

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE FORMIGA- UNIFOR/MG

MEDICINA VETERINÁRIA

FELIPE MENDONÇA ANDRADE

**RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus* spp. EM MASTITE
BOVINA – REVISÃO DE LITERATURA**

**FORMIGA-MG
2018**

Felipe Mendonça Andrade

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus spp.* EM MASTITE
BOVINA – REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária do UNIFOR-MG, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof.^a Rebeca Marques Mascarenhas.

Co-Orientador: Prof. Leonardo Borges Acurcio.

FORMIGA-MG
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UNIFOR-MG

A553 Andrade, Felipe Mendonça.
Resistência antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. em mastite bovina -
Revisão de literatura / Felipe Mendonça Andrade. – 2018.
33 f.

Orientadora: Rebeca Marques Mascarenhas.
Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Centro
Universitário de Formiga - UNIFOR, Formiga, 2018.

1. Mastite. 2. Resistência antimicrobiana. 3. Leite. I. Título.

CDD 636.089607

Catalogação elaborada na fonte pela bibliotecária
Aparecida de Fátima Castro Campos – CRB6-1403

RESUMO

O *Staphylococcus* spp é um dos principais patógenos causadores da mastite contagiosa, sendo que o uso indiscriminado de antimicrobianos pode causar uma mutação genética nestes microorganismos, ocasionando resistência. Para realizar este trabalho a metodologia utilizada foi a abordagem qualitativa, cujo instrumento de coleta de dados e informações foi a pesquisa bibliográfica. Sua importância no âmbito da medicina veterinária encontra-se na constatação de que, muitas vezes, os médicos veterinários recebem parte do ônus de responsabilidade pelas resistências a antibióticos utilizados tanto na medicina veterinária quanto na humana, sendo que é preciso estar preparado para enfrentar os desafios do mercado consumidor cada vez mais exigente, que deseja consumir produtos de qualidade e livres de resíduos prejudiciais à saúde, como ao ineficientes antibióticos (usados indiscriminadamente) utilizados para debelar os estafilococos resistentes. O objetivo deste trabalho foi analisar a incidência de resistência antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. no rebanho bovino leiteiro. Constatou-se que a mastite bovina pode ser considerada a causa mais frequente de uso de antibióticos em vacas leiteiras, sendo que seu uso inadequado e indiscriminado é a principal causa de ocorrência de resistência. É necessária a realização de um correto diagnóstico da doença e de seu agente etiológico, buscando-se prescrever o medicamento adequado, prevenindo assim danos à saúde humana, seja pelo excesso de resíduos de antibióticos veiculado por meio do leite ou pela veiculação de amostras resistente a antibióticos, assim como a proliferação de cepas resistentes.

Palavras-chave: Mastite; Resistência Antimicrobiana; Leite; Tratamento.

ABSTRACT

Staphylococcus spp is one of the main pathogens that cause contagious mastitis, and the indiscriminate use of antimicrobials can cause a genetic mutation in these microorganisms, causing resistance. To perform this work the methodology used was the qualitative approach, whose instrument of data collection and information was the bibliographic research. Its importance in veterinary medicine lies in the fact that veterinarians often receive part of the burden of responsibility for resistance to antibiotics used both in veterinary medicine and in human medicine, and one must be prepared to face the challenges of the increasingly demanding consumer market, which wants to consume quality products that are free from residues that are harmful to health, and inefficient antibiotics (used indiscriminately) used to thwart resistant staphylococci. The objective of this work was to analyze the incidence of antimicrobial resistance of *Staphylococcus spp.* in the dairy herd. It was found that bovine mastitis can be considered the most frequent cause of antibiotic use in dairy cows, and its inadequate and indiscriminate use is the main cause of resistance. It is necessary to make a correct diagnosis of the disease and its etiological agent, seeking to prescribe the appropriate medicine, thus preventing damage to human health, either by the excess of antibiotic residues transmitted through milk or by the transport of samples resistant to antibiotics, as well as the proliferation of resistant strains.

Key-words: Mastitis; Antimicrobial resistance; Milk; Treatment.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATCC – American Type Culture Collection

CCS - Contagem de Células Somáticas

CIM - concentração inibitória mínima

CMT - California Mastitis Test

CS - Células Somáticas

DNA - Ácido Desoxirribonucléico

MAR - Índice de múltipla resistência a antimicrobianos

MDR – Linhagens Multi-droga resistentes

Mg – miligrama

Mm - milímetro

MRSA - Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina)

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards

ORSA -oxacillin resistant *S. aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina)

PBP ou PLP - proteína de ligação à penicilina

PCR – Proteína C-reativa

Ph - Potencial hidrogeniônico

RBQL - Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite

SCN - *Staphylococcus coagulase negativa*

TSST - Toxina da síndrome do choque tóxico

WMT - Wisconsin Mastitis Test

Mg – miligrama

µg - micrograma, ou um milionésimo de grama.

°C- Graus Celsius

β - beta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	7
2.1 Mastite bovina	7
2.2 Classificação e etiologia	10
2.2.1 Diagnóstico da mastite	11
2.2.2 <i>Staphylococcus</i> spp.....	13
2.3 Resistência microbiana a antimicrobianos	18
2.3.1 Antibioticoterapia e práticas de higiene para controle da mastite subclínica de vacas em lactação.....	21
2.3.2 Tratamento com blitz terapia	24
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

O rebanho leiteiro possui grande representatividade econômica no Brasil, sendo que a incidência de mastite nas vacas leiteiras compromete a produção e gera transtornos ao produtor, perdas de animais e gastos com tratamento. Além disso, a cada dia o mercado exige padrões de qualidade mais rigorosos, levando os produtores de leite a utilização de variados produtos antimicrobianos em seu rebanho, sendo que tal comportamento pode ocasionar em resistência de patógenos aos mais diversos fármacos, se tornando um grave problema de saúde pública (TEIXEIRA; SILVA; FONSECA; COSTA, 2014).

A mastite bovina se constitui em um processo de infecção e inflamação das glândulas mamárias, fazendo com que a composição do leite *in natura* seja modificada, gerando o aumento no número das células somáticas. A contagem de células somáticas (CCS) é um dos principais parâmetros de avaliação da qualidade do leite, como também da identificação da mastite subclínica (SILVA; SILVA; BETT, 2014).

Segundo FONSECA; SANTOS (2001), a mastite é responsável por uma perda entre 15% a 20% em relação à produção láctea normal de um animal. Os custos advindos para o produtor nos casos de mastite bovina, vão desde o descarte do leite contaminado e gastos com tratamento dos animais, até a diminuição do volume e, principalmente, da concentração de sólidos do leite. Essa perda de elementos sólidos acarreta em preço menor pago ao produtor pelo leite *in natura*.

As mastites afetam negativamente a qualidade nutritiva do leite, diminuindo os teores de açúcares, proteínas e minerais como a lactose, caseína, gordura, cálcio, fósforo. Concomitantemente, observa-se um aumento significativo de imunoglobulinas, cloretos e lipases, tornando o produto inapropriado para ser consumido ou utilizado na fabricação de seus derivados, como iogurtes e queijos, sem considerar os prejuízos causados pela condenação do leite na plataforma das usinas (GARCIA; LIBERA; FILHO, 1996)

É preciso pontuar ainda que não existe apenas o impacto econômico gerando prejuízos ao produtor, mas as mastites bovinas também ocasionam a veiculação de agentes potencialmente patogênicos para o consumidor, e, eventualmente, a presença

de resíduos de antimicrobianos utilizados na terapia da doença (CADES; ZANINI; SOUZA; SILVA; FINK; MUNIZ, 2017).

O objetivo deste trabalho foi analisar e explicar a incidência de resistência antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. no rebanho bovino leiteiro. Especificamente objetivou-se caracterizar a mastite bovina; associar os casos de mastite bovina ao gênero *Staphylococcus* e relacionar os mecanismos de resistência desses micro-organismos aos antimicrobianos.

