

DESAFIOS: Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins – V. 2, Nº Especial, p. 156-170, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2015v2nespp156>

ISOLAMENTO E SENSIBILIDADE A QUIMIOTERÁPICOS DE *STREPTOCOCCUS* SPP ENVOLVIDOS NA MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE ARAGUAÍNA, TOCANTINS

ISOLATION AND SENSITIVITY TO STREPTOCOCCUS SPP'S CHEMOTHERAPIC DRUGS INVOLVED IN CLINICAL AND SUBCLINICAL BOVINE MASTITIS IN THE MICRO-REGION OF ARAGUAÍNA, TOCANTINS

Bruna Alexandrino

Crispim Anderson Rodrigues Correia

Letícia Coelho Miranda Brito

Silvia Minharro Barbosa

Universidade Federal do Tocantins- UFT

RESUMO

A mastite bovina é a principal doença do gado leiteiro devido a sua prevalência acarretando grande impacto econômico mundial. Sua etiologia é complexa, sendo o principal agente o *Staphylococcus aureus*, seguido pelo *Streptococcus* spp. O presente trabalho tem por objetivo isolar os microrganismos pertencentes ao gênero *Streptococcus*, presentes no leite de vaca da microrregião de Araguaína, Tocantins, e testar a sensibilidade destes aos diversos quimioterápicos disponíveis no mercado. Foram utilizados 148 animais, totalizando 544 quartos mamários viáveis. Destes, foram colhidos assepticamente 294 amostras de leite de vaca oriundas de cinco propriedades denominadas de A a E, sendo 121 amostras da propriedade A, 36 da B, 20 da C, 74 da D e 43 da E. As propriedades de A a C realizam ordenha mecânica e as D e E, ordenha manual. Foram observados 30,51% (166/544) de prevalência geral para a enfermidade, sendo de 4,78% (26/544) e 25,74% (140/544) a prevalência para a mastite clínica e subclínica, respectivamente. As análises laboratoriais das amostras (arranjo e catalase) não foram sugestivas para microrganismos do gênero *Streptococcus*, sendo sugestivo o envolvimento de microrganismos do gênero *Staphylococcus* e microrganismos bastonetes. Conclui-se que o gênero *Streptococcus* não é expressivo na prevalência da mastite tanto clínica quanto subclínica em vacas da microrregião de Araguaína, Tocantins.

Palavras-chave: Mastite; qualidade do leite; resistência antimicrobiana

ABSTRACT

The bovine mastitis is the main dairy cattle's disease due to its prevalence, causing a severe economic impact in the world. Its etiology is complex, but the main agent is the *Staphylococcus aureus*, followed by the *Streptococcus* spp. The present study aims at isolating the micro-organisms belonged to the gender *Streptococcus* and presented in the cow's milk of the Araguaína's micro-region, and test its sensitivity to several drugs available at the market. A total of 148 animals were used, totaling 544 mammary quarters available. Into these quarters, 294 milk's samples were aseptically recollected among five properties designed from A to E, in which 121 samples are from A's property, 36 from B, 20 from C, 74 from D and 43 from E. The properties A and C employ the mechanic milking, while the properties D and E employ hand milking. There were observed an overall prevalence of 30,51% (166/544) for the disease, in which 4,78% (26/544) and 25,74% (140/544) were detected clinical and subclinical mastitis, respectively. The laboratorial analysis of the samples (arrangement and catalase) didn't shown any evidence of *Streptococcus*' microorganisms, thus being an evidence of the involving of *Staphylococcus* and rod bacteria.

Consequently, it is concluded that the gender *Streptococcus* isn't significant into the prevalence in both of mastitis – clinical and subclinical's one – in the micro-region of Araguaina, Tocantins.

Keywords: Mastitis; Milk's quality; Antimicrobial resistance

Recebido em 18/09/2015. Aceito em 24/09/2015. Publicado em 03/12/2015.

INTRODUÇÃO

O termo mastite é designado do grego *mastos*, ou mamite, que vem do latim *mammae*, e segundo Radostits *et al.*, (2007), trata-se de um processo inflamatório da glândula mamária, cujas alterações são tanto físicas como químicas, além de bacteriológicas no leite e/ou alterações no tecido glandular.

Sua etiologia é complexa, podendo ser atribuída a processos traumáticos, fisiológicos, alérgicos e, principalmente, infecciosos (Blood e Radostits, 1991) e até mesmo psicológica, decorrente da retenção de leite em fêmeas zebuínas ou mestiças na ausência de bezerros (Costa *et al.*, 1995). Foi relatada a participação de 137 espécies de microrganismos no desencadeamento dessa afecção, o que reforça a complexidade etiológica, dificultando em algumas situações o seu tratamento e controle (Watts, 1988).

