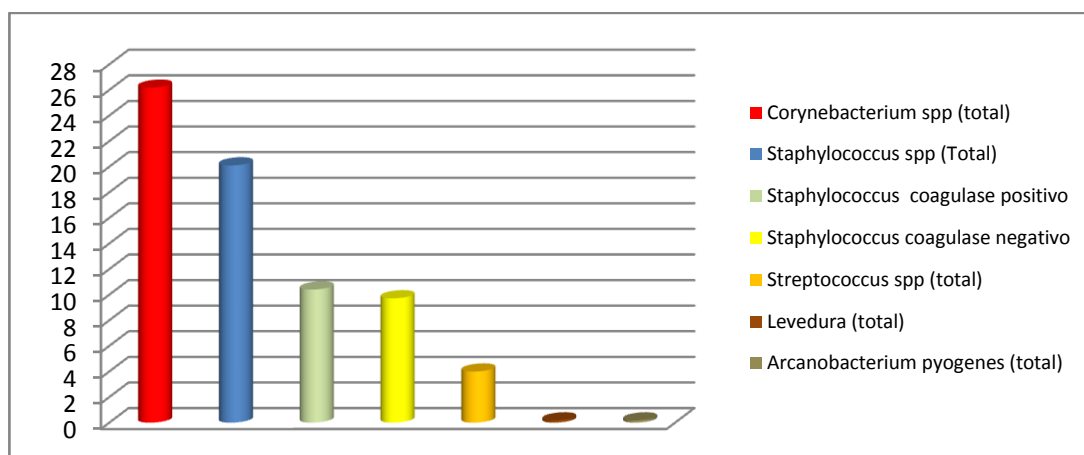
MSC = Mastite Subclínica

PORT = CMT Negativo (Portadores)

**Tabela 5:** Ocorrência de microrganismos ambientais e contagiosos isolados de glândulas mamárias no município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.

|                             | Nº  | %     |
|-----------------------------|-----|-------|
| Microorganismos Contagiosos | 260 | 98,48 |
| Microorganismos ambientais  | 4   | 1,52  |

Na avaliação geral, considerando a mastite clínica, mastite subclínica e portadores (CMT negativo), os principais agentes etiológicos isolados foram: *Corynebacterium* spp (26,17%), seguido por *Staphylococcus* spp (20,10%) e *Streptococcus* spp (3,99%) (Figura 7).



**Figura 8:** Principais microrganismos isolados de glândulas mamárias, de 154 animais em lactação de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009.

Dos oito casos de mastite clínica observados, foram isolados: 1 *Staphylococcus aureus*, 1 *Staphylococcus epidermidis* + *Corynebacterium* spp, 1 *Staphylococcus hyicus* + *Corynebacterium* spp, 2 *Streptococcus agalactiae*, 1 *Streptococcus agalactiae* + *Corynebacterium* spp, 1 *Corynebacterium* spp e 1 *Arcanobacterium pyogenes*.

Em relação aos microrganismos de casos de mastite subclínica, foram isolados: *Staphylococcus* spp 36,52% (sendo 19,57% coagulase positivo e 16,96% coagulase negativo), *Corynebacterium* spp 30,87%, *Streptococcus* spp 7,39% (sendo 3,48% *S. agalactiae*, 2,61% *S. dysgalactiae* e 0,43% *S. uberis*) e 0,43% *Levedura*.

Nos 339 casos de quartos mamários negativos ao teste de CMT, 99 (29,20%) apresentaram isolamento microbiológico, sendo os agentes etiológicos isolados: 22,42%

*Corynebacterium* spp, 8,55 % *Staphylococcus* spp (sendo 3,83% coagulase positivo e 4,72% coagulase negativo) e 0,88% *Streptococcus dygalactiae* (tabela 4).

Na tabela 6, estão apresentados os resultados dos testes de susceptibilidade (sensibilidade e resistências) frente aos dez antimicrobianos testados para os gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*, respectivamente. Com base nos resultados obtidos verificou-se que para *Staphylococcus* spp os maiores índices de sensibilidade foram frente à gentamicina e oxacilina (100%), cefoxitina e norfloxacina (90%) e cefalexina e cefalotina (80%). Os maiores níveis de resistência foram para penicilina e ampicilina 80% e 70 %, respectivamente

**Tabela 6:** Susceptibilidade dos *Staphylococcus* spp , *Streptococcus* spp e isolados mastite bovina de dez propriedades do município de Itaporanga – Paraíba – Brasil – 2009