Para alcançar os objetivos desta revisão literária utilizou-se uma abordagem qualitativa, cujo instrumento de coleta de dados e informações foi a pesquisa bibliográfica, baseando-se em artigos de revistas e livros. O material pesquisado foi analisado e comentado, buscando-se fazer inferências com o aprendizado adquirido durante o curso. A importância deste tema para os médicos veterinários está na constatação de que, muitas vezes, eles recebem parte do ônus de responsabilidade pelas resistências a antibióticos. Além disso, o médico veterinário precisa estar preparado para enfrentar os desafios do mercado consumidor cada vez mais exigente, que deseja consumir produtos de qualidade e livres de resíduos prejudiciais à saúde.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Mastite bovina

A palavra mastite é originária dos termos gregos *mastos*, “peito”, e *itis*, “inflamação de”. Genericamente, é a inflamação aguda ou crônica da glândula mamária, sendo de maior incidência em ruminantes. É resultante de causas variadas, como trauma ou lesão no úbere, irritação química, ou por infecção causada por micro-organismos bacterianos, sendo este último relacionado ao tema da presente revisão bibliográfica. Buscando eliminar o micro-organismo infeccioso e neutralizar a ação das toxinas, como ajuda para reparar os tecidos afetados, a glândula mamária inicia uma reação inflamatória, na tentativa de normalizar suas funções. O grau de inflamação é variável, dependendo da intensidade das reações do organismo do animal (QUIN; MARKEY; CARTER; DONNEL; LEONARD, 2015).

Os micro-organismos infecciosos que se instalam na glândula mamária se nutrem dos componentes do leite e se multiplicam rapidamente. A doença gera elevados prejuízos devido ao descarte do leite, que fica impróprio para consumo, mesmo durante o tratamento, pois os antibióticos ministrados alteram a composição do mesmo e deixam resíduos (FONSECA; SANTOS, 2001).

Os micro-organismos mais comuns que causam a mastite são, geralmente, agrupados de acordo com sua origem e ao modo de transmissão, sendo convencionalmente categorizados em dois grupos: agentes das mastites contagiosas e agentes das mastites ambientais. As mastites contagiosas têm como principais agentes etiológicos o *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium bovis* (GARCIA; LIBERA; FILHO, 1996).

Dos agentes citados anteriormente, *Staphylococcus aureus* é o mais prevalente nos casos de mastite contagiosa, causando a mastite subclínica e, com menos prevalência, a mastite clínica, dependendo do grau de infecção, da virulência da cepa e da resistência do animal hospedeiro. Em todos os casos, o *Staphylococcus aureus* provoca aumento da CCS, diminuindo a quantidade de produção do animal, além de

outras modificações nos níveis de alguns componentes do leite. É uma bactéria que possui mecanismos de colonização e invasão, evasão, provocando também danos ao tecido do animal infectado, bem como indutores/moduladores da resposta inflamatória (FREITAS; MENDES; VILARREAL; SANTOS; GONÇALVES; GONZALES; NASCENTE, 2018).

Segundo estudos de SOUZA; OLIVEIRA; DUARTE; OLIVEIRA; VELOSO; OLIVEIRA; FERNANDES (2016), analisando os principais agentes etiológicos das mastites contagiosas, concluíram que o *Staphylococcus aureus* ocupa o primeiro lugar na frequência de isolamentos. A resposta do organismo do animal aos padrões moleculares que se associam ao patógeno e às toxinas superantigênicas, provocam a inflamação, com efeitos locais e sistêmicos, resultando em febre, aumento da permeabilidade vascular e recrutamento de leucócitos, responsáveis pela defesa e reparação do tecido atingido. Porém, o aumento das atividades dos leucócitos acarreta em efeitos negativos sobre o parênquima mamário e sobre os constituintes do leite.

O *Staphylococcus aureus* possui a capacidade de invadir e se reproduzir rapidamente no interior das células epiteliais da glândula mamária bovina, resultando em infecção, conforme já pontuado, além de gerar resultados falso negativos nos exames bacteriológicos, e influenciar na eficácia dos antibióticos ministrados para tratar as mastites causadas por esse microrganismo (BEYENE; HALEFOM; GIZAW; BEYI; ABUNNA; MAMMO; AYANA; WAKTOLE; ABDI, 2017).

LAZZARI; OLIVEIRA; MORETI; GUIMARÃES; KRUG; NOLETO; MESQUITA; NEVES (2014), realizando experimentos por meio da inoculação de *Staphylococcus aureus* na glândula mamária, puderam observar que todas as vacas em estudo e 83,3% das búfalas que fizeram parte do experimento, manifestaram temperatura superior a 39,6°C, conseqüente da instalação do processo inflamatório e infeccioso, momento em que o patógeno se instala e começa a se multiplicar. Constatou-se que são produzidas substâncias citotóxicas que danificam o tecido mamário secretor, induzindo os leucócitos a produzirem enzimas pró-inflamatórias. Tais enzimas danificam as células epiteliais das glândulas mamárias, alterando sua aparência e consistência, o que provoca a queda na produção de leite.

Pelo fato do *Staphylococcus aureus* ser o principal agente etiológico das mastites subclínicas, e sabendo que o tratamento é realizado por meio de antimicrobianos, este é um tema que deve merecer a devida atenção dos médicos veterinários. Consta-se que usar indiscriminadamente antibióticos favorece a seleção de microrganismos que tenham resistência aos mesmos, tornando ainda mais difícil o tratamento posterior, o que gera graves transtornos para a produção leiteira.

Quanto às mastites ambientais, têm como seus principais patógenos representantes as bactérias gram-negativas e espécies de *Streptococcus* diferentes da *S. agalactiae*. As bactérias gram-negativas, que de forma mais comum causam as mastites bovinas, são os coliformes, representados principalmente por: *Escherichia coli*, presente nas fezes dos animais; *Klebsiella* spp., que proliferam nos vegetais utilizados na alimentação e são também encontrados em derivados da madeira, e o *Enterobacter* spp. Os estreptococos presentes no ambiente incluem diversas espécies, tais como *Streptococcus uberis* e *Streptococcus dysgalactiae*. A mastite ambiental é causada por micro-organismos que se adaptaram para viver no ambiente da ordenha ou do curral e é transmitida pelo contato direto da glândula mamária com o ambiente contaminado, principalmente, em locais em que se acumulam fezes, urina do animal e barro, além de micro-organismos oriundos do ar, água e camas orgânicas, fatores esses que tornam mais evidente a importância da higiene. Nesse contexto, é importante frisar que grande parte das novas infecções ocorre no período entre ordenhas (FONSECA; SANTOS, 2001).

Além dos citados anteriormente, também encontram-se determinados micro-organismos, conhecidos como oportunistas, que podem, eventualmente, ocasionar problemas graves em alguns rebanhos. Tem-se como exemplo, neste grupo, as bactérias do gênero *Nocardia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arcanobacterium pyogenes*, algas do gênero *Prototheca* e algumas espécies de leveduras, dentre outros. Provocam o surgimento da mastite clínica, que dificilmente é tratada, caracterizada como uma infecção curta, que resulta em queda brusca da produção de leite, e até mesmo, a morte do animal infectado (SOUZA; OLIVEIRA; DUARTE; OLIVEIRA; VELOSO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2016).

2.2 Classificação e etiologia

A mastite se subdivide em dois grandes grupos, de acordo com a forma com que se manifesta, denominadas mastite clínica e mastite sub-clínica. A mastite clínica é facilmente percebida por meio da detecção das alterações na aparência e consistência do leite, perceptível no chamado teste da caneca de fundo escuro (FONSECA; SANTOS, 2001).

Outro sinal bastante evidente da mastite clínica é a vermelhidão e o inchaço do úbere, além de alterações sistêmicas, como febre e apatia do animal. A mastite clínica pode ser subdividida, conforme os sinais que apresenta, em superaguda, aguda ou subaguda (GRAÇA; LOPES; FERREIRA; ALMEIDA NETO; GOULART, 2015).

