

RODOLPHO ALMEIDA REBOUÇAS

**MASTITE SUBCLÍNICA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*: IMPACTO
ECONÔMICO E NA SAÚDE PÚBLICA**

Garanhuns

2016

RODOLPHO ALMEIDA REBOUÇAS

**MASTITE SUBCLÍNICA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*: IMPACTO
ECONÔMICO E NA SAÚDE PÚBLICA**

Monografia apresentada ao Programa de Residência em
Área Profissional de Saúde - Sanidade de Ruminantes,
Clínica de Bovinos de Garanhuns/ Universidade
Federal Rural de Pernambuco.

Orientador: Msc. Nivan Antônio Alves da Silva

Garanhuns

2016

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE RESIDENCIA MULTIPROFISSIONAL
CLÍNICA DE BOVINOS, CAMPUS GARANHUNS

**PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE - MEDICINA VETERINÁRIA
SANIDADE DE RUMINANTES**

**MASTITE SUBCLÍNICA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*: IMPACTO
ECONÔMICO E NA SAÚDE PÚBLICA**

Monografia elaborada por

RODOLPHO ALMIEIDA REBOUÇAS

Aprovada em: ___/___/___

Banca Examinadora:

Msc. Nivan Antônio Alves da Silva – Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE
Orientador

Dr. Nivaldo de Azevedo Costa – Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE

Msc. Jobson Filipe de Paula Cajueiro – Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as coisas acontecerem quando realmente tem que acontecer.

À Clínica de Bovinos de Garanhuns, pela enorme oportunidade profissional, por ter sido minha casa durante esse período, por ter me tornado Médico Veterinário.

À Uila, pela companhia e pelo amor durante todo esse período, e pela sua perseverança, principal motivo para que a Residência se tornasse uma realidade.

Ao Dr. Nivan, pela orientação e pela forma amigável que me recebeu na chegada à Clínica e também durante esses dois anos.

A todo o corpo técnico, Dr. Nivaldo, Dr. José Augusto, Dra. Carla, Dra. Isabel e Dr. Teles, por toda a orientação e ensinamentos. Cada um foi importante ao seu modo. Gostaria de fazer um agradecimento especial ao Dr. Rodolfo e ao Dr. Jobson, não só por todo ensinamento passado, mas pela amizade e por sempre terem sido disponíveis nos momentos de dificuldades.

Aos meus amigos e companheiros de residência e da pós-graduação: José Ricardo, Elisabeth, Leonardo, Regina, Valesca, Vitor, Tatiane, Rafael, Jomel, Adony, Alexandre, Gliere, Priscila. Foi um prazer trabalhar, conviver e dividir todos esses momentos com vocês.

A todos os estagiários, pela ajuda e amizade, em especial aos meus amigos Pedro (Tio Chico) e Igor “*in memoriam*”.

Aos meus amigos e colaboradores da clínica que tanto nos ajudaram durante esse período: Sebastião Gago, Ciço, Júlio, Jucélio, Cilene, Elaine, Luciana, Timóteo, Kelvin, Mano, Antônio, Dona Selma, Rosi, Luciano, Dona Ivanilda, Davi e Ronaldo.

A todos vocês, meu muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1. Mastite subclínica.....	10
2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.1.2 Transmissão.....	13
2.1.3. Fatores de risco para mastite subclínica	14
2.1.4. Diagnóstico.....	16
2.1.5. Controle, prevenção e tratamento.....	19
2.1.6. Impacto econômico.....	22
2.2. Saúde pública.....	25
2.2.1. Intoxicação alimentar estafilocócica	25
2.2.2. <i>Staphylococcus metilina</i> resistente	29
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
REFERÊNCIAS	33
ANEXO	43

RESUMO

A mastite subclínica é uma enfermidade silenciosa sem alterações macroscópicas no leite ou no úbere, sendo considerada a doença que provoca os maiores prejuízos à pecuária leiteira. Os prejuízos causados pela mastite subclínica são expressivos, principalmente devido à redução na produção dos quartos, além disso há redução da qualidade do leite, interferindo nas características deste, importantes para a indústria de derivados lácteos. O *Staphylococcus aureus* é o principal agente causador desta enfermidade, sendo um importante patógeno, responsável também por intoxicações alimentares. Entre os alimentos envolvidos em surtos e casos de intoxicação alimentar estafilocócica destacam-se o leite cru, pasteurizado e os queijos, sendo *S. aureus* o microrganismo mais frequentemente isolado. O leite de vacas com mastite é o segundo alimento de origem animal em que há maior percentual de isolamento de *Staphylococcus aureus* Meticilina Resistente. A conscientização dos produtores é de extrema importância para reduzir os impactos causados por esta doença, pois, a partir do conhecimento, medidas poderão ser tomadas no intuito de prevenir e controlar a enfermidade nos rebanhos e conseqüentemente produzir um produto de qualidade, evitando que este cause problemas a saúde do consumidor. Diante disto, objetiva-se com este trabalho elaborar uma revisão de literatura sobre mastite subclínica causada por *S. aureus* e seus impactos econômicos e na saúde pública com a finalidade de embasar a confecção de material didático com fins informativos para produtores rurais.