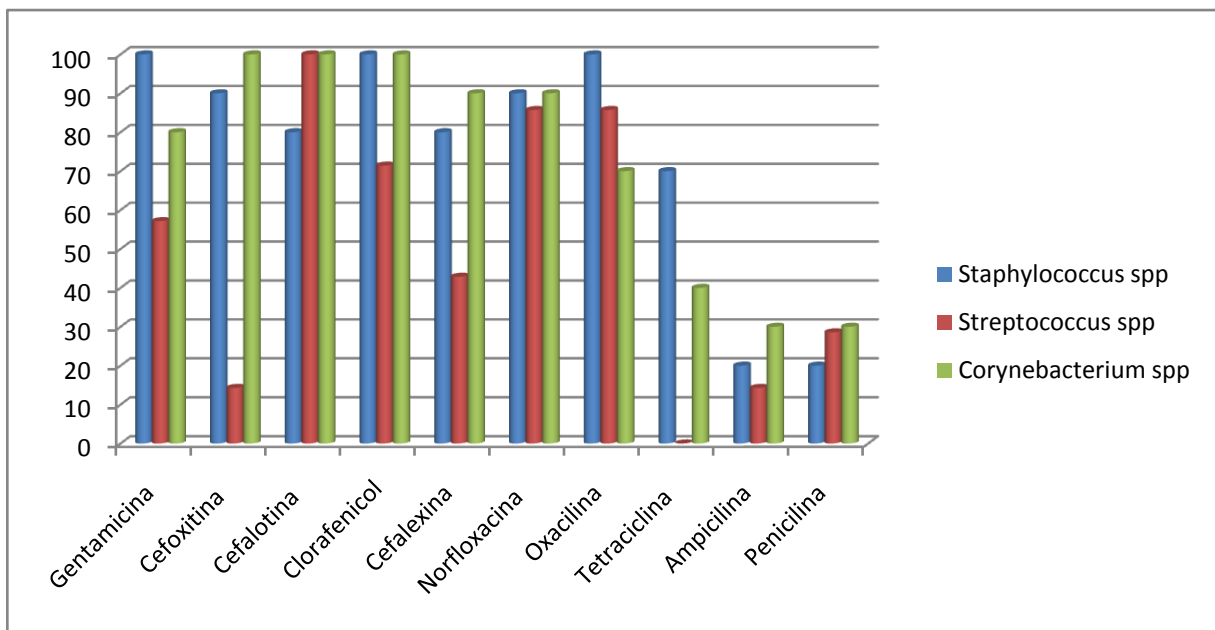
| Antimicrobianos | <i>Staphylococcus</i> spp |     | <i>Streptococcus</i> spp |       | <i>Corynebacterium</i> spp |     |
|-----------------|---------------------------|-----|--------------------------|-------|----------------------------|-----|
|                 | R %                       | S % | R %                      | S %   | R %                        | S % |
| Gentamicina     | 0                         | 100 | 42,85                    | 57,14 | 20                         | 80  |
| Cefoxitina      | 10                        | 90  | 57,14                    | 14,28 | 0                          | 100 |
| Cefalotina      | 20                        | 80  | 0                        | 100   | 0                          | 100 |
| Clorafenicol    | 0                         | 100 | 28,57                    | 71,42 | 0                          | 100 |
| Cefalexina      | 20                        | 80  | 57,14                    | 42,85 | 10                         | 90  |
| Norfloxacina    | 10                        | 90  | 0                        | 85,71 | 10                         | 90  |
| Oxacilina       | 0                         | 100 | 0                        | 85,71 | 30                         | 70  |
| Tetraciclina    | 30                        | 70  | 57,14                    | 0     | 50                         | 40  |
| Ampicilina      | 70                        | 20  | 57,14                    | 14,28 | 60                         | 30  |
| Penicilina      | 80                        | 20  | 71,42                    | 28,57 | 70                         | 30  |

R= Resistente

S=Sensível

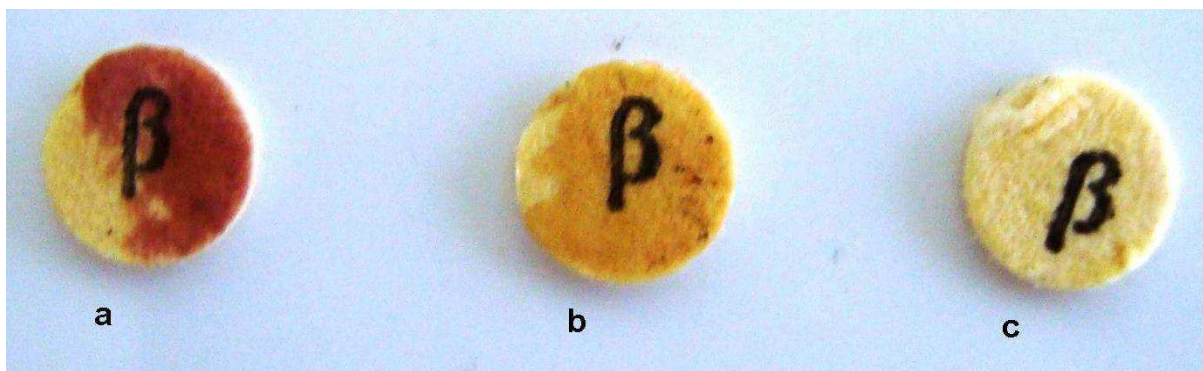
Para *Streptococcus* spp foram verificados os maiores índices de sensibilidade para norfloxacina e oxacilina (85,71%) e a maior resistência foi para Penicilina (71,42%).