O *S. aureus* ocupa o primeiro lugar na frequência de isolamento, ficando o *Streptococcus* spp em posição secundária, certamente devido a suscetibilidade que apresenta aos antimicrobianos (Ferreiro *et al.*, 1981; Riedner *et al.*, 1987). Baldassi *et al.* (1991); Costa *et al.* (1995) e Langoni *et al.* (1998), também consideram os *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp e *Corynebacterium* spp os microrganismos mais comuns na mastite, sendo estes considerados como contagiosos. Os microrganismos de origem ambiental que apresentam maior prevalência são a *E. coli*, a *Klebsiella pneumoniae*, o *Enterobacter aerogenes*, entre outros (Smith *et al.*, 1985).

A mastite pode manifestar-se sob as formas clínica ou subclínica (Blood e Radostits, 1991). A mastite subclínica, tem caráter silencioso, pois não apresenta sintomas aparentes, entretanto, ocasiona alterações no leite, tais como, aumento da contagem de células somáticas (CCS); aumento nos teores de íons cloro, sódio e proteína sérica; diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura do leite, o que limita a exploração econômica da raça leiteira (Bramley *et al.*, 1996).

Vianni e Lázaro (2003) garantem que pelo fato da mastite clínica exercer uma maior gravidade em animais acometidos, possui uma fundamental importância, pois geram uma

grande avaria para o produtor leiteiro como: gastos com medicamentos, redução na produção, descarte do leite, descarte precoce de animais e em graus mais bruscos levam a morte do animal. Todavia, a mastite subclínica por ter uma atitude silenciosa, passa despercebida pelos produtores e gera maiores prejuízos, chegando a 70% de perdas enquanto 30% devem-se a apresentação clínica da doença. Segundo Philpot e Nickerson (1991) para cada caso clínico de mastite devem existir entre 15 e 40 casos subclínicos.

Estima-se que no rebanho brasileiro a prevalência desta enfermidade esteja entre 20 e 38%, representando a perda da produção entre 12 e 15% (Reis *et al.*, 2005). A prevalência da mastite está relacionada, principalmente, ao manejo antes, durante e após a ordenha. Portanto é importante a conscientização do ordenhador quanto aos procedimentos adequados de ordenha, incluindo as formas corretas de higienização e desinfecção do ambiente, do animal, do profissional e de todos os utensílios utilizados na ordenha (Coser *et al.*, 2012).

Uma das medidas preconizadas para o controle da mastite é o tratamento da enfermidade, pois previne a morte de animais, especialmente nos casos agudos, septicêmicos e toxêmicos, e visa o retorno da composição e produção normal do leite além de eliminar fontes de infecções para as demais vacas sadias (Langoni *et al.*, 1998). O tratamento adequado é uma das formas mais práticas e eficientes de controle, por eliminar um elo importante da cadeia epidemiológica desta enfermidade (Langoni *et al.*, 1999). O êxito no tratamento das mastites depende além do diagnóstico precoce o uso correto do quimioterápico; portanto, a sensibilidade do microrganismo envolvido frente ao princípio medicamentoso utilizado é um fator importante a ser considerado (Langoni *et al.*, 1999).

A rotina de utilização de antimicrobianos pode causar problemas de resíduos e promove o desenvolvimento de linhagens resistentes. Verifica-se na atualidade que apesar da disponibilidade de vários antimicrobianos para tratamento da mastite, o problema de resistência a estes se acentuou pelo uso indiscriminado e inadequado, particularmente no Brasil (Costa *et al.*, 1996). A evolução e disseminação de microrganismos resistentes a antimicrobianos é o resultado da pressão seletiva imposta pelo homem, seja pela prescrição desnecessária dessas drogas ou pelo uso incorreto em tratamentos sem diagnóstico estabelecido, auto-medicação, desperdício de restos de antimicrobianos no meio ambiente e emprego desses fármacos como fatores de crescimento em produção animal (Tavares, 2000).

De acordo com Smith (1974), é possível que os resíduos de antimicrobianos possam ser veiculados a pessoas que os consumam, produzindo efeitos de toxicidade ou reações

alérgicas em indivíduos previamente sensibilizados, além de favorecer o crescimento de bactérias resistentes.