Palavras-chave: intoxicação alimentar, leite, metilina, qualidade do leite

ABSTRACT

Subclinical mastitis is a silent disease without macroscopic changes in milk or udder, being considered the disease that causes the greatest losses to dairy cattle. The losses caused by subclinical mastitis are significant, mainly due to the reduction in the production of the quarters, in addition there is a reduction in milk quality, interfering in the characteristics of this, important for the dairy products industry. *Staphylococcus aureus* is the main causative agent of this disease, being an important pathogen, also responsible for food poisoning. Foods involved in outbreaks and cases of staphylococcal food poisoning include raw milk, pasteurized milk and cheeses, with *S. aureus* being the most frequently isolated microorganism. Milk from cows with mastitis is the second food of animal origin in which there is greater percentage of isolation of *Staphylococcus aureus* Resistant Methicillin. Producers' awareness is extremely important to reduce the impacts caused by this disease, since, from the knowledge, measures can be taken to prevent and control the disease in the herds and consequently to produce a quality product, preventing it from causing problems. In view of this, this paper aims to elaborate a literature review on subclinical mastitis caused by *S. aureus* and its economic and public health impacts in order to support the preparation of didactic material for informative purposes for rural producers.

Key words: food poisoning, milk, methicillin, milk quality

1. INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do leite é um importante componente do agronegócio brasileiro com produção de 35,2 bilhões de litros ao ano, o que leva o país ao posto de quinto maior produtor do mundo (IBGE, 2015). Além do aspecto econômico da atividade, o setor leiteiro desempenha papel social de extrema relevância para o país, representada pela fixação de milhares de famílias no campo e geração de milhões de empregos diretos e indiretos (DEMEU, 2009). O Estado de Pernambuco produz aproximadamente 855 milhões de litros de leite por ano, sendo uma das principais atividades econômicas do Estado, a qual se concentra principalmente na Região do Agreste Pernambucano, abastecendo as cidades locais e a Região Metropolitana do Recife (LUZ, 2008; IBGE, 2015).

A intensificação do sistema produtivo tem gerado ganhos consideráveis na atividade leiteira, contudo, também resultou no aumento da incidência de problemas sanitários, principalmente no que diz respeito a sanidade da vaca leiteira, aumentando a prevalência de enfermidades como a mastite, acarretando em prejuízos econômicos além do risco à saúde do consumidor. Segundo Francoz et al. (2012) apesar dos esforços para controlar e prevenir a mastite, esta permanece como a doença mais onerosa da indústria de laticínios.

A mastite bovina é uma inflamação da glândula mamária e, dependendo da severidade dos sinais clínicos, pode ser classificada em subclínica, clínica ou crônica, (BORTOLAMI et al., 2015). Radostis et al. (2007) definem mastite subclínica como uma infecção sem mudanças visíveis no leite ou no úbere. Em bovinos, a mastite subclínica é uma doença comum, com maior frequência que a forma clínica, que pode durar por longos períodos levando à perda na produção de leite (DETILLEUX et al., 2016).

Algumas enfermidades podem ser transmitidas ao homem através do leite e seus derivados, destacando-se a tuberculose e brucelose. Além destas zoonoses, podemos acrescentar aquelas associadas com a contaminação por coliformes, por *Listeria monocytogenes*, salmonelose e toxinas produzidas por *Staphylococcus aureus*. Esta última, muitas vezes, está associada a mastite subclínica, devido a sua alta prevalência nos rebanhos leiteiros (UNGER e MUNSTERMANN, 2004). Apesar das rigorosas medidas profiláticas

contra o *S. aureus*, a erradicação das infecções intramamárias causadas pelo mesmo é difícil, permanecendo um problema econômico significativo (BAO et al., 2016).

Segundo Balaban e Rasooly (2000) o *Staphylococcus aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns responsáveis por surtos de intoxicação alimentar em humanos. As peculiaridades desse agente tornam sua presença amplamente distribuída na natureza, contaminando os alimentos através de manipuladores, na maioria, portadores assintomáticos, e pelos animais, principalmente o gado leiteiro com mastite.

Dados estatísticos sobre a qualidade do leite consumido pela população brasileira ainda são escassos ou indisponíveis do ponto de vista de Saúde Pública. Desta forma, vale ressaltar a importância deste alimento, visando um controle mais efetivo de doenças que possam acometer o homem em decorrência do consumo de leite cru ou seus derivados que possam estar contaminados por agentes patogênicos (RIBEIRO JÚNIOR et al., 2008).

Diante disto, objetiva-se com este trabalho fazer uma revisão de literatura sobre mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus* e seus impactos econômicos e na saúde pública com a finalidade de embasar a confecção de material didático com fins educativos para produtores rurais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Mastite subclínica

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária em resposta a agressões físicas, químicas, térmicas, mecânica ou microbiana, entretanto, em 90% dos casos, a principal causa desta enfermidade é a presença de microrganismos patogênicos no interior do úbere. Dependendo da severidade da inflamação, a mastite pode ser classificada como subclínica, clínica ou crônica (BORTOLAMI et al., 2015). Segundo este mesmo autor, o grau de inflamação depende da natureza do agente causador, da carga do microrganismo, idade, raça, saúde imunológica e estágio de lactação do animal.