Em relação ao *Corynebacterium* spp, os maiores índices de sensibilidade verificados foram para Cefoxitina e Cefalotina (100%), Cefalexina e norfloxacina (90%) e gentamicina (80%). O maior nível de resistência apresentada por esse microrganismo foi frente a penicilina (70%) (figura 8).



**Figura 9:** Sensibilidade dos *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp e *Corynebacterium* spp isolados mastite bovina de dez propriedades frente a dez antimicrobianos diferentes – Itaporanga - Paraíba – Brasil – 2009

Em relação aos testes de betalactamase realizados nas cepas de *Staphylococcus* spp isolados dos casos de mastite clínica, subclínica e portadores (figura 10), verificou-se que dos 110 *Staphylococcus* spp testados, 90% foram positivos para o teste de betalactamase, sendo que a correlação de estirpes resistentes a penicilina e a produção de betalactamase foi de 78,18%.



**Figura 10:** Teste da betalactamase realizado em cepas de *Staphylococcus* spp. isolados de casos de mastite no município de Itaporanga, PB. a) reação positiva – b) reação negativa – c) disco controle

Foi observada a presença de múltipla resistência frente a dois ou mais antimicrobianos, sendo o padrão mais observado, de 37, 93% para 2 antimicrobianos, 18,10% para 3 antimicrobianos e 17,24% para 4 antimicrobianos (tabela 7).

**Tabela 7:** Resultados de 110 cepas de *Staphylococcus* spp que apresentaram múltipla- resistência – Itaporanga – PB , 2004.

| Múltipla resistência |    |       |
|----------------------|----|-------|
|                      | Nº | %     |
| 2 antimicrobianos    | 44 | 37,93 |
| 3 antimicrobianos    | 21 | 18,10 |
| 4 antimicrobianos    | 20 | 17,24 |
| 5 antimicrobianos    | 2  | 1,72  |
| 7 antimicrobianos    | 2  | 1,72  |
| 8 antimicrobianos    | 1  | 0,86  |

De acordo com os resultados da análise estatística (tabela 8), os fatores de risco com significância foram a adoção do protocolo de tratamento de mastite clínica de 1 á 3 dias e de 3 à 5 dias (tabela 9).



**Tabela 8:** Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para Mastite Bovina em 10 propriedades rurais do município de Itaporanga-Paraíba, 2009.

| Variáveis  | Expostos/casos | Expostos/controles | P      |
|--|----------------|--------------------|--------|
| Bovinocultura não ser a atividade principal                  | 13/104         | 4/50               | 0,576  |
| Rebanhos com até 17 vacas em lactação                        | 70/104         | 24/50              | 0,034* |
| Rebanhos com mais de 8 vacas secas                           | 55/104         | 18/50              | 0,073* |
| Rebanhos com mais de 17 bezerros                             | 42/104         | 14/50              | 0,188* |
| Rebanho ser da raça Girolando                                | 100/104        | 42/50              | 0,020* |
| Produzirem uma média de 10,7 litros de leite animal/ dia     | 54/104         | 25/50              | 0,959  |
| Não saber como a doença é transmitida no rebanho             | 48/104         | 18/50              | 0,308  |
| Não fazer linha de ordenha                                   | 68/104         | 30/50              | 0,637  |
| Tratar os animais apenas quando observada alteração no leite | 77/104         | 32/50              | 0,274  |
| Usar bisnaga intramamária no tratamento                      | 77/104         | 32/50              | 0,274  |
| Não isolar doentes   | 7/104          | 0/50               | 0,097* |
| Tratar animais de 1 – 3 dias                                 | 27/104         | 18/50              | 0,000* |
| Tratar animais de 3- 5 dias                                  | 65/104         | 9/50               | 0,000* |
| Descartar o animal quando não apresenta melhora              | 43/104         | 19/50              | 0,004* |
| Não fazer nada quando o animal não apresenta melhora         | 55/104         | 19/50              | 0,004* |
| Fazer limpeza da sala de ordenha                             | 41/104         | 5/50               | 0,000* |
| Fazer a higiene dos tetos                                    | 34/104         | 5/50               | 0,005* |
| Não enxugar o teto antes da ordenha ou enxugar com um pano   | 7/104          | 0/50               | 0,001* |
| Fazer teste diagnóstico de mastite antes da ordenha          | 34/104         | 5/50               | 0,005* |
| Animais ficarem no cocho com concentrado                     | 31/104         | 5/50               | 0,012* |
| Utilizar sistema de ordenha mecânica                         | 34/104         | 5/50               | 0,005* |
| Realizar duas ordenhas por dia                               | 34/104         | 12/50              | 0,348  |
| Realizar a ordenha em curral                                 | 34/104         | 5/50               | 0,005* |
| Higienizar equipamentos e ambiente da ordenha                | 34/104         | 5/50               | 0,005* |
| Deixar a vaca secar próximo ao período de Gestação           | 21/104         | 1/50               | 0,006* |
| Não utilizarem acompanhamento técnico                        | 31/104         | 5/50               | 0,012* |
| O acompanhamento ser feito por engenheiro agrônomo           | 21/104         | 1/50               | 0,008* |
| Acompanhamento ser feito por Técnico em agropecuária         | 10/104         | 4/50               | 0,008* |
| Ter acompanhamento técnico privado                           | 31/104         | 4/50               | 0,005* |

