

## **Prevalência e etiologia da mastite bovina em propriedades rurais da região Noroeste Paulista**

### **Study of prevalence and etiology of subclinical bovine mastitis on farms in the Northwest region of São Paulo**

DOI:10.34117/bjdv7n2-525

Recebimento dos originais: 24/01/2021

Aceitação para publicação: 24/02/2021

#### **Michel dos Santos Pinto**

Discente do curso de Medicina Veterinária  
Universidade Brasil, Fernandópolis, SP  
Estrada Projetada F1, Fazenda Santa Rita, Fernandópolis, São Paulo

#### **João Vitor Stefanin Fuzatti**

Discente do curso de Medicina Veterinária  
Universidade Brasil, Fernandópolis, SP  
Estrada Projetada F1, Fazenda Santa Rita, Fernandópolis, São Paulo

#### **Richer Costa Camargo**

Discente do curso de Medicina Veterinária  
Universidade Brasil, Fernandópolis, SP  
Estrada Projetada F1, Fazenda Santa Rita, Fernandópolis, São Paulo

#### **Richarlla Aparecida Buscariol Silva**

Discente do curso de Medicina Veterinária  
Universidade Brasil, Fernandópolis, SP  
Estrada Projetada F1, Fazenda Santa Rita, Fernandópolis, São Paulo

#### **Murilo da Silva Garcia**

Discente do curso de Medicina Veterinária  
Universidade Brasil, Fernandópolis, SP  
Estrada Projetada F1, Fazenda Santa Rita, Fernandópolis, São Paulo

#### **Danila Fernanda Rodrigues Frias**

Docente do Programa de Mestrado em Ciências Ambientais  
Universidade Brasil, Fernandópolis, SP  
Estrada Projetada F1, Fazenda Santa Rita, Fernandópolis, São Paulo

#### **RESUMO**

**Introdução:** A mastite é uma das principais doenças de bovinos leiteiros, e promove sérios prejuízos aos produtores e a indústria, além de oferecer riscos à saúde pública. **Objetivo:** Avaliar a prevalência e a etiologia da mastite bovina em rebanhos leiteiros da região Noroeste Paulista. **Metodologia:** Participaram do estudo dez propriedades que possuíam um total de 239 vacas em lactação. Os animais foram avaliados por meio da realização do teste CMT (“California Mastitis Test”) para detecção de mastite subclínica. Dos animais positivos, foram colhidas amostras de leite após antissepsia dos tetos seguido por descarte dos primeiros jatos. As amostras foram depositadas em frascos estéreis, e

encaminhadas ao laboratório em caixas isotérmicas para realização de cultura, isolamento e identificação do patógeno. Em todas as cepas de patógenos Gram positivos foi realizado teste de susceptibilidade antimicrobiana *in vitro*. Resultados: Apresentaram positividade para mastite subclínica 30,5% das vacas avaliadas, destacando-se como agentes *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp, e *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus*, apresentou maior resistência frente a Penicilina G e Ampicilina, enquanto *Streptococcus* spp. apresentou-se resistente a Clindamicina e Tetraciclina. Os dois microrganismos apresentaram elevado índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA). Conclusão: Destacou-se como patógenos promotores de mastite subclínica bovina *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp, e *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* spp apresentaram elevado índice de multirresistência a antimicrobianos, o que pode indicar uso indiscriminado de antibióticos para tratamento de animais com mastite.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos, Multirresistência, Saúde Pública