A reação inflamatória persistente ocasiona o bloqueio de ductos, atrofia de alvéolos associados e, posteriormente, a fibrose. Tais consequências tornam ainda mais difícil eliminar o agente e obstruem a penetração de antibióticos durante tratamento (SOUZA; OLIVEIRA; DUARTE; OLIVEIRA; VELOSO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2016).

A forma superaguda, em geral, se associa às reações sistêmicas graves, podendo vir a ser fatal. O quarto afetado aumenta significativamente de volume e torna-se dolorido à palpação. Seus sinais clínicos incluem febre alta, depressão profunda, anorexia, podendo evoluir para choque séptico. Além destes sintomas, o leite ainda pode apresentar pus, grumos e sangue (GARCIA; LIBERA; FILHO, 1996).

A forma aguda da mastite se caracteriza pelo grande aumento de volume na glândula afetada, além de rubor, dor à palpação, secreção purulenta e coágulos espessos, porém sem alterações sistêmicas evidentes (PEDRINI; MARGATHO, 2003).

A forma subaguda (subclínica), por sua vez, é de difícil percepção, pois nela não se vêem as reações sistêmicas, nem são visíveis as alterações da glândula. São perceptíveis, apesar que de forma moderada, alterações no leite, como a presença discreta de grumos ou aparência sutilmente mais aquosa (REIS; BRÉSCIA, 2003).

Seu diagnóstico só é possível por meio de cultura bacteriana ou por testes que demonstrem o aumento na taxa de células somáticas (representadas principalmente por leucócitos) no leite. De forma silenciosa, ocasiona a diminuição da produção, seja penalização ao produto pelo laticínio pela má qualidade apresentada, como pela

contaminação dos demais animais do rebanho (ESTÊVÃO NETO; GARINO JÚNIOR; SANTOS; SILVA; MATOS, 2015).

Os micro-organismos causadores da mastite se instalam, preferencialmente, na superfície da pele dos tetos e no interior da glândula mamária. Por este fato, a transmissão da mastite contagiosa se dá, principalmente, no momento da ordenha, seja pelas mãos do ordenhador, pelas próprias teteiras ou pelos recipientes utilizados para antissepsia dos tetos. A fonte de infecção é o próprio leite proveniente de quartos mamários infectados (LÓPEZ; SOLEDAD; GARCÍA; CARRANZA; CASTILLO; PLLIEGO; ROJAS; FRÉSAN; ORDONEZ, 2012).

Conforme estudos e pesquisas, existem mais de 140 espécies microbianas que podem estar envolvidas com a mastite, embora apenas um número relativamente pequeno seja responsável pela maioria dos casos (TEIXEIRA; SILVA; FONSECA; COSTA, 2014).

2.2.1 Diagnóstico da mastite

A mastite subclínica não ocasiona mudanças visíveis no úbere do animal ou no leite, por isso é necessária a utilização de testes. Muitos métodos podem ser utilizados para a CCS, tais como a contagem microscópica direta em lâminas, a contagem eletrônica de células, cuja sigla vem do inglês *Coulter Count*, *Fossomatic* (CCF), o *California Mastitis Test* (CMT) e o *Wisconsin Mastitis Test* (WMT).

A contagem eletrônica das células somáticas (CCF) é realizada através de contadores eletrônicos computadorizados, que se compõe de pequenas estruturas que integram o sistema óptico de leitura. Demonstra ser um método bastante preciso.

O Wisconsin Mastitis Test (WMT), que é conhecido como viscosímetro, é uma forma aprimorada do CMT. Sua vantagem é a eliminação da subjetividade no momento de interpretar os resultados do CMT. Consiste em coletar quantidades exatas de leite em tubo graduado, aos quais são adicionados um reagente ao qual adicionam-se quantidades exatas de leite e reagente, que é o mesmo que se utiliza para o CMT, ou seja, detergente tenso ativo aniônico neutro e um indicador de pH, opúrpura de bromocresol. O reagente é diluído em água destilada na proporção de 1:1, utilizando-se 2 ml dessa mistura e 2 ml da amostra do leite. O tubo então é rotacionado para

homogeneizar a mistura, quando é invertido para escoar por 15 segundos, e novamente verticalizado (LANGONI, 2000).

O método que é mais comumente utilizado é o CMT. Para que seja diagnosticada a tempo de evitar grandes perdas, deve se realizar periodicamente o *California Mastitis Test* (CMT) e coletar amostras regularmente para o teste de contagem de células somáticas (CCS). Monitorar a mastite subclínica é uma das vantagens do acompanhamento da contagem de células somáticas no leite no tanque, controlando a prevalência, número de casos, e a incidência dos novos casos da doença, assim como qual o percentual de vacas com infecção crônica que existem na propriedade. A reação entre a amostra de leite e o reagente formarão um gel com muita viscosidade, caso o resultado seja positivo para mastite. De acordo com a graduação do tubo, o resultado é fornecido em milímetros, conforme a quantidade de viscosidade da reação, ao qual se acrescentam quatro zeros ao número obtido (LANGONI, 2000).

O CMT demonstra ser um teste com muita praticidade, de baixo valor econômico e fácil de ser realizado. Originalmente, foi desenvolvido especificamente para bovinos, sendo considerado um método indireto para detectar a mastite subclínica. É feito por meio de um reagente constituído por detergente tenso ativo aniônico neutro e um indicador de pH, o púrpura de bromocresol. O detergente atua rompendo a membrana das células presentes na amostragem de leite, liberando o material nucleico (DNA). Com a mistura de reagente e leite bem homogênea, faz-se uma estimativa das células somáticas, que são avaliadas conforme o nível de viscosidade da reação e alteração do pH, demonstrada pela alteração da cor do corante, ficando agrupadas da seguinte forma: amostras negativas (se mantêm inalteradas), 1 + (amostras com reação fraca); 2+ (amostras com média reação); 3+ (reação intensa) (LANGONI, 2000).

A Resolução 065/2005 orienta sobre os parâmetros microbiológicos para o leite normal, que entraram em vigor a partir de 1º de julho de 2011¹.

¹ II – a partir de 1º de julho de 2011:

- a) 100.000 UFC/ml (cem mil unidades formadoras de colônias por mililitro) como máximo total de bactérias, apurado mediante contagem padrão para o leite individual;
- b) 300.000 UFC/ml (trezentas mil unidades formadoras de colônias por mililitro) como máximo total de bactérias, apurado mediante contagem padrão para o leite conjunto;
- c) 300.000 CCS/ml (trezentas mil células somáticas por mililitro).

Estas análises são realizadas pela Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite-RBQL, buscando dar apoio e suporte aos produtores de no aperfeiçoamento da qualidade do leite.

Além dos testes citados anteriormente, pode se detectar a olho nu a mastite clínica, através do teste da caneca telada ou de fundo preto, ou Tamis. Realiza-se lançando três ou quatro jatos de leite sobre a caneca, observando se há presença de grumos, sangue, coágulos e pus.

Como a análise de CCS se constitui em método importante para detectar a mastite subclínica no rebanho, e sua realização é essencial para que se trate os animais doentes, buscando encurtar o tempo de infecção e controlar para que não contagie outros animais. Com o resultado positivo para mastite, cabe identificar o patógeno causador da mesma para aplicação de antimicrobiano específico, evitando que as cepas de bactérias se tornem resistentes ao mesmo.

2.2.2 *Staphylococcus* spp.

Conforme definição de QUINN; MARKEY; CARTER; DONNEL; LEONARD (2015), *Staphylococcus* spp. possuem morfologia de cocos, gram-positivos, anaeróbios facultativos, imóveis, catalase positivos, podendo se apresentar macroscopicamente na forma de colônias esbranquiçadas ou douradas, tamanho médio, aproximadamente de 1 a 3 mm de diâmetro. O ambiente ideal para seu crescimento são os meios não enriquecidos e a produção de coagulase está relacionada à patogenicidade. A coagulase é responsável por transformar o fibrinogênio presente ao redor da célula bacteriana em fibrina, o que torna mais difícil a ação dos mecanismos de defesa do organismo.