A eficácia clínica de um antimicrobiano é de quantificação muito difícil, porque há grandes variações na resposta individual e do rebanho, por causa do tipo de microrganismo envolvido, localização dos sítios infectados, grau de endurecimento da glândula mamária, duração da infecção e outros fatores indefinidos. Outro tratamento são as metas da antibioticoterapia que atua como prevenção da mortalidade nos casos hiperagudos, o retorno da composição e produção normal de leite, a eliminação das fontes de microrganismos invasores. Os produtos usados em vacas lactantes são geralmente projetados para a rápida eliminação e para a redução das restrições de suspensão do uso do leite (Smith, 1994).

Há uma diversidade de gastos ocasionados pela mastite, para possível mensuração dos prejuízos, deve-se também analisar os gastos na propriedade como custos indiretos com instalações próprias para animais em terapêutica e mão-de-obra treinada Fetrow, *et al.* (2000), e variáveis como média frequente durante o ano de mastite clínica, contagem de células somáticas, produção diária, escala de produção e descarte porcentual de leite mastítico por ano (Demeu, 2009).

A mastite pode ser um problema de Saúde Pública e um problema tecnológico em toda a cadeia leiteira, uma vez que os resíduos dos medicamentos tem um efeito inibidor no desenvolvimento de fermentos lácteos utilizados na fabricação de laticínios (Berthelot e Bergonier, 1994).

Diante da importância dessa enfermidade nos animais de produção de leite, das dificuldades de controle devido à diversidade etiológica e a resistência dos microrganismos frente a diversos agentes quimioterápicos e a possibilidade de problemas de Saúde Pública, esta pesquisa tem a finalidade de isolar os agentes microbianos causadores de mastite clínica e subclínica na microrregião de Araguaína e verificar a sensibilidade dos microrganismos isolados frente a diversos agentes quimioterápicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização das propriedades - Foram utilizadas 148 vacas mestiças perfazendo 544 quartos mamários funcionais oriundos de cinco propriedades leiteiras da microrregião de Araguaína, denominadas por A, B, C, D e E. Na propriedade A continha 92 animais totalizando 331 quartos mamários funcionais, na B tinham 17 animais com 62 quartos

funcionais, na C cinco animais com 20 quartos funcionais, na D 19 animais e 74 quartos funcionais e na E 15 animais com 57 quartos viáveis. Nas propriedades de A a C era realizada ordenha mecânica e na D e E, ordenha manual.

Após a ordenha os bezerros das propriedades A e D eram trazidos para as mães para mamarem o leite residual, na propriedade E os bezerros são colocados com as vacas para mamarem momentos antes da ordenha e nas propriedades B e C onde os bezerros eram apartados das progenitoras após a ingestão do colostro.

Quanto ao manejo sanitário eram realizadas apenas as vacinas de febre aftosa e brucelose, que são compulsórias. Apenas nas propriedades A, B e C eram realizados pré e pós-dipping no momento da ordenha, nas demais não era realizado nenhum dos procedimentos. Apenas nas propriedades A, B e C era realizado o teste da caneca e apenas nas propriedades B e C haviam anotações da produção de leite dos animais. Em todas as propriedades os animais eram criados em sistema extensivo, em pasto com brachiara e no momento da ordenha era fornecido concentrado.

Obtenção das amostras – Das cinco propriedades utilizadas, foram avaliados 544 quartos mamários funcionais, sendo obtidas 294 amostras de leite: 121 da propriedade A, 36 da B, 20 da C, 74 da D e 43 da E.

Em todas as propriedades a colheita do leite ocorreu no momento da ordenha. Tentou-se interferir o mínimo possível na rotina das propriedades, e para isso, esperava os ordenadores manejar os animais como de costume e momentos antes da ordenha de cada animal realizava-se o teste da caneca telada, para detecção da mastite clínica, e em seguida realizava-se o “*California Mastitis Test*” (CMT), para detecção da mastite subclínica. Após a detecção ou não da mastite, foi feita a higienização do teto com algodão embebido de álcool 70% e procedeu-se com a colheita de 10 mL de leite de amostras aleatórias tanto positivas quanto negativas aos testes, de forma asséptica em tubos falcon devidamente identificados e armazenados em grades dentro de caixa isotérmica contendo gelo reciclável.

As amostras foram processadas no Laboratório de Higiene e Saúde Pública da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, TO.

