

## QUALIDADE DO LEITE: AVALIAÇÃO DO PERFIL DOS MICROORGANISMOS PRESENTES EM MASTITES BOVINAS CLINICAS NO SUDOESTE DO PARANÁ<sup>1</sup>

Cristina Poll Biguelini<sup>2</sup>

### RESUMO

Os problemas advindos da ocorrência de mastite bovina vão desde as perdas na produção do leite, durante a ocorrência de um processo infeccioso, podendo alcançar de 10% a 26% do total da produção, além do risco para a saúde pública, pela possibilidade de veiculação de microrganismos por meio do leite. Objetivando detectar os microrganismos prevalentes, causadores da mastite bovina clínica no sudoeste do Paraná, que alteram a qualidade do leite, foram estudadas 208 amostras provenientes de vacas com mastite clínica, da região de Francisco Beltrão-PR. O método utilizado foi através de exames bacteriológicos do leite proveniente de animais sintomáticos, realizados em laboratório particular, no período de janeiro a março de 2010. Os resultados obtidos destacaram que os principais microrganismos isolados foram, o de maior incidência, o *Staphylococcus aureus* (21,20%), em segundo lugar os *Staphylococcus* coagulase negativa: *epidermidis* e *saprophyticus*. Em terceiro os Bacilos gram negativos, mais precisamente a *Pseudomonas* sp. Não menos importante, embora de menor incidência, observou-se a ocorrência de três casos de *Listeria* sp (1,40%), que pela sua gravidade merece destaque. O teste de sensibilidade antimicrobiana demonstrou as drogas mais eficazes, ou seja, as mais sensíveis aos microrganismos pesquisados, destacando para o tratamento dos microrganismos *Staphylococcus aureus* a Cefalexina. No caso dos *Staphylococcus* coagulase negativos a maior sensibilidade se ateve a penicilina com novobiocina (*Staphylococcus epidermidis*), o norflomax e a ciprofloxacina (*Staphylococcus saprophyticus*). Para o microrganismo de quarta maior ocorrência, a *Pseudomonas* sp, destacou-se a Gentamicina. Concluiu-se que ocorreu uma prevalência do microrganismo *Staphylococcus aureus*, que é capaz de causar infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas, com baixa taxa de cura e grande perda na produção de leite, pois mesmo o produto sendo pasteurizado, seus esporos continuam ativos, não sendo eliminados nem inativados por pasteurização. Em segundo lugar de prevalência ficou o *Staphylococcus epidermidis*, derivado de causas ambientais e em terceiro a *Pseudomonas* sp, que é uma enterobactéria, proveniente das más condições de higiene. Finaliza-se salientando que o leite é um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de microrganismos e transmissão de algumas zoonoses ao homem; e que juntamente com a mastite podem deixar o produto e seus derivados impróprios para consumo.

**PALAVRAS-CHAVES:** Mastite bovina; Qualidade do leite; Exame bacteriológico.

### 1 INTRODUÇÃO

A mastite (do grego *mastos*) ou mamite (do latim *mammae*) bovina é uma doença de grande importância e que é alvo de uma variada gama de estudos, pois a questão de se identificar uma mama doente geralmente não é o maior problema, mas sim avaliar efetivamente se um quarto está sadio ou em vias de apresentar alguma alteração é o complicado. Além disso, a maioria das mastites apresenta-se sem sinais físicos de processo inflamatório agudo, sendo crônicas ou incipientes e, apesar do aspecto inofensivo, causam sérios prejuízos econômicos e servem de fonte de infecção, pois se trata de uma doença contagiosa e de fácil transmissão e

<sup>1</sup> Monografia de Especialização em Controle de Qualidade em carnes, Leite e Ovos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

<sup>2</sup> Farmacêutica generalista. Pós graduada em Gestão da qualidade na tecnologia de alimentos; e Controle de Qualidade em carnes, Leite e Ovos. Mestranda em Geografia – UNIOESTE. E-mail: biguelini@gmail.com



ocorre em uma ou mais tetas, podendo aparecer quando a vaca está em lactação ou durante o período seco (CULLOR, 1994). A mastite tem duas formas básicas de apresentação, na forma clínica e sub-clínica. Na clínica vários sintomas estão presentes, dentre eles a secreção de leite com formação de grumos, pus ou de aspecto aquoso, tetas e úbere com vermelhidão, duros, inchados, doloridos e quentes (muitas vezes seguido de febre, perda de apetite e até a morte do animal em casos mais graves). E a sub-clínica, onde os sintomas não são visíveis, e para isso usam-se testes especiais como o CMT (Califórnia Mastitis Test) que pode diagnosticar a doença (MENDONÇA, 1999).