A produção de catalase, que é a enzima responsável pela degradação de peróxido de hidrogênio, é uma importante ferramenta de diagnóstico desse gênero. São comensais de membranas mucosas e da pele, relativamente estáveis no meio ambiente e provocam infecções piogênicas. Dentre as espécies, *S. aureus* é a que mais

§ 3º Os limites estabelecidos na apuração dos totais de bactérias e de células somáticas referem-se à amostra de leite colhida por tanque de resfriamento ou leite de conjunto ou por latões de leite (BRASIL, 2005).

frequentemente provoca infecções da glândula mamária. A mastite estafilocócica é, mundialmente, a forma mais comum de mastite bovina de origem contagiosa, aparecendo com frequência em casos clínicos e subclínicos da doença, sendo responsável por elevados gastos com antimicrobianos (SOUZA; OLIVEIRA; DUARTE; OLIVEIRA; VELOSO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2016).

Pertencente ao gênero *Staphylococcus*, o *Staphylococcus aureus* possui uma forte capacidade de resistir a antibióticos, o que diminui a taxa de cura da mastite (LÓPEZ; SOLEDAD; GARCÍA; CARRANZA; CASTILLO; PLLIEGO; ROJAS; FRÉSAN; ORDONEZ, 2012).

Segundo SILVA; SILVA; BETT (2017), dentro do gênero *Staphylococcus* encontra-se o grupo de bactérias denominadas *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN), que são bactérias chamadas oportunistas, presentes na microbiota da superfície do teto, podendo também causar mastite.

Conforme os estudos de OLIVEIRA; SANTOS; FERREIRA JÚNIOR; BITTAR; BRASÃO (2016), comparando casos de mastite em dados mundiais, a maior prevalência de agentes contagiosos da mastite, como *S. aureus* ou *Staphylococcus* coagulase positiva foi bastante observada nos estados do Brasil.

SILVA; PEREIRA; MORAES; SANTORO; SILVA (2012) analisaram o perfil de sensibilidade antimicrobiana de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina, no município de Garanhuns, Pernambuco, no ano de 2011. Os autores observaram que o *S. aureus* penicilina resistente está presente em rebanhos leiteiros do município de Garanhuns, sugerindo que nesta região existe uso abusivo dessas drogas e, ainda, evidenciando um potencial risco para a saúde dos consumidores, já que o leite pode apresentar resíduos de antibióticos e/ou cepas de *S. aureus* resistente (SILVA; PEREIRA; MORAES; SANTORO; SILVA, 2012).

O princípio ativo dos antimicrobianos citados no experimento anterior, e que são usados com maior frequência para tratamento das mastites, fazem parte do grupo das penicilinas e derivados, aminoglicosídeos, fluorquinolonas, tetraciclina e sulfas potencializadas pelo trimetoprim (CADES; ZANINI; SOUZA; SILVA; FINK; MUNIZ, 2017).

No grupo das penicilinas a característica comum é a presença, em sua estrutura, do anel β -lactâmico, podendo ser classificadas como naturais e semi-sintéticas. A Ampicilina, utilizada no experimento citado, é uma penicilina de amplo espectro de ação, bastante utilizada em terapêutica intramamária e/ou parenteral. A ação terapêutica das penicilinas naturais ocorre pela inativação das enzimas denominadas β -lactamases. Praticamente todas as linhagens de *S. aureus* e aproximadamente 80% das outras linhagens de *Staphylococcus spp.* são produtoras de β -lactamases. Também pertence ao grupo das penicilinas a Oxacilina, citada no experimento, que é uma penicilina semissintética, antiestafilocócicas, pois atua sobre *Staphylococcus aureus* produtores de penicilinase (TEIXEIRA; SILVA; FONSECA; COSTA, 2014).

O Cefalotina pertence ao grupo das cefalosporinas, provenientes do fungo *Cephalosporium acremonium*. São antimicrobianos quimicamente similares às penicilinas (β -lactâmico), possuindo o mesmo princípio de ação, e com diferentes gerações de fármacos e análogos. Especificamente a Cefalotina pertence à primeira geração, apresentando grande espectro de ação para bactérias Gram-positivas (incluindo linhagens de *S. aureus* produtoras de β -lactamase) (SILVA; PEREIRA; MORAES; SANTORO; SILVA, 2012).

O Clindamicina faz parte do grupo das lincosaminas, que age inibindo a síntese protéica nos ribossomos, promovendo alterações na superfície bacteriana, o que facilita a opsonização, fagocitose e destruição intracelular dos microrganismos (LÓPEZ; SOLEDAD; GARCÍA; CARRANZA; CASTILLO; PLLIEGO; ROJAS; FRÉSAN; ORDONEZ, 2012).

O antimicrobiano Enrofloxacina é uma fluorquinolona de segunda geração e que possui amplo espectro de ação, baixa toxicidade, muito eficaz quando utilizado por via intramamária ou parenteral. Age inibindo a ação da enzima DNA -girase, que impossibilita a replicação do DNA bacteriano, o que leva a lise e ruptura das membranas celulares (SILVA; SILVA; BETT, 2017).

O antimicrobiano Eritromicina pertence ao grupo dos macrolídios, que são antibióticos que possuem um anel lactônico macrocíclico, em que se associam açúcares. Conforme o número de átomos deste anel macrocíclico (constituído de carbono, oxigênio e/ou nitrogênio), os antibióticos deste grupo são classificados, sendo

que a Eritromicina pertence ao grupo de 14 átomos (TEIXEIRA; SILVA; FONSECA; COSTA, 2014).

A tetraciclina, que também foi testada no estudo, é um antibiótico bacteriostático que age por inibição da síntese proteica dos micro-organismos sensíveis, ligando-se aos ribossomos. Depois de penetrar o interior da bactéria por um processo mediado por carreador, a tetraciclina se liga reversivamente à subunidade 30 S do ribossomo do micro-organismo, impedindo que o RNA-transportador se fixe ao ribossomo. Com isto, a síntese proteica não se concretiza. A Gentamicina, que faz parte do grupo dos aminoglicosídeos, possui a mesma ação descrita pela tetraciclina, e é também muito eficaz para tratar infecções provocadas por bactérias Gram negativas. Por outro lado, a sua potencial toxicidade e resíduos em produtos de origem animal limitam sua utilização (SILVA; PEREIRA; MORAES; SANTORO; SILVA, 2012).

Em outro estudo, SOUZA; OLIVEIRA; DUARTE; OLIVEIRA; VELOSO; OLIVEIRA; FERNANDES (2016) avaliaram amostras de leite coletadas em 150 vacas em lactação de quatro fazendas na região de Bocaiúva - MG. As amostras de leite foram coletadas a partir do quarto mamário positivo para o teste CMT, que apresentavam indicação de mastite subclínica. Em 51 amostras de leite, 31 (o que equivale a 60,78%) foram positivas para exame microbiológico. Destes exames positivos, uma amostra foi detectada com *Streptococcus* spp., quatro com Bacilos Gram negativo e 26 com *Staphylococcus* spp. Conforme demonstrados pelos dados, as contaminações por *Staphylococcus* spp. representam a maioria dos casos.

Entre os antimicrobianos testados para *Staphylococcus* spp. a gentamicina foi mais eficaz, com 96,15% de sensibilidade, seguido pela amicacina e cefalexina, que mostraram uma sensibilidade de 92,31%. Penicilina G foi o antimicrobiano que apresentou menor índice de sensibilidade, obtendo um resultado de 73,08%. Entre os 26 isolados bacterianos testados, 26,92% apresentaram um índice de resistência múltipla a antibióticos (MAR, do inglês *multiple antibiotic resistente*); comprovou-se que a gentamicina, amicacina e cefalexina foram os antimicrobianos que demonstraram ser mais eficazes no tratamento da mastite subclínica em vacas leiteiras na região de Bocaiúva – MG.