Isolamento e caracterização dos microrganismos - Foram semeados 0,025mL de cada amostra colhida em metade de placa de petri (10 cm) com ágar sangue (sangue desfibrinado de carneiro) e ágar MacConkey e paralelamente foram semeados 1 mL de cada amostra em

9mL de caldo tioglicolato, posteriormente as placas e os tubos foram incubadas a temperatura de 37°C por um período de 24 a 48 horas (Quinn *et al.*, 2005; Trabulsi *et al.*, 2008). Após o período de incubação foram feitas as observações macroscópicas de todas as colônias obtidas nas placas e padrão de hemólise. Na ausência de colônia nas placas, foi observado crescimento no caldo tioglicolato; quando positivo, repicava-se 0,025mL em ágar sangue e ágar MacConkey, com os mesmos procedimentos descritos acima quanto à temperatura, tempo de incubação e observação; e na ausência de crescimento a amostra era considerada negativa.

Em seguida foi feito repique em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI). Os tubos foram incubados em estufa a temperatura de 37°C por 18 a 24 horas. Após crescimento, as amostras foram repicadas em ágar base e após período de incubação, como descrito anteriormente, foi realizado o teste da catalase e feita lâmina de cada amostra de colônia pura obtida, onde as mesmas foram coradas pela técnica de Gram para observação microscópica das características morfotintoriais (Quinn *et al.*, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A propriedade A continha 92 animais (331 quartos mamários viáveis), desses, 110 quartos foram positivos para mastite, sendo colhidas 121 amostras no total entre positivas e negativas, a propriedade B com 17 animais (62 quartos mamários viáveis), apresentou 21 quartos mamários com mastite e foram colhidas 36 amostras, e a propriedade C com cinco animais (20 quartos mamários viáveis), todos os quartos apresentaram mastite sendo colhidas 20 amostras no total, a propriedade D com 19 (74 quartos mamários viáveis) animais, apenas dois quartos apresentaram mastite e foram colhidas 74 amostras de leite no total, a propriedade E com 15 animais (57 quartos mamários viáveis), destes, 13 quartos estavam com mastite e foram colhidas 43 amostras. A prevalência da mastite da microrregião foi de 30,51 % (166/544), sendo de 4,78 % (26/544) para a mastite clínica e 25,74 % (140/544) para a mastite subclínica. Referente ao tipo de ordenha, a prevalência de mastite clínica foi de 6,3% (26/413) na ordenha mecânica (propriedades de A a C) e 0% (0/131) na ordenha manual (propriedades D e E). Na mastite subclínica, a prevalência foi de 30,27% (125/413) na ordenha mecânica e 11,45% (15/131) na ordenha manual. A prevalência por propriedade foi de 33,23% (110/331), 33,87% (21/62), 100% (20/20), 2,7% (2/74) e 22,81% (13/57) para as propriedades de A a E, respectivamente.

Das 121 amostras colhidas dos animais oriundos da propriedade A quatro apresentaram mastite clínica, 106 subclínica e 11 negativas; das 36 amostras advindas da propriedade B duas apresentaram positividade para mastite clínica, 19 para mastite subclínica e 15 foram negativas, para a propriedade C foram colhidas 20 amostras sendo todas provenientes de quartos mamários com mastite clínica, na D, das 74 amostras 2 foram obtidas de quartos mamários com mastite subclínica e 72 negativas, e na E, das 43 amostras colhidas 12 apresentaram positividade para mastite subclínica e 31 foram não reagentes aos testes. No total foram colhidas 294 amostras de leite, destas, 26 positivas para mastite clínica, 139 para mastite subclínica e 129 negativas (Tabela 1).

Tabela 1: Amostras de leite de vaca colhidas em cinco propriedades da microrregião de Araguaína, Tocantins

Table 1: Samples of cow's milk collected in five properties of the small region Araguaína, Tocantins.

Propriedade	Mastite clínica	Mastite subclínica	Negativo	Total/Propriedade
A	4	106	11	121
B	2	19	14	36
C	20	0	0	20
Subtotal	26	125	25	177
D	0	2	72	74
E	0	13	30	43
Subtotal	0	15	103	117
Total	26	140	128	294

Estima-se que no rebanho brasileiro a prevalência desta enfermidade esteja entre 20 e 38% (Reis *et al.*, 2005). Na presente pesquisa a prevalência encontrada foi de 30,51% o que corrobora os dados apresentados. A propriedade D apresentou bons resultados. Não houve casos de mastite clínica e apenas dois casos de mastite subclínica em 74 quartos mamários funcionais. Segundo Philpot e Nickersin (1991) para cada caso clínico de mastite devem existir entre 15 e 40 casos subclínicos. Se analisarmos os dados obtidos por propriedade, na A, houve 26 vezes mais casos de mastite subclínica do que a clínica, o que corrobora com a afirmação dos pesquisadores supracitados, nas demais propriedades a proporção foi menor, porém apresentando mais casos de mastite subclínica em relação à clínica, exceto na propriedade C onde todos os quartos dos animais apresentaram mastite clínica.