Os aspectos econômicos ligados a doença, retratam-se os gastos derivados da redução na produção de leite (que podem chegar a mais de 20% da produção diária) e também os que decorrem das perdas na qualidade do leite, dos rejeitos por resíduos de antibióticos, morte de vacas, gastos com tratamento, entre outros, aumentam ainda mais estes prejuízos (SEARS, 1993).

Estudos têm demonstrado que as causas que levam ao aparecimento da doença seguem a um tripé, onde estão os fatores ambientais, os do animal e principalmente os do manejo inadequado das vacas (BRITO, 2000).

O estudo em questão objetivou analisar o perfil dos casos de mastite bovina clínica, de exames realizados em laboratório particular, da região de Francisco Beltrão/PR, no período de janeiro a março de 2010; por se tratar de uma situação que deriva em alterações significativas na qualidade do leite comercializado na região. O trabalho se deu através da identificação dos microrganismos prevalentes nas culturas realizadas e do antibiótico que apresentou maior susceptibilidade no teste de antibiograma.

## **2 REFERENCIAL TEORICO**

A mastite bovina é considerada a doença que acarreta os maiores prejuízos econômicos à produção leiteira, devido alterações na quantidade e na qualidade do leite produzido, ou até a perda da capacidade secretora da glândula mamária. Ela se caracteriza pela inflamação da glândula mamária, geralmente infecciosa e que pode ser clínica ou subclínica. Sendo que a mastite clínica apresenta sinais visíveis como inchaço, aumento de temperatura, endurecimento, dor na glândula mamária,

grumos, pús ou qualquer alteração das características do leite (FONSECA & SANTOS, 1999).

Entretanto as mastites subclínicas, crônicas, que em alguns meses destroem a capacidade funcional da mama, causando prejuízos econômicos, ao mesmo tempo em que podem alastrar-se silenciosamente no rebanho, agravando os prejuízos e causando problema de saúde animal, não são diagnosticadas pelos métodos rotineiros de exame clínico como a inspeção do animal, leite e palpação, pois não apresenta sinais visíveis de inflamação do úbere (RADOSTITS et al. 2000).

No Brasil, segundo BRANT & FIGUEIREDO (1994) a etiologia da mastite é bastante variável, o que torna necessária à identificação dos microrganismos que causam a infecção da glândula mamária através de exames de cultura, tanto para o controle e prevenção, quanto para o monitoramento de rebanhos.

Vários são os agentes etiológicos causadores da mastite bovina, sendo que alguns artigos citam cerca de 140 espécies de microrganismos pertencentes a 35 gêneros, onde se observou a predominância de bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* (SCHOCKEN-ITURRINO et al. 1996).

Nestes casos o diagnóstico bacteriológico é decisivo, porém caro e mais demorado, sendo pouco aplicável a rebanhos com grande número de animais. Várias simplificações vêm sendo estudadas, entretanto, visando eliminar estas dificuldades, como a utilização de meios de cultura especiais e a criação de esquemas de identificação presuntiva (FIGUEIREDO, 1995).

O conceito para o termo “qualidade” refere-se ao conjunto de características que diferenciam as unidades individuais de um produto e que tem importância na determinação do grau de aceitabilidade daquela unidade pelo consumidor (SILVA et al.,

2008). Assim sendo, a colonização da glândula mamária bovina por bactérias patogênicas resulta em eventos que conduzem a alterações na composição do leite, conseqüentemente em sua qualidade. Inicialmente ocorrem elevados níveis de bactérias patogênicas, seguido pelo aumento marcante no número de células somáticas (BRADLEY et al., 2002).

O leite *in natura* sofre influência direta de algumas variáveis em relação a sua qualidade, como fatores associados ao manejo, alimentação, obtenção e

armazenagem do leite, além do potencial genético dos rebanhos. Uma vaca com mastite vai ter sua produção leiteira afetada em quantidade e qualidade, além de ter um aumento na contagem Células Somáticas no leite. Sendo assim, a composição do leite, o tempo de coagulação, a atividade enzimática, a produtividade e a qualidade dos derivados lácteos são influenciados negativamente (OLIVEIRA et al., 1999; MÜLLER, 2002).