A Amicacina, antimicrobiano que demonstrou maior perfil de sensibilidade de cepas de *Staphylococcus* spp. no experimento citado (92,3%), foi obtida a partir da camicina. Tem o maior espectro de atividade antimicrobiana dentre os aminoglicosídios; é efetiva contra cepas Gram-negativas pelo fato de ser mais resistente à inativação enzimática bacteriana. Por outro lado, a Amicacina é menos ativa contra estreptococos do que a Gentamicina, embora seja menos nefrotóxica. Também fazem parte do mesmo grupo, dos aminoglicosídeos, a Neomicina e a Estreptomicina (OLIVEIRA; SANTOS; FERREIRA JÚNIOR; BITTAR; BRASÃO, 2016).

Com resultado bastante parecido ao apresentado pela Amicacina, a Cefalexina é uma cefalosporina de primeira geração. É quimicamente similar às penicilinas (β -lactâmico), e representa o principal grupo de antimicrobianos utilizados comercialmente para tratamento intramamário da mastite na lactação e/ou na secagem de animais de produção, tendo como grande vantagem os altos índices de efetividade e baixa resistência bacteriana (FREITAS; MENDES; VILARREAL; SANTOS; GONÇALVES; GONZALES; NASCENTE, 2018).

A Penicilina G foi o antimicrobiano que teve maior perfil de resistência, em 73,08% dos casos. Este tipo de antimicrobiano está disponível no Brasil para uso na terapêutica intramamária na lactação e no período seco. Os resultados permitem inferir que, nos rebanhos testados neste estudo, animais com infecção crônica são reservatórios de *S. aureus* resistentes às penicilinas e podem transmitir seu fenótipo aos descendentes. Isso causa resistência antimicrobiana e baixas taxas de cura microbiológica das mastites causadas por *S. aureus*. Percebe-se ainda que existem altas taxas de multirresistência observada neste estudo, o que é um fato bastante preocupante, pois disso resulta que rebanhos com esse perfil não responderão à maioria dos protocolos disponíveis para o tratamento das mastites em animais de produção (FREITAS; MENDES; VILARREAL; SANTOS; GONÇALVES; GONZALES; NASCENTE, 2018).

É preciso realizar periodicamente testes de sensibilidade a antimicrobianos *in vitro*, pois o perfil de sensibilidade e resistência varia muito, podendo prejudicar o tratamento do animal, assim como os programas de controle da mastite bovina causada

pelo *Staphylococcus* spp. (MEDEIROS; MOTA; SANTOS; FREITAS; PINHEIRO JÚNIOR; TELES, 2009).

Experimentos já demonstraram que animais cronicamente infectados representam reservatórios de *S. aureus* penicilinas resistente e transmitem este fenótipo a outros animais. Tal fato é entendido devido à baixa taxa de cura microbiológica das mastites por *S. aureus* resistentes às penicilinas, o que permite que estes animais permaneçam no rebanho e disseminem cepas resistentes (FREITAS; MENDES; VILARREAL; SANTOS; GONÇALVES; GONZALES; NASCENTE, 2018).

2.3 Resistência microbiana a antimicrobianos

Buscando a melhoria dos resultados do tratamento da mastite, além da identificação do agente infeccioso, é de grande importância monitorar o perfil de resistência aos antimicrobianos. Usá-los incorreta e indiscriminadamente causa transtornos não somente aos animais, mas também prejuízos ao produtor, e até riscos para a saúde humana (CADES; ZANINI; SOUZA; SILVA; FINK; MUNIZ, 2017).

A terapia com uso de antimicrobianos tem por finalidade conduzir o princípio ativo até o local que se encontra infeccionado, mantendo concentrações adequadas por tempo hábil, que auxilie eficazmente ao sistema imunológico do animal no combate dos patógenos e reduza as reincidências. Porém, na prática, o fácil acesso aos medicamentos possibilita, muitas vezes, que os mesmos sejam escolhidos de maneira inadequada, ineficaz para o patógeno a ser combatido, resultando em resistência aos mesmos (SOUZA; OLIVEIRA; DUARTE; OLIVEIRA; VELOSO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2016).

MEDEIROS; MOTA; SANTOS; FREITAS; PINHEIRO JÚNIOR; TELES (2009), estudando a sensibilidade antimicrobiana em bovinos leiteiros da região do Recife (PE), infectados com *Staphylococcus* spp. observou que as associações dos antibióticos neomicina, bacitracina e tetraciclina têm alcançado melhores resultados no tratamento das mastites subclínicas. As associações entre antimicrobianos objetivam potencializar a ação dos mesmos, provocando a diminuição de efeitos colaterais indesejáveis e aumentando o espectro de ação sobre os micro-organismos. A ciprofloxacina e a

danofloxacina são quinolonas de segunda geração, sendo que esta última demonstrou um percentual de sensibilidade de 95,2%, em *Staphylococcus* spp.

Conforme resultados das pesquisas, as bactérias do gênero *Staphylococcus* são, geralmente, resistentes aos antimicrobianos, especificamente beta-lactâmicos, como ampicilina e penicilina. Usá-los de forma indiscriminada e sem acompanhamento para tratar mastite pode ocasionar em cepas resistentes, comprometendo a eficácia do tratamento. Tal fato se explica por dois motivos: primeiro, por causa da produção da enzima extracelular beta-lactamase, responsável por inviabilizar o princípio ativo; segundo, pela produção de uma proteína ligante de penicilina de baixa afinidade, que impede a sua ligação ao agente etiológico (CADES; ZANINI; SOUZA; SILVA; FINK; MUNIZ, 2017).

Percebe-se pelos estudos realizados que o *Staphylococcus aureus* apresenta variadas formas de resistência aos antimicrobianos. Analisaram-se 459 amostras de leite obtidos nos municípios pertencentes à região do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, sendo que destas, 381 culturas microbiológicas distintas apresentaram crescimento e, em 106 cultivos, não houve a presença de micro-organismos. Destas culturas positivas, em 84 das amostras analisadas foram isoladas cepas de *Staphylococcus aureus*, o que representou 22,05% do total de micro-organismos isolados (KAISER; POSSEBON; VIERO; MARTINS, 2015).

Com a finalidade de realizar uma avaliação do perfil de sensibilidade do *Staphylococcus aureus* realizou-se uma experiência em 352 isolados provenientes de 35 rebanhos leiteiros localizados em Minas Gerais. Após a realização de testes de antibiograma, utilizando-se a técnica de difusão em disco. Nitrofurantoína, bem como as associações de neomicina, bacitracina e tetraciclina (NBT) e penicilina, nafcilina e dihidroestreptomicina (PND), apresentaram 100% de eficiência *in vitro*. Foram verificados baixos índices de resistência no grupo das cefalosporinas, com valores de 0, 0,28 e 0,40% para cefquimona, cefalotina e ceftiofur, respectivamente. Entre os aminoglicosídeos, observou-se 1,69% de resistência para gentamicina e 3,35% para a neomicina. O maior índice de resistência foi observado para polimixina B (82%), seguido pelos betalactâmicos, ampicilina e penicilina, com índices de resistência de 80,92 e 80,45%, respectivamente. Níveis intermediários de resistência foram

observados para tetraciclina, lincomicina, cefoperazona e sulfazotrim. Entre os isolados testados, 65 (18,15%), oriundos de 24 dentre os 35 rebanhos estudados, apresentaram multirresistência (índice MAR $\geq 0,2$). Os resultados apontaram grande variação nos perfis de resistência aos antimicrobianos, assim como a ocorrência de múltipla resistência entre algumas cepas estudadas, salientando a necessidade de testes de antibiograma para a escolha dos antimicrobianos mais adequados para o tratamento ou prevenção de mastite causada por *S. aureus* (COSTA; BARROS; CUSTÓDIO; PEREIRA; FIGUEIREDO; SILVA, 2013).