Combellas e Tesorero (2003) citam como vantagens da ordenha com bezerro a maior produção de leite, um melhor desempenho dos bezerros, e uma menor incidência de mastite. No presente trabalho, nas propriedades B e C os bezerros ficavam com as progenitoras apenas no

período de colostro, sendo depois separados, na propriedade D os bezerros são colocados com as vacas no momento da ordenha, fazendo com que mamem antes da ordenha apenas para estimular a descida do leite e após a ordenha os bezerros permanecem um tempo com as vacas para consumo do leite residual. Nas demais propriedades (A e E) os bezerros são trazidos às vacas somente após a ordenha para consumo do leite residual. Foi observado que os animais da propriedade D a ocorrência da mastite é bem menor em relação às demais e as propriedades B e C onde os bezerros não tem acesso as progenitoras a mastite apresentou maior ocorrência, corroborando com a afirmação de Combellas e Tesorero (2003). Esse fato pode ser explicado, pois quando o bezerro tem acesso as mães, estes bebem o leite residual, com isso cessa o substrato para o desenvolvimento dos microrganismos diminuindo as ocorrências de mastite.

Em relação à incidência de mastite, na presente pesquisa foi encontrada maior prevalência de mastite nas propriedades com ordenha mecânica (36,56% - 151/413) que nas de ordenha manual (11,54% - 15/131). Esses dados corroboram com os encontrados por Barbosa *et al.* (1995). O que colabora com essa maior incidência é a presença de leite residual no quarto mamário falta do bezerro nas propriedades B e C após a ordenha, problemas quanto ao correto funcionamento da ordenhadeira, alguns autores verificaram que a ordenha mecânica pode causar transtornos á saúde da glândula mamária, como a pressão aumentada no sistema de ordenha causando maior dilatação do óstio do teto (Costa *et al.*, 1996), as máquinas causam aumento na espessura da teta e do óstio externo e podem provocar perda da queratina favorecendo a colonização bacteriana (Zecooni *et al.*, 1992)

Observações macroscópicas

Foram notados cinco tipos de padrão de colônia: 1. colônia pequena e de cor branca porcelana; 2. pequena e de coloração amarela; 3. média e de coloração branca porcelana; 4. média e de coloração amarela; e 5. crescimento em onda, irregular e com coloração branca. Todos os padrões apresentaram colônias diversificadas em relação a hemólise, podendo ser parcial, total ou sem hemólise.

Em relação às amostras colhidas que formaram unidade formadora de colônias, foram obtidos os seguintes resultados por propriedade: A, das 110 positivas, 83 formaram colônias e 27 não, das negativas foram 4 formaram e 7 não formaram colônias; B, das 21 amostras positivas 13 formaram colônias e 8 não apresentaram, e das 15 negativas 5 apresentaram e 10 não apresentaram colônia; para a propriedade C, das 20 amostras positivas, todas formaram colônias, as amostras da propriedade D, das 2 positivas, houve uma que formou colônia e a

outra não, e das 72 negativas, 49 formaram colônias e 23 não; E, das 13 amostras positivas, 8 formaram colônias e 5 não, e das 30 negativas, 11 formaram e 19 não formaram colônias; (Tabela 02).

Tabela 2: Relação entre amostras colhidas positivas e negativas para a mastite no teste da caneca e CMT e unidade formadora de colônia (UFC)

Table 2: Relationship between samples positive and negative for mastitis in mug test and CMT and colony forming unit (CFU)

Propriedade	Mastite e UFC	Mastite sem UFC	Negativa e UFC	Negativa sem UFC
A	83	27	4	7
B	13	8	5	10
C	20	0	0	0
Subtotal	92	33	64	49
D	1	1	49	23
E	8	5	11	19
Subtotal	33	8	5	10
Total	125	41	69	59