A mastite pode ainda ser classificada como contagiosa ou ambiental, de acordo com o tipo de microrganismo causador da maioria das infecções nos rebanhos e ainda ser caracterizada de acordo com dois modelos epidemiológicos, fundamentados no momento da infecção: mastite de ordenha e mastite de ambiente. A primeira ocorre durante a ordenha enquanto a segunda se dá nos intervalos entre as ordenhas (RUBHUN, 2000).

De acordo com Radostits et al. (2000), as alterações mais importantes no leite são descolorações, presença de coágulos e grande número de leucócitos. E descreve ainda que quando um agente patogênico invade a glândula mamária, o organismo do animal reage, mandando para o local células de defesa, principalmente leucócitos, a maioria neutrófilos polimorfonucleares, para tentar reverter o processo infeccioso. Essas células de defesa somadas as células de descamação do epitélio secretor são chamadas células somáticas.

Quando há presença de microrganismos patogênicos na glândula mamária, geralmente a contagem de células somáticas se apresenta elevada (acima de 300.000 cél./ml de leite). Outros fatores como estágio de lactação, idade do animal, estação do ano e vários outros tipos de estresses, podem influenciar a contagem de células somáticas (CCS) (CUNHA, 2008). A mastite faz com que as células epiteliais do tecido secretor, os alvéolos, sejam substituídas por tecido conjuntivo, ocasionando queda na produção de leite, pois para células somáticas alcançarem o interior dos alvéolos e combater as bactérias, passam por entre duas células secretoras de leite e acabam destruindo estas células (BELOTI, 1997).

Em programas de controle e prevenção de mastite, como no *Recommended mastitis control program* (2001), deve-se levar em consideração não apenas os fatores de risco relacionados às características de animal, de ambiente, de manejo e de equipamento de ordenha, mas também o suporte laboratorial.

A importância do diagnóstico microbiológico é discutida por Brito et al. (2000) e Cunha et al (2008), pois fornece o padrão de infecção do rebanho, o que auxiliaria no controle e na erradicação de determinados patógenos.

Os agentes causadores de mastite são, além das bactérias, também os fungos e as algas, sendo as bactérias os agentes isolados com maior frequência (COSTA et al, 2001). Porém, cada vez mais, a literatura registra casos esporádicos de microrganismos de origem ambiental, entre os quais se destacam as leveduras, os fungos leveduriformes e os filamentosos. Apesar de os fungos filamentosos estarem amplamente distribuídos na natureza, eles são apenas esporadicamente isolados de casos de mastite, enquanto que as leveduras são os fungos que mais frequentemente estão relacionadas às infecções da glândula mamária em animais produtores de leite. (SMITH, 1994)

Com relação ao perfil microbiológico dos rebanhos, vários trabalhos têm apontado que o *Staphylococcus* sp é o principal agente causador de mastite no Brasil. Langenegger et al. (1970) encontraram 53,1% de *S.aureus* dentre 429 vacas com exame microbiológico positivo. Nesse estudo também foram isolados *S. agalactiae* (24,7%), *S. dysgalactiae* (17,2%) e *S.uberis* (4,6%).

Já Nader filho et al. (1983) encontraram dentre as amostras positivas obtidas 52,08% de *S.aureus*, 14,58% de *S. dysgalactiae*, 10,42% de *S.agalactiae*, 8,33% de *S. uberis* e 6,25% de *S. epidermidis*.

Langoni et al. (1990) examinando 702 amostras de leite com mastite subclínica encontraram a seguinte ocorrência de agentes: *S. aureus* 36,9%, *S. epidermidis* 22,2%, *C. bovis* 4,8%. *C. pyogenes* 4,4%, *S. uberis* 4,3%, *E. coli* 4,0%, *S. dysgalactiae* 3,8%, *S. agalactiae* 3,7% e *Candida albicans* 3,8%. Cabe ressaltar o aumento na importância do *C. bovis* como agente etiológico causador de mastite observado em trabalhos de levantamento mais recentes.

Em 17 municípios do Estado de São Paulo, Costa et al. (1985) isolaram *C. bovis* em 954 amostras (32,50%) de um total de 2.935 amostras. Este trabalho reforça a tendência verificada que aponta o *C. bovis* como segundo agente em termos de frequência de isolamento em trabalhos realizados no Brasil.