\* Variáveis selecionadas para a regressão logística múltipla ( $p < 0,2$ )

**Tabela 9:** Fatores de risco para a Mastite Bovina em 10 propriedades rurais do município de Itaporanga-Paraíba

| Fatores de risco                           | Odds Ratio | IC 95%       | P       |
|--|------------|--------------|---------|
| Tratamento de mastite clínica por 1-3 dias | 4,09       | 1,55 – 10,75 | 0,004   |
| Tratamento de mastite clínica por 3-5 dias | 16,76      | 6,05 – 46,39 | < 0,001 |

Teste de Hosmer e Lemeshow:  $\chi^2 = 6,592$ ;  $p = 0,086$

## 6. DISCUSSÃO

No presente trabalho foram encontrados índices de microrganismos contagiosos de 98,48% e ambientais de 1,52% os resultados apresentados neste estudo são semelhantes aos resultados obtidos por Garino (2004), que avaliando 19336 animais em 179 propriedades do estado de São Paulo e Minas Gerais verificou 94,51% de agentes contagiosos e 5,49% de agentes ambientais.

Como referido anteriormente, a mastite clínica e subclínica é de grande importância em função da alta prevalência da doença nos rebanhos leiteiros, principalmente no Brasil por representarem perdas econômicas significativas e aspectos importantes de saúde pública.

Neste estudo, avaliando a mastite clínica, os principais agentes isolados foram: *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp (37,50%), estes dados são semelhantes ao estudo realizado no Estado do Sergipe por Oliveira et al (2009) que avaliando dois rebanhos leiteiros, isolou 46,67% de *Staphylococcus* spp (sendo 6 *S. aureus* e 1 *S. coagulase* negativo) e 26,67% *Streptococcus* spp (sendo *S. agalactiae* (1), *S. dysgalactiae* (2) e *S. uberis* (1)). Em estudo da etiologia da mastite clínica bovina nos estados de São Paulo e Minas Gerais realizado por COSTA et al. (1999), envolvendo 1055 amostras de leite, obtiveram os seguintes resultados: *Streptococcus* spp 39,71%, *Staphylococcus* spp 37,25% e *Corynebacterium* spp 24,64%. Os dados neste trabalho, evidenciam que os principais microrganismos envolvidos na casuística de mastite clínica são de origem contagiosa.

Outro fato importante foi o isolamento de um caso de mastite clínica por *Arcanobacterium pyogenes*. Este microrganismo é uma bactéria comensal das mucosas de vários animais, que ocorre mais comumente em novilhas e vacas secas e raramente em vacas em lactação. Segundo Radostits et al (2007) normalmente quando esse tipo de mastite é diagnosticado o dano causado ao tecido mamário é intenso e geralmente a atividade secretora do quarto é perdida. No Brasil, Costa et al, 1999, verificaram um caso de mastite clínica por *Arcanobacterium pyogenes*. Recentemente, no estado de São Paulo foi diagnosticado um caso de mastite em bezerra causado pelo *Arcanobacterium pyogenes* (DOMINGUES et al, 2008).

Em relação aos microrganismos isolados de mastite subclínica, *Staphylococcus* spp e *Corynebacterium* spp foram os mais prevalentes, sendo 36,52 e 30,87%, respectivamente seguido por *Streptococcus* spp 7,39%. Embora os três principais gêneros isolados de mastite

bovina neste estudo seja os mesmos citados por Costa, et al (2006), diferindo somente nas porcentagens de isolamento, sendo o *Corynebacterium* spp o agente prevalente (42,09%), seguido por *Staphylococcus* spp 28,81% e *Streptococcus* spp 19,42%. Em estudo realizado nos Estado de Sergipe, os principais microrganismos isolados também foram *Staphylococcus* spp , *Streptococcus* spp e *Corynebacterium* spp, apresentando índices de 45,56%, 21,89% e 1,77 % , respectivamente (OLIVEIRA, et al 2009).