TEIXEIRA; SILVA; FONSECA; COSTA (2014) realizaram estudos com a finalidade de promover a identificação de *Staphylococcus aureus* e quais seriam as linhagens resistentes à meticilina (MRSA). Para isso, analisaram 251 amostras de leite cru bovino, de diversas propriedades localizadas em cinco mesorregiões de Minas Gerais, utilizando métodos moleculares que determinaram a concentração inibitória mínima (CIM) dos isolados. Os autores concluíram que o *S. aureus* pode apresentar algumas linhagens resistentes à meticilina e a outros antimicrobianos que são largamente utilizados na prática médico-veterinária. Com isso, evidencia-se que identificar micro-organismos por meio de métodos moleculares torna-se cada vez mais necessário para um diagnóstico mais preciso das mastites estafilocócicas².

Conforme todos os estudos relatados, evidencia-se que existe um elevado número de cepas de *Staphylococcus aureus* com perfil de alta resistência a antimicrobianos, destacando-se a eritromicina, a penicilina e a ampicilina. KAISER POSSEBON; VIERO; MARTINS (2015) destacaram que estes princípios ativos estão sendo largamente ministrados na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, sendo muito provável que não sejam realizadas análises prévias de sensibilidade *in vitro* dos agentes etiológicos, o que favorece o desenvolvimento da resistência.

² A resistência dos *Staphylococcus* spp. à meticilina pode ser mediada por um determinante que transporta o gene *mecA* estrutural, que por sua vez, codifica uma proteína de ligação à penicilina (PBP) ligada à afinidade da PBP para beta-lactâmicos. O provável uso indiscriminado dos antimicrobianos disponíveis no mercado e a alta capacidade adaptativa dos *S. aureus* possibilitam a seleção de linhagens resistentes a diversos antimicrobianos, o que justifica os diferentes percentuais de amostras de MRSA positivos encontrados. Da mesma forma, amostras clínicas de *S. aureus* ou estafilococos coagulase negativos (SCN) também podem transportar o gene *mecA*, muitas vezes sem expressá-lo (TEIXEIRA; SILVA; FONSECA; COSTA, 2014, p. 275).

Destaca-se a grande importância de se realizar a avaliação *in vitro* da sensibilidade a antimicrobianos antes de se prescrever o tratamento de mastites bovinas, o que contribui para reduzir a proliferação e a disseminação de cepas patogênicas que se tornaram altamente resistentes a antibióticos. Tal fato tem sido preocupante na atuação de médicos veterinários (KAISER; POSSEBON; VIERO; MARTINS, 2015).

O uso de vacinas demonstrou não ser satisfatório para a cura da mastite causada por *S. aureus*, sendo o mais recomendável a implantação de um bom programa preventivo, segregando os animais contaminados. Em fazendas com alta prevalência as vacinas são utilizadas nos animais mais jovens, com a finalidade de aumento da resistência contra o *S. aureus*. As vacinas demonstram potenciais benefícios, como uma pequena diminuição da prevalência de mastite clínica e subclínica causada por *S. aureus*, elevação da taxa de cura espontânea de infecções e diminuição da gravidade e duração dos casos de mastite (PEDRINI; MARGATHO, 2003).

2.3.1 Antibioticoterapia e práticas de higiene para controle da mastite subclínica de vacas em lactação

Os produtores procuram se adequar, utilizando variados programas de controle de mastite nos rebanhos leiteiros, buscando a diminuição da incidência da doença, já que erradicá-la é praticamente impossível. A utilização de iodo na antissepsia dos tetos é prática fundamental para o controle das mastites, podendo reduzir o aparecimento de novas infecções em 50% a 90% (PEDRINI, MARGATHO, 2003).

De acordo com as pesquisas de PEDRINI; MARGATHO (2003), o hipoclorito de sódio a 2% demonstrou ótimos resultados na antissepsia dos tetos, porém constatou-se ser irritante nessa concentração para a pele dos bovinos. Em sua apresentação comercial, com concentração a 0,5%, demonstra pouca efetividade. Já cloreto de benzalcônio a 1% demonstrou maior eficácia no caso de mastites contagiosas que ambientais; e as soluções de iodo a 2% e 1% foram as mais efetivas *in vitro*, dentro de todo esse comparativo. Foram testados outros desinfetantes, como a clorexidina, que resultou em satisfatória eficácia contra bactérias Gram positivos e negativos, tanto a 1%

quanto a 0,5%. Do ponto de vista econômico, a clorexidina a 1% é muito viável, pois seus preços de mercado são baixos, comprovando ser um agente antisséptico de amplo espectro de ação e não irritante. Seu efeito antibacteriano é cumulativo e contínuo, podendo ser utilizado com segurança para o controle de mastites contagiosa e ambiental em bovinos.

Além das boas práticas de higiene, realizando a antissepsia dos tetos e limpeza do ambiente da ordenha e do curral, a utilização de antibióticos tem sido uma prática muito comum, mas que requer atenção. REIS; SILVA; BRESCIA (2003) realizaram um experimento em 31 animais em lactação³.

Após o experimento os resultados obtidos estão após o tratamento utilizando o antibiótico cefacetil sódico (250 mg) para controlar as mastites subclínicas durante a lactação, verificando-se a porcentagem de redução do número de microrganismos isolados nos tetos tratados:

Percebe-se que a terapia antibiótica obteve eficiência nos primeiros 14 dias após a aplicação de cefalotina (250 mg) por via intramamária, conseguindo reduzir de 57,0% e 64,0% das infecções produzidas por *S. aureus* e SCN, respectivamente. Considera-se que são bons resultados, já que o *S. aureus* demonstra, muitas vezes, resistência aos tratamentos aplicados. Protocolos de tratamento de mastites clínicas ou subclínicas com uso de antimicrobianos necessitam de uma a três aplicações medicamentosas, via intramamária (SILVA; SILVA; BETT, 2017).

Conforme demonstrado, é necessária bastante atenção ao uso dos antibióticos que, usados de forma indiscriminada, acarretam aumento do nível de resistência e, concomitantemente, aos casos de mastites, e enormes prejuízos para o rebanho e seres humanos. Constata-se que o risco de infecção por *S. aureus* é alto em casos de ingestão de leite e derivados contaminados, considerando-se que este é um alimento

³ A eficiência da antibioticoterapia como estratégia para o controle de mastite subclínica em animais em lactação [...], em que foram tratados 83 tetos infectados de 31 animais de três propriedades leiteiras, divididos em dois estádios da lactação: 15 a 100 dias (grupo I) e 101 a 200 dias (grupo II), com aplicação intramamária de 250mg de cefacetil sódico (cefalotina). A droga permaneceu 24 horas dentro dos quartos do úbere dos animais tratados. Vinte e oito tetos de 14 animais infectados foram mantidos como controle, sem tratamento (REIS; SILVA; BRÉSCIA, 2003, p.654).

bastante comum na nutrição humana (SILVA; PEREIRA; MORAES; SANTORO; SILVA, 2012).

Realizar a terapia em vacas secas e tratar adequadamente os animais que apresentem casos clínicos da mastite constituem importantes ferramentas para controlar e prevenir a mastite bovina. Porém, para que tais medidas sejam exitosas, muitas variáveis devem ser observadas, como a escolha do antimicrobiano específico para o patógeno encontrado, o uso de posologia adequada das drogas, distribuí-la de forma correta dentro da glândula mamária, dentre outros. Além disso, os resultados também dependem do estado fisiológico do animal, da precocidade com que o tratamento é iniciado e da identificação do micro-organismo envolvido. Isso comprova, mais uma vez, que a identificação dos patógenos e constatação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos deve receber especial atenção, pois dentro do mesmo rebanho podem ter perfis de sensibilidade diferentes (COSTA; BARROS; CUSTÓDIO; PEREIRA; FIGUEIREDO; SILVA, 2013).