O manejo sanitário do rebanho leiteiro é o principal fator para obtenção de um produto final com todos os requisitos de qualidade. A mastite é, sem dúvida, um dos

mais importantes problemas sanitários que afeta a produção leiteira. Determina perdas quali-quantitativas, gastos com medicamentos, honorários profissionais, além do descarte em muitos casos do leite e dos animais. Há ainda a redução na quantidade e qualidade do leite, sendo que este se encontra contaminado e quando consumido sem ser pasteurizado, pode veicular agentes patogênicos ao homem, comprometendo assim a saúde pública (COSTA, 1986).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O exame microbiológico de cultura de microrganismos é considerado o método padrão para o diagnóstico da mastite bovina, sendo que o seu principal objetivo é oferecer resultados rápidos e precisos para que se possa tratar de forma mais eficaz, reduzindo perdas com tratamentos sem resultado e diminuindo os casos de resistência bacteriana a antibióticos. Bem como estabelecer através do antibiograma o medicamento mais indicado para efetivo extermínio do microrganismo causador da patologia em questão. Desse modo, medidas específicas de controle direcionadas para o ambiente, ou para a higiene da ordenha, podem ser indicadas de acordo com o padrão de infecção encontrado (BRITO et al., 2000).

O estudo foi realizado em análises laboratoriais de cultura e antibiograma de leite bovino derivado de rebanhos bovinos leiteiros localizados na região de Francisco Beltrão, Estado do Paraná, no período de janeiro a março de 2010.

Os exames microbiológicos foram realizados semeando-se 0,1 mL de leite em placas duplas de ágar sangue bovino a 10% e de Agar *Mac Conkey*, incubando-se em condições aeróbicas a 37°C, por até 96 horas, com observação do desenvolvimento microbiano a cada 24 horas, sendo que após as 24hrs da semeadura da amostra direto nas placas duplas, se não houve desenvolvimento de colônias, a amostra enriquecida no caldo BHI (*Brain heart infusion broth*- é um meio líquido nutritivo destinado ao cultivo de microrganismos fastidiosos) e então novamente semeada em placas duplas. As leituras foram realizadas 24 horas após a semeadura, 48 e 72 horas. Os agentes isolados foram identificados de acordo com as características morfológicas das colônias e morfotintoriais, pela técnica de Gram, além de provas bioquímicas e taxonômicas realizadas a partir de amostras

bacterianas obtidas do repique de duas a três colônias do agente em meio de caldo infuso cérebro-coração, como catalase, coagulase em tubo, *clumping factor*, crescimento e fermentação em manitol *salt* Agar, fermentação da maltose e uréia, resistência à polimixina B (300 UI), sensibilidade à novabiocina (5mg) e produção de desoxirribonuclease, conforme rotina do laboratório.

Na rotina do exame microbiológico para diagnóstico de mastite, o teste de produção de coagulase em tubo é empregado para classificar os *Staphylococcus* em dois grupos: os coagulase positivos e os coagulase-negativos. Historicamente, tem sido considerada como *S. aureus* a bactéria que apresenta hemólise incompleta em Agar sangue e resultado positivo no teste de coagulase em tubo após quatro horas de incubação (HARMON *et al.* 1990). Entretanto, este procedimento não permite diferenciar *S. aureus* da espécie coagulase-positiva *S. intermedius* e das variantes coagulase-positivas de *S. hyicus*. Um teste adicional recomendado para diferenciar as espécies coagulase-positivas é a produção de acetoina a partir de glicose ou piruvato, positivo para *S. aureus* e negativo para *S. intermedius* e *S. hyicus* (HARMON *et al.*, 1990).

A correta identificação de *S. aureus* de mastite bovina é importante tanto do ponto de vista epidemiológico quanto da prevenção das infecções, incluindo a imunoprofilaxia.

#### **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Das duzentas e oito amostras de leite mastítico, proveniente de vacas sintomáticas (mastite clínica), pesquisadas no período de janeiro a março de 2010, na região de Francisco Beltrão, Estado do Paraná, observou-se uma prevalência de alguns microrganismos e ocorrência de outros não menos importantes pela baixa incidência (Tabela 1).