### ABSTRACT

**Introduction:** Mastitis is one of the main diseases affecting dairy cattle, causing serious damage to producers and the industry, in addition to posing risks to public health. **Objective:** To evaluate the prevalence and etiology of bovine mastitis in dairy herds in the northwest region of São Paulo. **Methodology:** Ten farms, with a total of 239 lactating cows, participated in the study. The animals were evaluated by performing the CMT (California Mastitis Test) for detection of subclinical mastitis. In the positive animals, milk samples were collected after antisepsis of the teats followed by discard of the first jets. The samples were deposited in sterile flasks and sent to the laboratory in cool boxes for culture, isolation and identification of the pathogen. All strains of Gram-positive pathogens were subjected to an *in vitro* antimicrobial susceptibility test. **Results:** Of the evaluated cows, 30.5% were positive for subclinical mastitis, with a predominance of the *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp and *Escherichia coli* agents. *Staphylococcus aureus* exhibited greater resistance to penicillin G and ampicillin, whereas *Streptococcus* spp. was resistant to clindamycin and tetracycline. Both microorganisms showed a high rate of antimicrobial multidrug resistance. **Conclusion:** *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp, and *Escherichia coli* stood out as pathogens promoting bovine subclinical mastitis. *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* spp showed a high rate of antimicrobial multidrug resistance, which may indicate indiscriminate use of antibiotics to treat animals with mastitis.

**Keyword:** Antimicrobials, Multidrug Resistance, Public Health

## 1 INTRODUÇÃO

A mastite é uma das principais doenças de bovinos leiteiros, que causa sérios prejuízos aos produtores e a indústria, além de oferecer riscos elevados à saúde pública. No Brasil é um importante problema para a pecuária leiteira, uma vez que este tipo de exploração se intensifica no mercado agropecuário. São poucos os levantamentos

sistemáticos existentes sobre a mastite bovina no Brasil, o que não permite avaliar a sua ampla disseminação (BUENO et al., 2002; COSTA et al., 2008).

A doença se caracteriza por ser um processo inflamatório da glândula mamária se manifestando com sintomas inflamatórios nos tetos, alterações no leite e queda de produção. Em relação a etiologia, é considerada de caráter complexo e multifatorial, pois envolve patógenos, ambientes e fatores inerentes aos animais (VLIEGHER; OHNSTAD; PIEPERS, 2018; MASSOTE et al., 2019; LOPES et al., 2020).

A doença pode ser classificada em mastite clínica (MC) e mastite subclínica (MS). Na MC têm-se a presença de sintomas inflamatórios no úbere, enquanto na MS temos a ausência dos mesmos (ASHRAF; IMRAN, 2020). A forma subclínica é a chamada forma silenciosa, ou seja, as alterações macroscópicas na inspeção do úbere ou de sua secreção não são percebidas, sendo assim, de maior importância epidemiológica (COSTA et al., 2008).

A mastite bovina, de acordo com a sua epidemiologia, pode ser dividida em mastite contagiosa e ambiental. Na mastite contagiosa, o agente infeccioso está localizado no próprio animal, por isso pode ser transmitida por contato direto. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma* sp. e *Streptococcus dysgalactiae* são os principais agentes infecciosos causadores deste tipo de mastite. Já a mastite ambiental é causada com mais frequência por bactérias gram negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp. e *Proteus* sp., e caracteriza-se pelo fato do ambiente ser o reservatório desses agentes (PEDRINI; MARGATHO, 2003).

Embora medidas preventivas que visam o controle da mastite sejam amplamente praticadas, a ocorrência da enfermidade ainda é bastante comum e a antibioticoterapia é o método mais comum de tratamento, o que torna esta enfermidade a principal fonte de uso de antibióticos em rebanhos leiteiros (SANKAR, 2016). Desta forma, o objetivo nesta pesquisa foi avaliar a prevalência e a etiologia da mastite subclínica bovina em rebanhos leiteiros da região Noroeste Paulista.

## 2 MÉTODOS

O projeto de pesquisa que deu origem a esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais – CEUA/Universidade Brasil, sob protocolo nº IC18-19/004.

Participaram da pesquisa 10 propriedades rurais produtoras de leite., perfazendo 239 vacas em lactação. Os animais foram submetidos a realização do teste CMT (“California Mastitis Test”), de todos os quartos mamários, para verificar a presença de mastite subclínica.