Estudos realizados por LÓPEZ; SOLEDAD; GARCÍA; CARRANZA; CASTILLO; PLLIEGO; ROJAS; FRÉSAN; ORDONEZ (2012), sobre a incidência de *S. aureus* em propriedades com produção leiteira da região Centro-Oeste do México, verificaram aumento crescente da resistência a antibióticos para *S. aureus* em vacas leiteiras, particularmente quando observadas cepas resistentes à oxacilina e metilicina (ORSA/MRSA), e multirresistência a antibióticos. *S. aureus* de origem bovina pode contribuir para aumentar a pressão da infecção humana por cepas de MRSA e aquelas resistentes às fluoroquinolonas (LÓPEZ; SOLEDAD; GARCÍA; CARRANZA; CASTILLO; PLLIEGO; ROJAS; FRÉSAN; ORDONEZ, 2012).

Estudos realizados por SILVA; SILVA; BETT (2017) relativos ao ano de 2016, consistiram em realizar o teste CMT em 80 vacas, metade ordenhadas pelo sistema manual e a outra metade por ordenha mecânica, demonstraram que 30 delas apresentaram resultados positivos para o teste de mastite subclínica.

Analisando os dados apresentados, conclui-se que sua ocorrência se relaciona diretamente ao manejo e cuidados dispensados aos animais em lactação. Mais uma vez se comprova a eficácia das boas práticas de higiene, utilização de equipamentos e instalações adequadas, para prevenir casos de mastites nos rebanhos.

2.3.2 Tratamento com blitz terapia

Conforme os estudos apontados, percebe-se que um registro do número de casos clínicos ocorridos no mês é importante de ser mantido na propriedade, anotando-se também os novos casos surgidos por dia e o número total de vacas infectadas ajudam a ter uma visão mais ampla e a dimensionar o problema, servindo de parâmetro para buscar ações que o resolvam (GARCIA, 1996).

Muitos fatores vêm contribuindo para que os produtores de leite percebam a necessidade de administrar com atenção e cuidado todos os procedimentos anteriormente citados, pois a consequência de se monitorar o rebanho é o aumento da produção, além de servir para embasar estudos que objetivam a melhoria genética do rebanho e maior eficiência no manejo dos animais. O controle leiteiro é essencial para que ocorra o gerenciamento da pecuária leiteira no país (TEIXEIRA; SILVA; FONSECA; COSTA, 2014).

Por ser pouco comum a cura espontânea da mastite subclínica e, devido às dificuldades de realização do descarte dos animais com mastite crônica, o diagnóstico precoce, realizado por meio de culturas microbiológicas que identificam os patógenos causadores de mastite no rebanho, possibilita a utilização de estratégias que eliminem as infecções da glândula mamária, especialmente, as que são causadas por *S. agalactiae*. Dessa forma, tornou-se bastante preconizada a utilização da blitz terapia, que se apresenta como alternativa prática para se erradicar *S. agalactiae*, especialmente em rebanhos que tenham alta prevalência de infecções. Este procedimento é realizado a partir do tratamento com antimicrobianos específicos para uso em período seco (como cloxacilinabenzatina e espiramicina em associação com neomicina) e em lactação (cloridrato de ceftiofur, por exemplo) aos 60 e 30 dias pré-parto, respectivamente, em uma única aplicação, em todos os animais infectados do rebanho (SILVA; PEREIRA; MORAES; SANTORO; SILVA, 2012).

Estudos demonstram que tratar com antibiótico a mastite subclínica durante a lactação não é uma prática viável do ponto de vista econômico, pois não demonstra eficácia contra o *Staphylococcus aureus*. No entanto, a terapia aplicada em vacas secas no final do período de lactação, assim como em novilhas no pré-parto, é bastante

eficaz para eliminar infecções intramamárias (ESTÊVÃO NETO; GARINO JÚNIOR; SANTOS; SILVA; MATOS, 2015).

Uma desvantagem percebida é a presença de resíduos antimicrobianos no leite. Nos dias atuais, podem ser utilizados vários métodos para detectar resíduos de antimicrobianos no leite, tais como o teste de inibição de crescimento bacteriano (microbiológico), testes imunológicos e teste de receptores de enzimas (FREITAS; MENDES; VILARREAL; SANTOS; GONÇALVES; GONZALES; NASCENTE, 2018).

ESTÊVÃO NETO; GARINO JÚNIOR; SANTOS; SILVA; MATOS (2015) pesquisaram a presença de resíduos de antimicrobianos no leite dos animais tratados no período pré-parto com antimicrobianos intramamários para vacas secas e em lactação, utilizando 3 antibióticos diferentes entre 30 e 60 dias pré-parto. Neste estudo, constatou-se que, dos animais observados e acompanhados, em 3,44% dos que foram tratados com cloxacilina, 12,50% que receberam tratamento com espiramicina associada à neomicina e em 10% dos animais que receberam cloridrato de ceftiofur, foram constatados resíduos.

Tais resultados demonstram que o tratamento de vacas no momento da secagem pode se apresentar como um risco, pois o período mais recomendado para se aproveitar leite, após a terapia com antibióticos, é de 30 dias, o que pode comprometer economicamente o tratamento.

Como a eficácia da blitz terapia para combater o *Staphylococcus aureus* é muito baixa, insistir nesse protocolo pode resultar em resistência das cepas aos antimicrobianos utilizados. A realização de adequado diagnóstico microbiológico da mastite possibilita que o médico veterinário tenha informações essenciais para identificar o problema e, assim, escolher o medicamento que melhor se adeque ao tipo de mastite. Já é possível realizar os testes de sensibilidade (antibiograma), que são realizados na ocorrência de processos infecciosos que exijam antibioticoterapia e/ou quando a espécie bacteriana apresenta resistência às bases anteriormente aplicadas (REIS; SILVA; BRÉSCIA, 2003).

Ressalta-se, dessa forma, que a realização de antibiograma para detecção do patógeno e acertada escolha do antimicrobiano e sua posologia, deve ser uma medida explorada por produtores. Muitas vezes, com a finalidade de diminuir custos com a

realização de testes laboratoriais, os produtores não os realizam e, ao final, utilizam antimicrobianos inadequados que geram maiores prejuízos (COSTA; BARROS; CUSTÓDIO; PEREIRA; FIGUEIREDO; SILVA, 2013).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existe grande incidência de resistência antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. no rebanho bovino, fenômeno conseqüente do uso indiscriminado de antibióticos. Foi possível caracterizar a mastite bovina, constatando a associação dos casos da doença ao gênero *Staphylococcus* spp. e relacionando os mecanismos de resistência desses micro-organismos aos antimicrobianos.

Os artigos indicaram que os antimicrobianos, principalmente a eritromicina, a penicilina G e a ampicilina, dentre outros, têm sido amplamente utilizados, o que demonstra a necessidade de se realizar análise de sensibilidade *in vitro* dos agentes etiológicos. Os maiores índices são atribuídos à Penicilina G, que ganhou destaque em todos os artigos consultados. Tal fato se explica pela facilidade na compra destes antimicrobianos, e seu baixo custo, tornando-os bastante acessíveis.

Quanto aos que apresentaram alta efetividade no combate à mastite subclínica, apresentando menores índices de resistência, destacam-se a gentamicina, a amicacina e cefalexina. Também se verificou o aumento da ocorrência de múltipla resistência aos antimicrobianos, mais uma vez reforçando a importância desse tema e da necessidade de se adotar práticas efetivas de em relação à mastite subclínica, identificando os agentes etiológicos, para que o tratamento utilizado seja eficaz e específico para cada agente, o que irá reduzir os custos de produção e contribuirá para o aumento da qualidade do leite. Ocorre ainda, nos rebanhos, incidência de grande variação nos perfis de resistência aos antimicrobianos, assim como a ocorrência de múltipla resistência entre algumas cepas estudadas, salientando a necessidade de testes de antibiograma para a escolha dos antimicrobianos mais adequados para o tratamento ou prevenção de mastite causada por *S. aureus*.