O microrganismo de maior incidência foi o *Staphylococcus aureus* com 21,20% das ocorrências (Figura 1), em segundo lugar ficou o *Staphylococcus epidermidis* e em terceiro a *Pseudomonas* sp. O resultado obtido vem reforçar o trabalho de Langoni *et al.* (1990), onde foram examinados 702 amostras de leite com mastite subclínica e encontraram a ocorrência de *S. aureus* em 36,9% e *S.*

*epidermidis* em 22,2%. E para Langenegger et al. (1970) que em seu estudo encontrou 53,1% de *S.aureus* dentre 429 vacas com exame microbiológico positivo.

Tabela 1: Microrganismos isolados de mamite clínica, % de ocorrência e sensibilidade à antibiótico.

MICROORGANISMO	OCORRÊNCIA	% OCORRÊNCIA	SENSIBILIDADE/ ANTIBIÓTICO (Sensibilidade)	
			Maior	Menor
<i>Staphylococcus aureus</i>	44	21,20%	cefalexina	amox+clavul
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	36	17,30%	pen+novob	cefalotina
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	19	9,10%	noflomax e cipro	cefalotina
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	04	1,90%	norflomax, cipro, penicilina, estreptomina	
<i>Streptococcus viridans</i>	12	5,80%	enroflox, cipro, ampic,pen+novob	cefalotina amoxilina + clav. norflomax penicilina
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	07	3,40%	oxacilina, norflomax	cefalotina tetraciclina
<i>Streptococcus agalactiae</i>	05	2,40%	norflomax	cefalotina silfazotrin, amoxilina + clav.
<i>Corynebacterium sp</i>	05	2,40%	tilmicosin, genta, enroflox, norflomax, azitrom	
<i>Actinomyces SP</i>	02	0,50%	cefalotina	
<i>Nocardia SP</i>	01	1%	cipro	
<i>Listeria SP</i>	03	1,40%	cipro,amox+clavu, norfloxacim	



Tabela 1: Microrganismos isolados de mamite clínica, % de ocorrência e sensibilidade à antibiótico (continuação).

MICROORGANISMO	OCORRÊNCIA	% OCORRÊNCIA	SENSIBILIDADE/ ANTIBIÓTICO (Sensibilidade)	
			Maior	Menor
<i>Enterobacter</i> sp	09	4,30%	sulfazotrin, enrofloxacin	norflomax, cipro, ampicilina
<i>Enterobacter bovis</i>	02	1,00%	norflomax, estreptomicina	
<i>Enterococcus</i> sp	04	1,90%	enrofloxacin, sulfazotrin, pen+novob	
<i>Micrococcus</i> sp	06	2,90%	amoxi, florfenicol, pen+novob, amox+clavul, cefalotina, genta	
<i>Pseudomonas</i> sp	20	9,60%	genta	norflomax
<i>Escherichia coli</i>	8	3,80%	norflomax	ampicilina amoxilina + clav
<i>Bacillus</i> sp	10	4,80%	cipro	enrofloxacin, sulfazotrin
Leveduras	9	4,30%		
Fungos	2	1%		
TOTAL	208	100,00%		

Principais Microrganismos Isolados

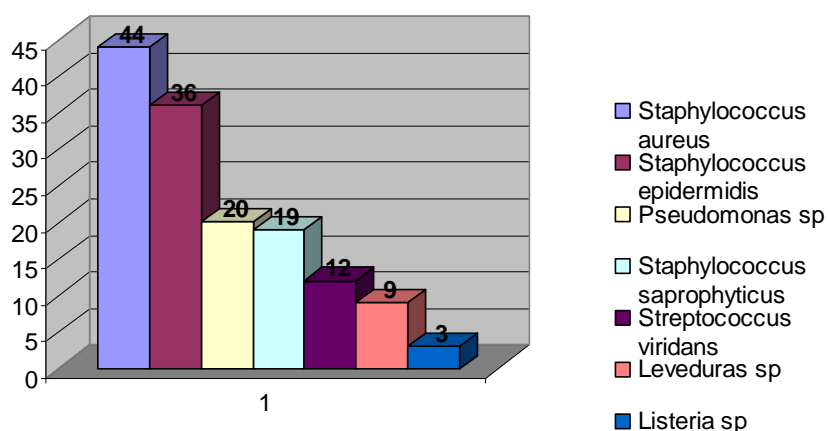


Figura 1: Principais microrganismos encontrados em mamite bovina clínica no sudoeste do Paraná

Salienta-se aqui da importância na detecção do *S. aureus*, pois ele é capaz de causar infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas, com

baixa taxa de cura e grande perda na produção de leite (SERAPICOS, 2008). Vários fatores podem interferir na cura bacteriológica quando se utiliza a terapia com antibióticos, seja devido ao estágio da ocorrência da infecção ou à presença de bactérias em abscessos, além da incapacidade de defesa das células (DINIZ et al., 1998).