Após a identificação dos animais positivos, as amostras de leite foram colhidas após antissepsia dos tetos seguida por descarte dos primeiros jatos. O material foi adicionado diretamente em frascos estéreis, identificados, colocados em caixas isotérmicas e encaminhados imediatamente ao laboratório.

As amostras (100µl) foram semeadas em Placas de Petri contendo Ágar sangue e Ágar MacConkey. Em seguida as placas foram incubadas a 36°C e a leitura realizadas após 24, 48 e 72 horas de incubação.

Os microrganismos isolados foram avaliados por meio do método de coloração de Gram e, posteriormente, submetidos às provas bioquímicas para identificação do agente. Os agentes foram identificados com base no Manual of Clinical Microbiology (JORGENSEN et al., 2015).

Após a identificação do agente, foi realizada a verificação da susceptibilidade antimicrobiana in vitro, por meio do método de Kirby Bauer Modificado (BAUER et al., 1966) nos patógenos gram positivos. As colônias isoladas foram inoculadas em Agar Muller Hinton e incubadas por 24h a 36°C. Os antimicrobianos testados compreenderam: ampicilina (10µg); azitromicina (15µg); ciprofloxacina (5µg); clindamicina (2µg); cloranfenicol (30µg); eritromicina (15µg); gentamicina (10µg); oxacilina (1µg); cefoxitina (30µg); linezolida (30µg); penicilina G (10µg); sulfazotrim (25µg); rifampicina (5µg); tetraciclina (30µg) e vancomicina (30µg). Os resultados foram interpretados por meio da medida do halo de inibição de crescimento de acordo com os parâmetros pré-estabelecidos do CLSI (CLSI, 2017).

O cálculo do índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA) foi realizado por meio da razão entre o número de antibióticos aos quais o isolado foi resistente e o número de antibióticos ao qual o isolado foi exposto. Quando o IRMA se apresenta superior a 0,2 caracteriza-se multirresistência.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as propriedades que participaram deste estudo, todas possuíam animais com mastite subclínica, apresentando prevalência de 30,5%. Damasceno; Silva; Santos (2020) detectaram em sua pesquisa prevalência de 25,93% de mastite subclínica, dados

semelhantes ao desta pesquisa. Além disso, outras pesquisas revelaram que a prevalência de mastite clínica e subclínica em rebanhos varia de 38 a 87,5% (SILVA et al., 2017; DAMASCENO; SILVA; SANTOS, 2020; OLIVEIRA et al., 2020).

A porcentagem de positividade dos rebanhos para mastite subclínica variou entre 6,2% a 45,4% (Tabela 1).

Tabela 1 - Prevalência de vacas com mastite subclínica em propriedades rurais da região Noroeste Paulista, 2019.

Propriedades	Vacas em Lactação	Vacas Positivas	Positividade %
1	26	8	30,8%
2	17	3	17,6%
3	28	10	35,7%
4	24	9	37,5%
5	21	7	33,3%
6	29	5	17,2%
7	8	3	37,5%
8	37	12	32,4%
9	33	15	45,4%
10	16	1	6,2%
<b>Total</b>	239	73	30,5%

Fonte: Autoria própria

Os resultados do isolamento microbiano revelaram a presença de agentes Gram positivos em 92,2% dos casos, e Gram negativos em 7,8%. Dentre os Gram positivos, 65% eram *Staphylococcus aureus*, 30% *Streptococcus* spp, e 5% *Staphylococcus* spp coagulase negativo. Todas as amostras de Gram negativas eram *Escherichia coli*.

Os dados encontrados nesta pesquisa corroboram com o estudo de Zimermann; Araujo (2017), Oliveira et al. (2010) e Damasceno; Silva; Santos (2020), que citaram como principais agentes promotores de mastite subclínica os microrganismos Gram positivos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* spp, seguido pelo Gram negativo, *Escherichia coli*.