Foi diagnosticado também um caso de mastite subclinica por levedura (0,43%). que é um agente ambiental e sua presença esta relacionado a falhas de manejo. Os dados disponíveis na literatura sobre a frequência de infecções intramamárias provocadas por leveduras apresentam grandes variações, encontrando-se índices variáveis entre 0,1% e 17,3%, observado por COSTA, et al (1993) em trabalho realizado no estado de São Paulo. OLIVEIRRA et al (2009), verificou 1 caso de mastite subclinica por Levedura (0,29%).

Neste estudo os principais microrganismos portadores isolados foram *Corynebacterium* spp, *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp, sendo todos considerados de mastite contagiosa, corroborando com estudo realizados por Costa, et al (2005). Entretanto não foram isolados microrganismos ambientais diferindo dos estudos realizados por GARINO (2004) e COSTA et al (2005), que isolaram 2,34% e 9,50% respectivamente nos estudos realizados em São Paulo e Minas Gerais.

O uso de antimicrobianos na terapia de mastite bovina deve ser baseado em resultados de sensibilidade *in vitro* com a finalidade de propiciar um tratamento adequado e evitar o problema da resistência dos microrganismos.

No presente estudo, os antimicrobianos de maior eficácia para *Staphylococcus* spp foram: gentamicina, clorafenicol e oxacilina (100%) e norfloxacina e cefoxitina (90%). Os antimicrobianos que apresentaram maior resistência foram penicilina (80%) e ampicilina (70%), o que vai de acordo com CARDOSO et al (1999) que verificou uma sensibilidade de 98,40% para gentamicina, 92,10% para cefalotina e 90,40% para clorafenicol, o mesmo autor também verificou a resistência frente a penicilina (79,90%) e ampicilina (71,40%), resultados esses que corroboram com este trabalho. Costa et al (2006), em trabalho realizado nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Rio de Janeiro testou a resistência de 3.040 cepas de staphylococcus a 16 antimicrobianos e verificou a menor eficácia de ampicilina (92,59%) e penicilina (90,74%) dados que confirmam os resultados obtidos neste estudo.

Para *Streptococcus* spp os antimicrobianos que apresentaram os maiores índices de resistência foi a penicilina (71,42%), ampicilina, cefalotina, cefalexina e cefoxitina (57,14%). Em relação a sensibilidade, foram verificados frente a cefalotina 100%, norfloxacina e oxacilina 85,71% e cloranfenicol 71,42%. Dados semelhantes foram observados em estudo realizado por Costa et al. (2006), que verificou a resistência frente à penicilina (84,31%), cefoxitina (52,00%) e sensibilidade para cefalotina e norfloxacina 82,35% e 80,41%, respectivamente. Os mesmos autores verificaram 84,31% de resistência frente a oxacilina, o que difere do resultado obtido neste trabalho.

Em relação a susceptibilidade *in vitro* dos isolados de *Corynebacterium* spp, a cefoxitina, cefalotina e clorafenicol apresentaram sensibilidade de 100%, seguido por norfloxacina e cefalexina 90%. Os maiores índices de resistencia foram frente a penicilina (70%) e ampicilina (60 %). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Costa et al. (2001), onde os autores observaram resistência de 84,31% frente à penicilina e 75, 51% frente à ampicilina e maior sensibilidade para cefalotina e cefoxitina (92,00 e 91,66 %) respectivamente.

A resistência aos antimicrobianos é responsável pelo aumento da morbidade, mortalidade, falhas no tratamento e aumento dos custos com o tratamento de doenças infecciosas. A ameaça da resistência (Particularmente a resistência múltipla em estirpes bacterianas que têm disseminado amplamente) nunca foi tão grande. O aumento da resistência aos antimicrobianos deve-se principalmente a fatores como: uso indiscriminado de antibióticos (tanto em humanos e medicina veterinária), maior circulação de pessoas e incremento da industrialização (HAWKEYE; JONES, 2009).

Vale salientar que os antibióticos betalactâmicos estão entre os mais usados tanto em medicina humana como em medicina veterinária (BRIÑAS et al., 2002). Como observado neste trabalho, os maiores índices de resistência observados para os principais microrganismos isolados foram frente a penicilina e ampicilina. Adicionalmente neste estudo, foi avaliado a produção da enzima betalactamase frente aos *Staphylococcus* spp isolados. Verificou-se que dos 116 *Staphylococcus* spp isolados, 90% foram positivos para o teste de betalactamase, sendo que a correlação de estirpes resistentes a penicilina e a produção de betalactamase foi de 78,16 %.