Segundo Serapicos (2008) quando se analisa o problema da resistência a antibióticos devem considerar-se alguns pontos fundamentais, como a seleção de microrganismos resistentes por ação de agentes antimicrobianos e a aquisição de genes de resistência por transferência horizontal de genes. O primeiro ponto decorre da ocorrência de antibióticos e/ou dos seus produtos de degradação no ambiente, permitindo a seleção de bactérias detentoras de genes de resistência em detrimento das que não são portadoras de tais elementos genéticos (ALONSO et al., 2001).

Dos antibióticos testados no teste de sensibilidade (antibiograma), observou-se uma maior sensibilidade da Cefalexina para o microrganismo *Staphylococcus aureus*, da Penicilina com Novobiocina para o *Staphylococcus epidermidis* e a Gentamicina para a *Pseudomonas* sp.

As espécies coagulase-negativas, que no estudo em questão obtiveram em conjunto 26,4% (*S. epidermidis* 17,30% e *S. saprophyticus* 9,10%), comumente isoladas de leite bovino, são consideradas patógenos secundários e, em geral, causam reação inflamatória moderada na glândula mamária (HARMON et al, 1990).

A mastite por microrganismos ambientais é transmitida principalmente no intervalo entre ordenhas, em ambientes com excesso de matéria orgânica, dejetos e umidade (FRANCIS, 1989). A pesquisa demonstrou que o microrganismo de terceira maior ocorrência foi a *Pseudomonas* sp (9,60%), que são bactérias oportunistas, ubíquas, identificadas em diversas afecções, tanto nos humanos como nos animais, observadas especialmente em quadros de otite, cistite, endometrite, encefalite, linfadenite, mastite, dermatite, abscessos, pneumonia, enterite e septicemia (Radostits et al., 2000). No ambiente, são encontradas preferencialmente na água, no solo e, ocasionalmente, nas plantas. Nos animais, podem ser isoladas das mucosas e fezes (ALONSO, 2001).

A mastite bovina por *Pseudomonas* spp. Está intimamente relacionada à água contaminada utilizada na lavagem dos tetos, dos insufladores (teteiras), da

canalização do equipamento de ordenha, do conteúdo reutilizável de pré ou pós-dipping, ou mesmo em cânulas contaminadas durante a terapia intramamária (LEVY, 2002). A mastite por *P. aeruginosa* é incomum. Entretanto, já foram descritos surtos de mastite com manifestações clínicas graves, hiperagudas, nas primeiras semanas pós-parto (Radostits et al., 2000).

No trabalho em questão, a *Pseudomonas* sp demonstrou maior sensibilidade ao antimicrobiano Gentamicina, o que vem a diferir do trabalho de Fernandes et al (2009), que apresentou a enrofloxacina (73,7%) e a danofloxacina (73,7%) como os antimicrobianos mais efetivos, lembrando que apenas a enrofloxacina foi usada nos testes deste estudo.

A pesquisa de Costa (1998) retrata que a porcentagem de bactérias como *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus* e *Nocardia asteroides* gira em torno de 6% das ocorrências de microorganismos causadores da mastite bovina e entre estas se destacam as quais muito embora ocorram em menor porcentagem dos casos, são agentes de zoonoses graves. A primeira, *Listeria monocytogenes*, causa meningoencefalite, septicemia, abortamento e tem por característica a capacidade de se multiplicar à temperatura de refrigeração do leite (0 a 4 °C), sendo citados casos na literatura internacional de surtos atribuídos ao consumo de leite pasteurizado.

Neste estudo sua prevalência foi de somente 1,4%, mas pelo simples fato de aparecer nas ocorrências e de ter uma grave implicação em sua ocorrência, merece amplo destaque.

## **5 CONCLUSÕES**

A mastite é um sério problema econômico no contexto da pecuária nacional. Os prejuízos ocorrem tanto na quantidade quanto na qualidade do leite produzido, com consequências no segmento da produção dos derivados lácteos. Existe uma grande diversidade na etiologia infecciosa da mastite. Este fato faz com que os testes diagnósticos para mastite possam ter comportamentos diferentes de acordo com o microrganismo responsável pela doença, devido à maneira como cada quarto mamário responde à infecção e é afetado por determinado agente etiológico.