O isolamento destes microrganismos é um fator preocupante, pois pode indicar ausência de boas práticas de higiene na ordenha, uma vez que são agentes comuns na etiologia da mastite contagiosa e ambiental (ZIMERMANN; ARAUJO, 2017).

Todas as amostras isoladas de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* spp. foram submetidas ao teste de susceptibilidade antimicrobiana. Os resultados estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2. Susceptibilidade antimicrobiana das amostras de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* spp isoladas de mastite subclínica, 2019.

Antibióticos	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus</i> spp	
	RI	SE	RI	SE
<b>Ampicilina</b>	71,4%	28,6%	-	-
<b>Azitromicina</b>	57,1%	42,9%	0	100%
<b>Ciprofloxacina</b>	42,9%	57,1%	-	-
<b>Clindamicina</b>	28,6%	71,4%	75%	25%
<b>Clorafenicol</b>	14,3%	85,7%	0	100%
<b>Eritromicina</b>	57,1%	42,9%	0	100%
<b>Gentamicina</b>	0	100%	-	-
<b>Cefoxitina</b>	0	100%	-	-
<b>Linezolida</b>	0	100%	0	100%
<b>Penicilina G</b>	85,7%	14,3%	-	-
<b>Rifampicina</b>	0	100%	-	-
<b>Sulfazotrim</b>	28,6%	71,4%	-	-
<b>Tetraciclina</b>	28,6%	71,4%	50%	50%
<b>Vancomicina</b>	-	-	25%	75%

RI – resistente ou intermediário; SE – sensível

Fonte: Autoria própria

*Staphylococcus aureus*, apresentou maior resistência frente a Penicilina G, Ampicilina, Azitromicina e Eritromicina respectivamente.

Kaiser et al. (2015) citaram em sua pesquisa elevada resistência de *Staphylococcus aureus* à penicilina, eritromicina e ampicilina, corroborando com os dados encontrados no presente estudo. Outras pesquisas também reforçaram a elevada resistência de *Staphylococcus aureus* à penicilina (DORNELES et al., 2019; BENNANI et al., 2020). Este fato pode estar relacionado ao grande potencial de desenvolvimento de resistência a antibióticos que o microrganismo possui (KLEVENS et al., 2006).

Ao avaliar a susceptibilidade antimicrobiana de *Streptococcus* spp. notou-se sua resistência principalmente a Clindamicina e Tetraciclina. Pesquisa realizada por Silva (2015), demonstrou elevada resistência aos macrolídeos e as tetraciclinas por bactérias do gênero *Streptococcus*, resultados semelhantes aos desta pesquisa.

Com relação ao índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA), 85,7% das cepas de *Staphylococcus aureus* apresentaram multirresistência, assim como, 50% das amostras de *Streptococcus* spp. Pesquisas realizadas com estes microrganismos já demonstraram a ocorrência de multirresistência (CARVALHO et al., 2019; MESQUITA et al., 2019; SOUZA et al., 2020). Este achado desperta grande preocupação, pois a cada dia aumenta o número de patógenos multirresistentes, tornando-se um problema à terapia antimicrobiana e à saúde pública (NAZZARO et al., 2017).

#### 4 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que as bactérias que apresentaram maior prevalência em vacas com mastite subclínica foram *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp, e *Escherichia coli*.

*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* spp apresentaram elevado índice de multirresistência a antimicrobianos, o que pode indicar uso indiscriminado de antibióticos para tratamento de animais com mastite.

A elevada multirresistência é um sério problema de saúde pública, pois a maioria dos patógenos são comuns entre seres humanos e animais, e este fato pode promover falhas terapêuticas graves.