O principal mecanismo de resistência frente á penicilina em *Staphylococcus* causadores de doenças em animais, é comumente devido à produção da enzima beta lactamase (LOWY, 2003). Estudo realizado no Brasil, por Brito et al (2001), analisando 112 estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecções intramamárias bovina, em 33 rebanhos leiteiros da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais verificaram apenas 41,96% de cepas produtoras de betalactamase. Pereira et al , avaliando a qualidade do leite pasteurizado tipo C comercializado em Ponta Grossa, Paraná, verificou a produção de betalactamase em 46,2% dos *Staphylococcus* spp isolados, índices abaixo do encontrado neste estudo. Entretanto, Nunes et al. (2007), em estudo realizado em cepas isoladas de mastite subclinica bovina em Portugal, verificou 83,61% de cepas produtoras de betalactamase nos 30 *S. aureus* e 31 *S. epidermidis*. Watts; Salmon (1997) observaram 65,42% de positivos para betalactamase em 107 cepas de *Staphylococcus* de caso de mastite bovina nos Estados Unidos, Canadá e Europa. Sendo que os resultados obtidos pelos dois últimos autores, corroboram com os obtidos neste estudo.

Outro fator importante, observado nas cepas de *Staphylococcus* spp testados, foi a presença de múltipla resistência a dois ou mais antimicrobianos, sendo o padrão mais observado 37,93% para dois antimicrobianos, 18,10% para três antimicrobianos, 17,24% para 4 antimicrobianos , 1,72% para cinco e sete antimicrobianos e 1 cepa (0,86%) apresentou resistência a 8 antimicrobianos. Estudos sobre a múltipla resistência em agentes isolados de mastite no Brasil são escassos. Machado et al. (2008), avaliaram 119 cepas *Staphylococcus* coagulase negativo isolados de casos de mastite, frente a 18 antimicrobianos diferentes, sendo observado a maior freqüência de múltipla resistência de 13 a 15 antimicrobianos (23,53%) e de 16 a 18 antimicrobianos em (25,21%). Nader Filho et al. avaliando a sensibilidade de cepas de *Staphylococcus aureus* de casos de mastite, observou a múltipla resistência frente a 2 antimicrobianos (51,39%), a três antimicrobianos 29,17%, a quatro antimicrobianos 18,06% e para 6 antimicrobianos 1,39%.

Os fatores de risco para a mastite, apontados neste estudo, foi o protocolo de tratamento adotado para mastite clínica, definido como ODDS RATIO de 4,09 por um período de 1-3 dias e 16,76 para o tratamento de 3-5 dias. Em relação ao tratamento, verificou-se que as propriedades que o realizavam para os casos de mastite clínica, em sua maioria utilizavam penicilina e ampicilina, antibióticos que apresentaram neste estudo baixa eficácia *in vitro*. Vale salientar que os *Staphylococcus* spp (principais agentes etiológicos

causadores de mastite clínica e subclínica neste trabalho) serem produtores de betalactamase (90%) justificando a partir deste achado a ineficácia destes antibióticos, sendo esse dois fatores predisponentes à falhas na terapia da mastite. Nader Filho (2007), em trabalho realizado com *Staphylococcus aureus*, chama a atenção para a prevalência de cepas com resistência simultânea a penicilina e ampicilina (97,2%). O mesmo autor recomenda que o tratamento de mastite deva ser realizado com base no perfil de sensibilidade in vitro aos antimicrobianos, evitando com isso maiores perdas econômicas. A resistência simultânea a penicilina e ampicilina pode estar associado ao uso freqüente desses betalactamicos na terapia de mastite clinica e outras enfermidades no rebanho e/ou mesmo ao uso indiscriminado destes antimicrobianos (ANDRADE et al., 2000, FREITAS et al., 2005).

## 7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir:

Em relação aos agentes etiológicos isolados de mastite clínica, subclínica, e portadores verificam-se que a mastite contagiosa foi prevalente nas propriedades estudadas.

Os agentes etiológicos isolados de mastite bovina de amostras de leite não reagentes ao teste de CMT, refletem a sua importância devido ao fato de um quarto mamário bovino se manter no status de portador por um determinado tempo, podendo evoluir para a eliminação do microrganismo ou para o aparecimento de um quadro de mastite clínica ou subclínica.

Os antimicrobianos de 1º escolha para o tratamento dos casos de mastite, baseado nos resultados de sensibilidade, são norfloxacin, cefalotina e oxacilina.

A resistência apresentada frente aos antimicrobianos penicilina e ampicilina apresentada pelos principais agentes etiológicos isolados, conjuntamente com a produção de betalactamase apresentadas pelas cepas de *Staphylococcus* spp, demonstram que o uso desses antimicrobianos nas propriedades avaliadas não são indicados para a terapia dos casos de mastite nas propriedades. Além de refletir a importância da realização dos exames microbiológica e antibiograma como ferramenta de controle da mastite, melhoria da qualidade do leite, uso prudente de antimicrobianos em medicina veterinária e vigilância da resistência de agentes etológicos de origem animal.