Para diagnóstico da mastite além da verificação dos sintomas clínicos é recomendável que diariamente seja realizado o teste da caneca telada ou de fundo preto, onde são depositados os primeiros jatos de leite de cada teta e observa-se a presença ou não de grumos, pus ou se o leite está aquoso. Antes da ordenha observa-se também se há presença de ferimentos, inflamação nas tetas e no úbere.

O *Califórnia Mastitis Test* (CMT) é um teste que deve ser realizado rotineiramente, e é feito em uma bandeja que contém quatro compartimentos e em cada um destes compartimentos é coletado 2 mL de leite de cada teta e adicionado um reagente, homogeneizado e verificado a formação de um gel em algum compartimento, aquela teta é positiva para mastite subclínica. Ou seja, a infecção da glândula mamária dos bovinos pode ser controlada com a utilização de substâncias germicidas nos tetos antes e após a ordenha, antibioticoterapia no período de secagem, eliminação dos casos crônicos, tratamento dos casos clínicos durante a lactação e o adequado funcionamento dos equipamentos de ordenha.

Os dados avaliados na pesquisa em questão demonstraram a prevalência do microrganismo *Staphylococcus aureus*, que é capaz de causar infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas, com baixa taxa de cura e grande perda na produção de leite; sendo de suma importância na execução da Instrução Normativa do Ministério da Agricultura (MAPA) de número 51 do ano de 2002, que trata da qualidade do leite, pois existindo o microrganismo *Staphylococcus aureus*, existem também seus esporos, que mesmo o produto sendo pasteurizado, continuam ativos, pois não são eliminados nem inativados por pasteurização. Em segundo lugar o *Staphylococcus epidermidis*, que gira mais em torno de causas ambientais e em terceiro lugar a *Pseudomonas* sp, que é uma enterobactéria. Além destes microrganismos mais prevalentes, houve a ocorrência de diversos outros, mas o que mais chamou a atenção, embora com baixa ocorrência (1,4%) foi a *Listeria* sp, devido a serias complicações que a mesma gera ao organismo humano.

Concluiu-se com o trabalho em questão que ocorreu uma prevalência do microrganismo *Staphylococcus aureus*, que é capaz de causar infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas, com baixa taxa de cura e grande perda na produção de leite, pois mesmo o produto sendo pasteurizado, seus esporos continuam ativos, não sendo eliminados nem inativados por pasteurização.

Em segundo lugar de prevalência ficou o *Staphylococcus epidermidis*, derivado de causas ambientais e em terceiro a *Pseudomonas* sp, que é uma enterobactéria, proveniente das, mas condições de higiene. Finaliza-se salientando que o leite é um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de MO e transmissão de algumas zoonoses ao homem, que, juntamente com a mastite podem deixar o produto e seus derivados impróprios para consumo (OLIVEIRA et al., 1999).

## REFERÊNCIAS

- ALONSO, A.; SÁNCHEZ, P.; MARTÍNEZ, J. L. Environmental selection of antibiotic resistance genes. Minireview. **Environmental Microbiology**. v.3, p.1-9. 2001.
- BELOTI, V.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C.; et al. Estudo da mastite subclínica em rebanhos leiteiros no norte do Paraná. **Seminário Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1. Londrina, 1997. p. 45-53
- BRADLEY, A.J. Bovine mastitis: an evolving disease. **Vet. J.** v.164, p.116-128. 2002.
- BRANT, M.C.; FIGUEIREDO, J.B. Prevalência da mastite subclínica e perdas de produção em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 46, p. 595-606. 1994.
- BRITO, J.R.F; BRITO, M. A.V.P. **Mastite bovina**. Manole. São Paulo, 2000. p. 114-129.
- COSTA, E. O.; COUTINHO, S. D.; TEIXEIRA, C. M.; Etiologia bacteriana da mastite bovina no estado de São Paulo, Brasil. **Revista Microbiológica**, v.17, n.2. São Paulo, 1986. p. 107- 112
- COSTA, E. O.; RIBEIRO, A. R.; GARINO Jr., F.; et al. Portador: um importante elo na epidemiologia de mastite infecciosa bovina. *In*: Congresso Brasileiro De Medicina Veterinária, **Anais...** p.28. Salvador, 2001.
- COSTA, E.O.; CARVALHO, V.M.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W; CARAMORE, L.F.L. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.5, n.4. Brasília, 1985. p.117-120.
- CULLOR, J. S., TYLER, J. W., SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. *In*: SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna dos Grandes Animais**. v.2. São Paulo, 1994. p.1041- 1060.
- CUNHA, R.P.L.; MOLINA, L.R.; CARVALHO, A.V. et al. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número e lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.60, p.19-24, 2008.
- DINIZ, M.A.P.R.; BRANDÃO, S.C.C.; FARIA, E. et al. Tratamento de mastite subclínica e clínica, em vacas lactantes, com ácido acetilsalicílico, mastenzin e associação mastenzin com ácido acetilsalicílico. **Hora Vet.**, n.18, p.27-33, 1998.