Observações microscópicas, características hemolíticas e teste da catalase

Após as observações macroscópicas das colônias, as mesmas foram analisadas microscopicamente por meio de confecção de lâmina, coloração de Gram e prova da catalase, e em ágar sangue avaliou-se também características hemolíticas. Para avaliação, as amostras foram separadas pela forma apresentada: cocos ou bacilos. Para as colônias cuja forma encontrada foi a de coco, todos os microrganismos isolados apresentaram-se em pequenos grumos, caracterizando o arranjo de estafilococo. Quanto à coloração apresentaram-se Gram-positivos, e em relação à catalase apenas duas colônias apresentaram catalase negativa, sendo as demais positivas para este teste. Quanto à hemólise, 17 colônias apresentaram hemólise total para amostras das propriedades A, 1 para a B e D, 16 para a C e 3 para a E. Quanto à hemólise parcial foi de 23, 2, 3, 6 e 1 amostras para as propriedades de A a E, respectivamente; e sem hemólise foram 43, 11, 1, 9 e 46, amostras para as propriedades de A a E, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3: Características microscópicas quanto ao arranjo, coloração de Gram, catalase e padrão de hemólise, de amostras de leite bovino oriundos de propriedades da microrregião de Araguaína – TO, cuja forma apresentada pelos microrganismos foi coco.

Table 3: Microscopic features about the arrangement, Gram stain, catalase and standard of hemolysis, samples of cow's milk from farms of small region Araguaína - TO, whose form was presented by microorganisms coconut.

Propriedade	Arranjo		Gram		Catalase		Hemólise		
	Estreptococo	Estafilococo	+	-	+				
					-	Total	Parcial	Sem	
A	0	83	83	0	83	0	17	23	43
B	0	14	14	0	14	0	1	2	11
C	0	20	20	0	20	0	16	3	1
D	0	16	16	0	16	0	1	6	9
E	0	50	50	0	50	0	3	1	46

* + significa amostras positivas; # significa amostras negativas

* + Means positive samples; # Means negative samples

As colônias cujas formas apresentadas foram bacilo, apresentaram tanto arranjo de estreptobacilo como apareceram na forma isolada. Não foram encontrados microrganismos na forma de bastonete nas amostras oriundas da propriedade C. Quanto às características, a quantidade de amostras que apresentaram a forma de estreptobacilo foram 11 para amostras da propriedade A, 5 para a B, 3 para a D e 10 para a E; as que se apresentaram em bastonete isolado foram 4 para amostras da propriedade A, 0 para a B, 1 para a D e 7 para a E. Quanto a coloração de Gram, 13 amostras da propriedade A foram Gram-positivas, 3 para as propriedades B e D e 9 da E; Gram-negativas foram obtidas 2 para as propriedades A e B e nenhuma para D e E. Para catalase foram positivas 8 para amostras da propriedade A, 4 para a B, 3 para a D e 6 para a E, e 7, 1, 0, 3 negativas para as propriedades A, B, D e E, respectivamente. Quanto ao padrão de hemólise, apresentaram hemólise total 7 (A), 3 (B), 1 (D) e 6 (E), hemólise parcial apenas duas amostras da propriedade A, 0 para as propriedades B e D e 1 para a E, e sem hemólise 4, 1, 3 e 10, respectivamente para as propriedades de A, B, D e E respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4: Características microscópicas quanto ao arranjo, coloração de Gram, catalase e padrão de hemólise, de amostras de leite bovino oriundos de propriedades da microrregião de Araguaína – TO, cuja forma apresentada pelos microrganismos foi bastonete

Table 4: Microscopic characteristics as the arrangement, Gram stain, catalase and standard of hemolysis, samples of cow's milk from farms of small region Araguaína - TO, whose form was presented by microorganisms rod.

Propriedade	Arranjo		Gram		Catalase		Hemólise		
	Estreptobacilo	Bacilo isolado	+	-	+	-	Total	Parcial	Sem
A	11	4	13	2	8	7	7	2	4
B	5	0	3	2	4	1	3	0	1
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D	3	1	3	0	3	0	1	0	3
E	10	7	9	0	6	3	6	1	10

* + significa amostras positivas; # significa amostras negativas

* + Means positive samples; # Means negative samples

Estudos indicam que o *S. aureus* é o microrganismo mais prevalente em casos de mastite, seguido pelo *Streptococcus* spp (Ferreiro *et al.*, 1981; Riedner *et al.*, 1987). Outros autores além dos microrganismos citados inclui a presença do microrganismo *Corynebacterium* spp como agentes causadores de mastite contagiosa (Baldassi *et al.* 1991; Costa *et al.* 1995; Langoni *et al.* 1998) e em casos de mastite ambiental os que apresentam maior prevalência são a *E. coli*, a *Klebsiella pneumoniae*, o *Enterobacter aerogenes*, entre outros (Smith *et al.*, 1985).