## REFERÊNCIAS

- ASHRAF, A.; IMRAN, M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. **Animal Health Research Reviews**, v. 20, p. 1-14, 2020.
- BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.
- BENNANI, H. et al. Overview of evidence of antimicrobial use and antimicrobial resistance in the food chain. **Antibiotics**, v. 9, n. 2, p. 49, 2020.
- BUENO, V. F. F. et al. Mastite bovina clínica e subclínica, na região de Pirassununga, SP: frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 47-52, 2002.
- CARVALHO, L.C.A. et al. Ocorrência de *Staphylococcus* spp. resistente à metilina em otite externa canina. **RBAC**, v. 51, n. 4, p. 342-347, 2019.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 27th ed. 2017.
- COSTA, G. M. et al. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1938-1942, 2008.
- DAMASCENO, V.S.; SILVA, F.M.; SANTOS, H.C.A.S. Análise do perfil microbiológico de agentes causadores de mastite bovina e sua relação com a qualidade do leite em uma fazenda do Sul de Minas Gerais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p.91409-91421, 2020.
- DORNELES, E. M. S. et al. Genetic diversity and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase negative *Staphylococcus* isolates from bovine mastitis in Minas Gerais, Brazil. **Microbiology Open**, v. 8, n. 5, p. 1-7, 2019.
- JORGENSEN, J.H.; CARROLL, K.C.; FUNKE, G. **Manual of Clinical Microbiology**. 11ed. ASM Press: Washington, 1389p, 2015.
- KAISER, T. S. et al. **Sensibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados em mastites bovinas na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul**. XXIII Seminário De Iniciação Científica, UNIJUI, 2015.
- KLEVENS, M. et al. *Staphylococcus aureus* resistente a metilina asociado a la comunidad y factores de riesgos para la salud. **Emerg Infect Dis**, v. 12, n. 12, p. 1991–1993, 2006.
- LOPES, T. S. et al. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. **Research in Veterinary Science**, Londres, v. 131, p. 186 – 193, 2020.

MASSOTE, V. P. et al. Diagnóstico e controle de mastite bovina: uma revisão de literatura. **Revista Agroveterinária do Sul de Minas**, Varginha, v. 1, n. 1, p. 41-54, 2019.

MESQUITA, A.A. et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in family-owned dairy herds in the state of Minas Gerais, **Brazil. Vet. Not.**, v. 25, n. 2, p. 186-205, 2019.

NAZZARO, F. et al. Essential oil sand antifungal activity. **Pharmaceuticals**, v. 10, n. 4, p. 86, 2017.

OLIVEIRA, P. V. C. et al. Avaliação da qualidade do leite cru e prevalência de mastite no município de Mossoró – RN. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.8, p. 64027-64042, 2020.

OLIVEIRA, U. V. et al. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Itabuna-Ilhéus, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 3, 2010.

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. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, n.4, p.391-395, 2003.

SANKAR, P. New therapeutic strategies to control and treatment of bovine mastitis. **Veterinary Medicine Open Journal**, v. 1, n. 2, p. 7-8, 2016.

SILVA, J. R. **Avaliação da virulência e susceptibilidade a antibióticos em *Streptococcus agalactiae* isolados de mastite bovina de rebanhos brasileiros**. 2015. 83f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

SIVA, A. C. et al. Prevalência de mastites em vacas leiteiras do município de Carlinda (MT), no ano de 2016. **PubVet**, v. 11, p. 761–766, 2017.

SOUZA, K.L.S. et al. Prevalência de bactérias multirresistentes na cavidade nasal de equinos assintomáticos para doenças respiratórias. **Revista UNIVAP**, v. 26, n. 52, p. 107-123, 2020.

VLIEGHER, S.; OHNSTAD, I.; PIEPERS, S. Management and prevention of mastitis: a multifactorial approach with a focus on milking, bedding and data-management. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 6, p. 1214-1233, 2018.

ZIMERMANN, K. F.; ARAUJO, M. E. M. Mastite bovina: agentes etiológicos e susceptibilidade a antimicrobianos. **Campo Digital**, v. 12, n. 1, 2017.