Medidas inadequadas de manejo como o não tratamento para vaca seca, formas erradas de tratamento e a má higiene na hora da ordenha contribuem para a prevalência e disseminação da doença no rebanho.

Importância especial deve ser dada ao protocolo de tratamento inadequado de mastite clínica, uma vez que esse fato foi identificado como fator de risco no presente trabalho.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

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

BRADFORD, P. A . Extended-Spectrum beta-lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat . **Clinical Microbiology Reviews**, Vol. 14, No. 4, p. 933-951, 2001.

BRAMLEY, R. J. et al. **Current Concepts of Bovine Mastitis**. 4. ed. Madison: The National Mastitis Council, 1996. 64 p.

BRIÑAS, L.; ZARAZAGA, M.; SAÉNZ, Y.; RUIZ-LARREA, F.; TORRES, C.  $\beta$ -Lactamases in Ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans and healthy animals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 46: p. 3156 - 63, 2002.

BRITO, M. A. V. P; BRITO, J. 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, p.531-537, 2001.

BUSH, K. Characterization of beta-lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 33, p. 259-263, 1989.

CARDOSO, H.F.T.; COSTA, G.M.; MARTINS, N.E.; SILVA, N. Susceptibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* de mastite bovina em Minas Gerais no período de 1994 a 1998. **Encontro de Pesquisadores em Mastite 3**, p.169, 1999.

COSTA, E. O. da. Importância da mastite na produção de leite do país. **Revista de educação do CRMV-SP**, São Paulo, n. 1, v. 1, p.003-009.1998.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI M. M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006 . p. 500-515.

COSTA, E. O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; SILVA, J.A.B.; GARINO Jr, F. Bovine Clinical Mastitis: Aetiological. **World Buiatrics Congress**, Edinburg, p. 203- 205, 1996.

COSTA, E. O.; RIBEIRO, A.R.; GARINO Jr, F. SILVA, J.A.B.; WATANABE, E.T.; DEBLIRE, E.; LEÃO, E.F. Portador: Um importante elo na epidemiologia de mastite

infeciosa bovina. **Revista do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária**, v.8 n. 1, p. 3-6, 2005.

COSTA, E.O., GANDRA, M.F., PIRES, M.F., COUTINHO, S.D., CASTILHO, W., TEIXEIRA, M.C., Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the State of São Paulo, Brazil; **Mycopathologia**, v.124.1993

DE Vlieghe, S., BARKEMA, H.W., STRYHN, H., OPSOMER, G., DE KRUIF, A. Impact of early lactation somatic cell count in heifers on milk yield over the first lactation. **Journal of Dairy Science**, 88, 938–947, 2005.

DOHOO, I. R.; DUCROT C.; FOURICHON C., DONALD, A.; HURNIK, D. An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. **Preventive Veterinary Medicine** 29:221-239. 1996.

DOMINGUES, P.F.; FERREIRA, B.L.S.; GALDINO, M.C.; CARNEIRO, D.M.V.F. Mastite em bezerra por *Arcanobacterium pyogenes*: relato de caso. **Veterinaria e Zootecnia**. v. 15, n. 2, p.257-262, 2008.

FERNANDES, D. Diagnóstico laboratorial em mastites bovinas: Sua real importância e aplicação prática. **Atualização Técnica** 33, Div. Agropec. Pfizer, 2006.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

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

GARINO Jr, F. Avaliação de sensibilidade “in vitro” e “in vivo” de sorogrupos de Escherichia coli de casos de mastite bovina e pesquisa da produção de beta-lactamase e detecção de múltipla resistência. **Tese (Doutorado em microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade de São Paulo**. p. 110. 2004

GREEN, M.J., GREEN, L.E., BRADLEY, A.J., BURTON, P.R., SCHUKKEN, Y.H., MEDLEY, G.F. Prevalence and associations between bacterial isolates from dry mammary glands of dairy cows. **Veterinary Record**. 156, 71–77. 2005

GROSS, J.S.; POLLACK, E.J.; ANDERSON, J.G.; TORREL, D.T. Incidence and importance of subclinical mastitis in sheep. **Journal of Animal Science**. v.26, p.1-8, 1987.

HAWKEY, P. M.; JONES, A. M. The changing epidemiology of resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 64, S. 1, i3–i10, 2009

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. Applied logistic regression. John Wiley & Sons, New York. 375 p. 2000.

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA MASTITE, disponível em:

<<http://www.itambe.com.br/Cmi/Pagina.aspx?757>> acesso em: 17 de agosto de 2009

KEEFE, G. P. Streptococcus agalactiae mastitis: a review. **Canadian Veterinary Journal**, v. 38, p. 429-437, 1997.

LADEIRA, S. R. L. Mastite Bovina In: **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos** Franklin Riet Correa-Santa Maria: Pallotti, 2007, Terceira Edição, volume1, páginas 359 e 364;

LILIAN M. SEJAS;L.M.; SILBERT;S.; REIS;A.O.; SADER; S.H.; Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 27-35. 2007

LIVERMORE, D. M.  $\beta$ - lactamase in laboratory and clinical resistance. **Clinical Microbiology Review**, 8:4, 557-84, 1995.