No Paraná, pesquisa realizada em 332 amostras de leite de vaca primíparas apresentou prevalência de 11,74% para o *Staphylococcus* coagulase negativa, 1,2% para *Staphylococcus* coagulase positiva, 1,65% para o gênero *Streptococcus*, 0,75% para *Acitnomyces pyogenes* (Pardo *et al.*, 1998).

Pesquisa realizada em 274 amostras de leite bovino oriundas de propriedades localizadas na microrregião de Cuiabá apresentaram como microrganismos mais evidentes os gêneros *Corynebacterium* (27,6%), seguido por *Staphylococcus* (21,5%), *Micrococcus* sp. (1,08%) e em quarto lugar o *Streptococcus* (0.36%) (Martins *et al.*, 2010). Este estudo corrobora com os resultados da presente pesquisa, pois em 294 amostras, nenhuma foi sugestiva para o *Streptococcus* spp., sendo sugestivo de maior prevalência para *Staphylococcus* sp. e microrganismos bastonetes.

Das 294 amostras analisadas neste experimento, nenhuma apresentou características condizentes, quanto ao arranjo e teste da catalase, com o gênero *Streptococcus*, mostrando que na região estudada este microrganismo tem menos relevância comparada as demais

localidades estudadas. Sendo assim, as amostras foram armazenadas em tubo contendo meio nutriente para posterior análise referente a classificação dos gêneros sugestivos com as características encontradas: *Staphylococcus* spp, *Enterobacteriaceae* e *Bacillus* spp

Com a presente pesquisa foi possível concluir que a prevalência está dentro dos parâmetros esperados e que o gênero *Streptococcus* não é expressivo na prevalência da mastite tanto clínica quanto subclínica em vacas da microrregião de Araguaína, Tocantins.

REFERÊNCIAS

- BALDASSI, L.; FILHO, M.F.; HIPÓLITO, M.; MOLIN, A.A.P.; CALIL, E.M.B.; PIRES, D.C. 1991. *Etiologia da mastite subclínica na Bacia Leiteira de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo*. Arquivo Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo. **58**: 29-36.
- BARBOSA, C.P.; BENEDETTI E.; GUIMARÃES, E.C. 2009. *Incidência de mastite em vacas submetidas a diferentes tipos de ordenha em fazendas leiteiras na região do triângulo mineiro*. Bioscience Journal, Uberlândia. **25**(6): 121-128.
- BLOOD, D.C., RADOSTITS, O.M. 1991. *Clínica Veterinária*, 7ª Ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. cap. 15: 424-463.
- BRAMLEY, A.J., COLLOR, J.S., ERSKINE, R.J. 1996. *Current concepts of bovine mastitis*. Madison: National Mastitis Council, 4ª Ed., 64p.
- COMBELLAS, J.; TESORERO, M.; GABALDÓN, L. 2003. *Effect of calf stimulation during milking on milk yield and fat content of Bos indicus X Bos taurus cows*. Livestock Production Science, Amsterdam. **79**:227-232.
- COSER, S.M.; LOPES, M.A.; COSTA, G.M. 2012. *Mastite bovina: controle e prevenção*. Boletim Técnico. Lavras. (93):1-30.
- COSTA E.O.; BENITES, N.R.; MELVILLE, P.A.; PARDO, R.B.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. 1995. *Estudo etiológico da mastite clínica bovina*. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Belo Horizonte. **17**:156-158.
- COSTA, E. O.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T. et al. 1996. *An increased incidence of mastitis caused by Prototeca species and Nocardia species on a farm in São Paulo, Brazil*. Veterinary Research Communications, Amsterdam. **20**(3):237-241.
- DEMEU, F. A. 2009. *Simulação do impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros*. Lavras, MG. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Lavras. 177p.
- FERREIRO, L. 1981. *Ocorrência e etiologia da mastite bovina na “Zona da Mata” do estado de Minas Gerais*. Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. **33**(1): 31-37.
- FETROW, J.; STEWART, S.; EICKER, S.; FAMSWORTH, R.; BEY, R. 2000. *Mastitis: an economic consideration*. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. p.3-47.
- JUNQUEIRA, F.J. 2004. *Comparação zootécnica e econômica da ordenha de vacas F1 Holandês x Gir na presença ou ausência de suas crias*. Belo Horizonte, MG. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 45 f.
- LANGONI, H. 1999. *Complexidade etiológica na mastite bovina* In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, III. Botucatu, SP. Anais... Botucatu. 3-18.
- LANGONI, H.; da SILVA, A.V.; CABRAL, K.G.; DOMINGUES, P.F. 1998. *Aspectos etiológicos da flora bacteriana aeróbica*. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Belo Horizonte. **20**:204-209.

- MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. G., NAKAZATO, L.; DUTRA, V. e ALMEIDA FILHO, E. S. 2010. *Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT*. Ciência Animal Brasileira, Goiânia. **11**(1):181-187.
- PARDO, P. E.; METTIFOGO, E.; MÜLLER, E. E.; NASCIMENTO, E. R.; BUZINHANI, M.; YAMAGUTI, M. e FREITAS, J. C. 1998. *Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas no período pós-parto*. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro. **18**(3-4):1027-1032.
- PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. 1991. *Mastitis: counter attack*. Louisiana Agricultural Experiment station: Babson Bros.Co. Cap.01, p. 3-7.
- QUINN, P.J., MARKEY, B.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, E.C. 2005. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*, São Paulo: Artmed, p. 512.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. 2007. *Veterinary medicine. A textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10ª ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. p.2156.
- REIS, G. L. et al. 2005. *Efeito do tipo de ordenha sobre a saúde do úbere e a qualidade do leite*. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte. **48**:6-13.
- RIEDNER, S., ALBUQUERQUE, A.J.D., BADKE, M.R.T.; WEIBLEN, R. 1987. *Prevalência de mastite em dois tambos de Santa Maria – RS*. Revista Centenário de Ciência Rural, Santa Maria. **17**(3): 261-273.
- SMITH, H.W. 1974. *Antibiotic-resistant bactéria in animal: the danger to human helth*. Brazilian Veterenary Journal, **130**:110-119.
- SMITH, H.K.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. 1985. *Enviromental mastitis: cause, prevalence, prevention*. Journal of Dairy Science, Champaign. **68**:1531-53.
- SMITH, B. 1994. *Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais*, V.2, São Paulo: Manole, p. 1045-1056.
- TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, L. 2008. *Microbiologia*. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 760 p.
- UGARTE, J.; PRESTON, T.R. 1975. *Amamantamiento restringido. VI. Efectos sobre la producción de leche, comportamiento reproductivo e incidencia de mastites clínica a través de la lactancia*. Revista Cubana de Ciencias Agrícolas, San Jose de Las Lajas. **9**(1):17-28.
- VIANNI, M.C.E.; & LÁZARO, N.S. 2003. *Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativo, isolados de mastite subclínica bubalina*. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro. **23**(2):47-51.
- WATTS, J.L. 1988. *Etiological agents of bovine mastitis*. Veterinary Microbiology, Amsterdam. **16**:41-66.
- ZECCONI, A.; HAMANN, J.; BRONZO, V. et al. 1992. *Machine-induced test tissue reactions and infection risk in a dairy herd free from contagious mastitis pathogens*. Journal of Dairy Research, Cambridge. **59**(3):265-271.

Bruna Alexandrino

Graduação em Medicina Veterinária (2004) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Jaboticabal. Mestrado (2008) e Doutorado (2012) em Medicina Veterinária Preventiva pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Jaboticabal. Atualmente trabalha como professora efetiva na Universidade Federal do Tocantins nas disciplinas de microbiologia geral e especial.

E-mail: bralexandrino@uft.edu.br

Endereço: Universidade Federal do Tocantins - Centro de Ciência Animal (EMVZ) - BR-153, Km 112, s/n - Caixa Postal 132 – CEP: 77-804-970

Crispim Anderson Rodrigues Correia

Graduando em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína.

E-mail: crispim_icmto@gmail.com

Endereço: Universidade Federal do Tocantins - Centro de Ciência Animal (EMVZ) - BR-153, Km 112, s/n - Caixa Postal 132 – CEP: 77-804-970

Letícia Coelho Miranda Brito

Graduando em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína

E-mail: leticamedvet@outlook.com

Endereço: Universidade Federal do Tocantins - Centro de Ciência Animal (EMVZ) - BR-153, Km 112, s/n - Caixa Postal 132 – CEP: 77-804-970

Silvia Minharro Barbosa

Graduação em Medicina Veterinária pela Universidade do Tocantins (1997), mestrado em Sanidade Animal pela Universidade Federal de Goiás (2000) e doutorado em Ciência animal pela Universidade Federal de Minas Gerais (2009). Atualmente é professora da Universidade Federal do Tocantins.

E-mail: silviaminharro@gmail.com

Endereço: Universidade Federal do Tocantins - Centro de Ciência Animal (EMVZ) - BR-153, Km 112, s/n - Caixa Postal 132 – CEP: 77-804-970