Comprovou-se que o monitoramento da contagem de células somáticas regular, além do manejo adequado associado às práticas de higiene e manutenção dos equipamentos, assim como do ambiente da ordenha e curral, são medidas consideradas de grande importância para se avaliar a saúde do rebanho leiteiro, prevenindo e detectando precocemente os prováveis fatores que propiciam a proliferação das bactérias. Tais práticas são essenciais para garantir maior e melhor

produção de leite, beneficiando não somente ao produtor como também a indústria de laticínios, oferecendo aos consumidores finais subprodutos de origem láctea com qualidade adequada.

Portanto, antibióticos devem ser ministrados corretamente para o tratamento de animais com mastites, tomando-se o cuidado de respeitar o período de carência, em que o leite não pode ser comercializado. Controlar rigorosamente a utilização de antibióticos destinados ao tratamento de mastite deve ser preocupação constante, pois a constatação da resistência é resultante de sua má utilização. A facilidade de acesso aos antimicrobianos é visto como algo negativo, já que os prejuízos causados são enormes. Além disso, o surgimento de cepas multirresistentes a antibióticos dificulta o tratamento da doença, acarretando em altos custos para os produtores, que poderiam ser evitados.

REFERÊNCIAS

BEYENE, T.; HALEFOM, H.; GIZAW, F.; BEYI, A. F.; ABUNNA, F.; MAMMO, B.; AYANA, D.; WAKTOLE, H.; ABDI, R. D. Prevalence and antimicrobial profile of *Staphylococcus* in dairy farms, abattoir and humans in addis Ababa, Ethiopia. **Articles from BMC Research Notes are provided here courtesy of BioMed Central.** 2017

BRASIL. Resolução 065/2005. **Regulamento da inspeção sanitária e industrial para leite e seus derivados.** Disponível em: <http://www.seab.pr.gov.br/arquivos/File/PDF/resol_56_leite.pdf>. Acesso em: Jun de 2018.

CADES, M.; ZANINI, D. S.; SOUZA, H. L.; SILVA, J. D.; FINK, A. A. B.; MUNIZI, M. Perfil de resistência antimicrobiana de mastite bovina em propriedade leiteira no município de Monte Negro/RO. **Rev. Bras. de Ciên. da Ama.** V. 6 n. 1, jan. – abr. 2017, p. 1 – 62.

COSTA, G. M.; BARROS, R. A.; CUSTÓDIO, D. A. C.; PEREIRA, U. de P.; FIGUEIREDO, D. J.; SILVA, N. Resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite em bovinos leiteiros de Minas Gerais, Brasil. *Animal Pathology*, **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.80, n.3, p. 297-302, 2013.

ESTÊVÃO NETO, A.; GARINO JÚNIOR, F.; SANTOS, J. C. A.; SILVA, L. C. A.; MATOS, R. A.T. Avaliação de resíduo de antibiótico em amostras de leite de vacas após a terapia de vacas secas. **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, v.82, p. 1-4, 2015

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite.** São Paulo: Lemos, 2001.

REITAS, C. H.; MENDES, J. F.; VILARREAL, P. V.; SANTOS, P. R.; GONÇALVES, C. L.; GONZALES, H. L.; NASCENTE, P. S. Identificação e perfil de suscetibilidade antimicrobiana de bactérias causadoras de mastite bovina em propriedades leiteiras de Pelotas, Rio Grande do Sul. **Braz. J. Biol.**, ahead of print Epub Jan 08, 2018.

GARCIA, M.; LIBERA, A. M. M. P.; FILHO, I B. **Manual de Semiologia e Clínica dos Ruminantes.** São Paulo: Varela, 1996.

GRAÇA, F. G. A.; LOPES, S. P.; FERREIRA, A. M.; ALMEIDA NETO, J. R. M.; GOULART, I. L. Diagnóstico da situação produtiva e reprodutiva de rebanhos leiteiros de municípios pertencentes à Zona da Mata de Minas Gerais: Rio Preto, Santa Bárbara do Monte Verde e Santa Rita de Jacutinga. **Rev.Saber Dig.**, v. 8, n. 1, p. 1-6. 2015

KAISER, T. S.; POSSEBON, K. F.; VIERO, L. M.; MARTINS, L. V. Sensibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus Aureus* isolados em mastites bovinas na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul. **Publicações E. S. C. UNIJUÍ.** 2015

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Rev. de Ed. Cont. do CRMV-SP**, São Paulo, v.3, p.57-64, 2000.

LAZZARI, A. M.; OLIVEIRA, M.V.S.; MORETI, B.; GUIMARÃES, G.; KRUG, F.; NOLETO, G.; MESQUITA, A. J.; NEVES, J.P. Aspectos clínicos e laboratoriais da mastite induzida por inoculação intramamária de *S. aureus* em vacas e búfalas. **Arquivo Bras. de Med. Vet. e Zoot.**, v. 66, n 5 p. 1299-1307, out. 2014.

LÓPEZ, A. M. M.; SOLEDAD, D. Z.; GARCÍA, F. S.; CARRANZA, B. V.; CASTILLO, A. C. G.; PLLIEGO, A. B.; ROJAS, M. T.; FRESÁN, M. U. A.; ORDONEZ, V. V. O. Identificación de biotipos de *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras de producción familiar con mastitis subclínica en la región centro-este del Estado de México. **Rev. Mex. de Ciências Peduárias**. 2012. p. 265-274.

MEDEIROS, E. S.; MOTA, R. A.; SANTOS, M. V.; FREITAS, M. F.L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; TELES, J. A. A. Perfil de sensibilidade microbiana in vitro de linhagens de *Staphylococcus spp.* isoladas de vacas com mastite subclínica. **Pesquisa Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 7, jul. 2009.

NUNES, E. R. C.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; MEDEIROS, E. V.; MOREIRA, K. A. Resíduos de antimicrobianos em leite in natura na microrregião de Garanhuns, Pernambuco. **Rev. Bras. de Med. Vet.**, 38(2):157-162, abr/jun 2016.

OLIVEIRA, W. A.; SANTOS, J. P.; FERREIRA JÚNIOR, A. BITTAR, J. F. F.; BRASÃO, C. Principais bactérias gram-negativas isoladas de mastite bovina e seu perfil de resistência a antimicrobianos em propriedades do município de Uberaba, estado de Minas Gerais, Brasil. **Rev. de Ed. Cont. em Med. Vet. e Zoot. do CRMV-SP**, v. 14, n. 3. 2016

PEDRINI, S. C. B.; MARGATHO, L. F. F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.4, p.391-395, 2003.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELL Y, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 3. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2015.

REIS, S.R.; SILVA, N.; BRESCIA, M.V. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.6, p.651-658, 2003.

SILVA, E. R.; PEREIRA, A. M. G.; MORAES, W. S.; SANTORO, K. R.; SILVA, T. R. M. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus aureus* isolado de mastite subclínica bovina. **Rev. Bras. S. P. A., Salvador**, v. 13, n. 3, jul. 2012.

SILVA, A. C.; SILVA, F. F.; BETT, V. A prevalência de mastites em vacas leiteiras do município de Carlinda (MT), no ano de 2016. **Rev. Bras. de Med. Vet. E Zoot. (PUBVET)**. V.11, n.8, p.761-766, ago., 2017.

SOUZA, K. S. S.; OLIVEIRA, Y. C. M.; DUARTE, A. F. V.; OLIVEIRA, T. C.; VELOSO, Á. L. C.; OLIVEIRA, P. M. C.; FERNANDES, N. S. F. Resistência a antimicrobianos de bactérias isoladas de vacas leiteiras com mastite subclínica. **Cad. Ciênc. Agrá., v. 8, n. 2, p. 83-89.** 2016

TEIXEIRA, J. P.; SILVA, N.; FONSECA, L. M.; COSTA, G. M. Uso de PCR Duplex para detecção dos genes femA e mecA e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em *Staphylococcus aureus* isolados de leite cru. **Rev. do Inst. Adolfo Lutz, v. 73, n. 3.** 2014.