LIVERMORE, D. M. Clinical significance of beta-lactamase induction and stable derepression in Gram-negative rods. **Euro Journal Clinical Microbiology**, v. 6, p. 439-445,1997.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus. **Journal of Clinical Investigation**. V. 111, p.1265–1273.2003.

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

MCDUGALL S.; PARKER K.I.; HEUER C.; COMPTON C.W.R . A review of prevention and control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies. **Veterinary Microbiology**, 134 , 177–185, 2009.

MEDEIROS, A. A.. Beta-Lactamases. **British Medical Bulletin**. N 40:18-27, 1984.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, MA.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. **Manual of Clinical Microbiology**.7ed., Washington: American Society for Microbiology, 1999.

NADER , F.A.; FERREIRA, L.M.; 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**, São Paulo, v.74, n.1, p.1-4, jan./mar., 2007

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORIES STANDARDS (NCCLS). **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing**, 3<sup>a</sup> ed. Pennsylvania, 2002.

NICKERSON , S.C., Control of heifer mastitis: Antimicrobial treatment—An overview. **Veterinary Microbiology** 134 , 128–135, 2009

NUNES S. F., BEXIGA R., CAVACO L. M., VILELA C. L. Technical Note: Antimicrobial Susceptibility of Portuguese Isolates of Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis in Subclinical Bovine Mastitis, **Journal of Dairy Science**. 90, p. 3242–3246, 2000.

- OLIVEIRA, A.A.; MELO, C.B.; AZEVEDO, H.C. Diagnóstico e determinação microbiológica da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 226-230, 2009.
- PARDO, E.P.; METTIFOGO, E.; MÜLLER, E. E.; NASCIMENTO, E.R.; BUZINHANI, M.; YAMAGUTI, M. FREITAS, J.C. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas no período pós-parto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 18. 3-4, 115-118, 1998.
- PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S.C.; **Vencendo a luta contra a mastite**. 1 ed. Campinas: Westfalia, 2002. p.192
- PIEPERS, S.; DE VliegHER, S.; DE KRUIF, A.; OPSOMER G.; BARKEMA H.W. Impact of intramammary infections in dairy heifers on future udder health, milk production, and culling. **Veterinary Microbiology** 134, 113–120, 2009
- PYÖRÄLÄ, S. New strategies to prevent mastitis. **Reproduction in Domestic Animals**, v.211, n.216, p.211-216, 2002.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. Mastite. In: **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 541-629.
- RAIA, R.B.; COSTA, E.O.; GARINO Jr, F.; WATANABE, E.T., THIERS, F.O.; GROFFM.R. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **Revista do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária**, v.2, n. 1, p. 4-8, 1999.
- RUEGG, P.L. Investigation of mastitis problems on farms. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**. V. 19 n.1, p. 47-73. 2003.
- SCHALM O.W., NOORLANDER D.O. 1957. Experiments and observations leading to development of California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, n.130, p.199-204.
- SIEGEL, S., CASTELLAN JR., N. J. Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento. Porto Alegre: Artmed, 448 p. 2006.
- SILVA, F.L.A. Agentes etiológicos da mastite clínica e subclínica bovina e avaliação da sensibilidade às drogas antimicrobianas. Trabalho de conclusão de curso- UPIS FACULDADES INTEGRADAS- Brasília – DF.2005
- SMITH, K.L.; HOGAN, J.S. Environmental mastitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, 9; 489-498, 1993.
- SMITH, K.L.; HOGAN, J.S. Epidemiology of mastitis and physiopatology. In: **Congresso Panamericano De Control De Mastitis E Calidad De La Leche**, 1998, México: **Memórias...Mérida**, 1998.
- SVILAND, S.; WAAGE, S. Clinical bovine mastitis in Norway. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 54, p. 65-78. 2002.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. Resistência bacteriana a drogas. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, p. 105-109 1999.

WATTS, J.L.; SALMON, S.A. Activity of selected antimicrobial agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce beta-lactamase. *J Dairy Sci*, 80(4):788-91, 1997.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4. ed. Prentice Hall, Upper Saddle River. 663 p. 1999.

## 9. ANEXOS

- ANEXO 1:** Modelo de questionário aplicado aos 10 produtores rurais para análise dos fatores de risco da mastite bovina no município de Itaporanga, PB..... 3 páginas
- ANEXO 2:** Modelo do relatório de visita entregue a cada produtor rural do município de Itaporanga, PB..... 4 páginas
- ANEXO 3:** Modelo do resultado microbiológico e do antibiograma entregue a cada produtor rural do município de Itaporanga, PB..... 6 páginas