FIGUEIREDO, J. B. Mastite bovina: visão panorâmica de uma doença complexa In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11., 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 1995. p.176.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite.** São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p. FILIPPSEN, L. F.; Prevalência da mastite bovina causada por *Prototheca zopfii* em rebanhos leiteiros, na região Norte do Paraná. **Ciência Rural**, v.29, n.1. Santa Maria, 1999. p.87-89.

FRANCIS, P.G. 1989. Mastitis therapy. **Br. Vet. J.**, v.145, 1989. p.302-311.

HARMON, R.J., EBERHART, R.J., JASPER, D.E., *et al.* **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection.** National Mastitis Council. Arlington, 1990. 34p.

LANGENEGGER, H.; COELHO, N.M.; HANGENEGGER, C.H.; CASTRO, R.P. Estudo da incidência da mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.5. Brasília, 1970. p.437

LANGONI, H.; PINTO, M.P.; DOMINGUES, P.F.; LISTONI, F.I.P. Mastite bovina subclínica: etiologia e sensibilidade bacteriana. **Comunicação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v.14, n.l. Pirassununga 1990. p.11-31.

LEVY, S. B. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.49, p.25-30. 2002.

MENDONÇA, C. L.; FIORAVANT, M. C. S.; SILVA, J. A . B. A.; et al. Etiologia da mastite bovina. **Veterinária Notícias**, v.5, n.1. Uberlândia, 1999. p.107-118.

MÜLLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: SANTOS, G.T.; JOBIM, C.C.; DAMASCENO, J.C. Sul-Leite: Simpósio sobresustentabilidade de pecuária leiteira na região sul do Brasil, 2002, Maringá. **Anais...** UEM/CCA/DZO- NUPEL. Maringá, 2002. p.206 – 217.

NADER FILHO, A.; SHOCKEN-1TURRINO, R.P.; ROSSI Jr., O.D. Mastite subclínica em rebanhos produtores de leite tipo B. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.35, n.5. Belo Horizonte, 1983. p.621-630.

OLIVEIRA, C.A.F.; FONSECA, L.F.L.; GERMANO, P.M.L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, v. 13, n. 62. São Paulo, 1999. p. 10 – 13

RADOSTITS, O.M; GAY, C.C; BLOOD, W.C; HEMCHELIFF, K.W. **Clínica Veterinária – Um tratado de doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Eqüinos.** Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2000. p. 541-621.

RECOMMENDED mastitis control program. **Madison: National Mastitis Council, 2001.** Disponível em: <<http://www.nmconline.org/docs/NMC10steps.pdf>>. Acessado em: 20.02.2010.

RUBHUN, W.C. **Doenças do Gado Leiteiro.** Roca. São Paulo, 2000, p. 339-370.

SERAPICOS, E. S. A. C. **Prevalência da resistência a antibióticos, metais e desinfetantes em isolados de staphylococcus provenientes de uma etar**

**municipal.** FEUP, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto. Portugal, Janeiro de 2008.

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

SEARS, P. M.; GONZÁLEZ, R. N.; WILSON, D. J.; et al. Procedures for mastitis diagnosis and control. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 9, n.3, Nov.1993.

SMITH, B. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. V.2, Manole. São Paulo, 1994, p. 1045-1056.

SILVA, M. V. M.; SARMENTO, A. M. C; FRANCA, A. P; A; Resíduos de antibióticos no leite e seus efeitos na saúde pública: uma preocupação constante. 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, **Anais...** Gramado/RS, 2008.