Mais de 140 tipos diferentes de microrganismos podem ocasionar a mastite, porém a doença é frequentemente causada por infecções bacterianas, e menos frequentemente por outros agentes como micoplasmas, leveduras, fungos e algas (KARIMURIBO et al., 2008). Dentre as bactérias, um número limitado dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* e do grupo dos coliformes causam a maior parte das infecções (VILAS BOAS, 2013).

Enquanto a mastite clínica se caracteriza por sinais macroscópicos de inflamação como aumento de volume e temperatura do quarto mamário afetado, dor, vermelhidão e mudanças na aparência do leite, na forma subclínica as alterações ocorrem na composição físico-química do leite e aumento da celularidade, fato observado pela elevação da contagem de células somáticas (CCS), nos teores de sódio, cloretos, proteínas séricas e na redução dos níveis de lactose, caseína e gordura (RADOSTITS et al., 2007). Segundo Coentrão et al., (2008), CCS acima de 200.000 células/mL já caracteriza uma infecção subclínica.

A mastite subclínica apresenta-se de forma silenciosa, determinando perdas econômicas elevadas, sendo que 70% destas está relacionada a diminuição da produção de láctea (SANTOS, 2001). Essas características favorecem a disseminação da enfermidade nos rebanhos, visto que para cada caso clínico, ocorram aproximadamente 35 subclínicos (FONSECA e SANTOS, 2000).

Langoni et al. (2011) consideram limite normal para ocorrência de mastite subclínica em até 15% no rebanho. Em um trabalho realizado por Dias et al. (2011) na Zona da Mata Mineira, os casos de mastite subclínica corresponderam mais de 80% dos diagnósticos, sendo a incidência 4,5 vezes superiores aos casos de mastite clínica. Do total de 250 amostras de leite analisadas neste estudo, 58,18% apresentaram crescimento, sendo as colônias identificadas como *Staphylococcus aureus* (28,52%), *Staphylococcus* sp. coagulase negativo (14,83%), *Streptococcus* sp. (6,84%), bacilos gram-positivos (3,42%), leveduras (2,28%), coliformes (1,15%) e *Streptococcus agalactiae* (1,14%), demonstrando a importância do *S. aureus* como principal agente causador da mastite subclínica.

A redução na produção láctea causada na mastite subclínica ocorre devido às alterações nas células epiteliais secretoras e na permeabilidade vascular do alvéolo secretor durante a infecção. A extensão dessa perda é influenciada por diversos fatores como gravidade e duração da infecção, tipo de microrganismo causador, idade do animal, época do ano e estado nutricional (CUNHA et al., 2008).

Além da perda produtiva, a mastite subclínica eleva as chances de se contrair mastite clínica nas lactações posteriores, o que pode levar a perdas de quartos mamários e descarte precoce de animais (PARKER et al., 2007). Diante disto a prevenção das mastites deve constituir uma prioridade para produtores e veterinários tanto por razões econômicas quanto de saúde pública (BEXIGA et al., 2005).

2.1.1. *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é um anaeróbio facultativo, cocos Gram-positivo, com aspecto de cachos de uva quando vistos através do microscópio, formando colônias grandes, arredondadas, muitas vezes com formação de halo de hemólise quando cultivadas em placas de ágar sangue, de coloração amarelo-ouro, estando esta relacionada a raiz etimológica do nome da bactéria; aureus significa "ouro" em latim (RYAN e RAY, 2004).

Uma pequena percentagem de *S. aureus* pode ser diferenciada da maioria dos outros estafilococos pelo teste de coagulase. O *S. aureus* é principalmente coagulase-positivo (o que

significa que ele pode produzir "coagulase") provocando a formação do coágulo enquanto a maioria das outras espécies de *Staphylococcus* são coagulase-negativos (RYAN e RAY, 2004).

Estes microrganismos são capazes de crescer numa grande gama de temperaturas (7° a 48,5 °C com um valor ótimo de 30 a 37 °C), pH (4,2 a 9,3, com um ótimo de 7 a 7,5) e concentrações de cloreto de sódio até 15%. Estas características permitem que o *S. aureus* se desenvolva numa grande variedade de alimentos. Isto, além de seu nicho ecológico, pode explicar sua incidência nos gêneros alimentícios que exigem manipulação durante o processamento, incluindo produtos alimentares fermentados, tais como queijos (SCHIMITT et al., 1990)

O habitat primário de *S. aureus* em humanos é a mucosa da nasofaringe onde a bactéria existe como um membro persistente ou transitório da microbiota normal sem causar quaisquer sintomas (FUEYO et al., 2005) podendo, entretanto ser encontrado regularmente em outros sítios anatômicos (BHATIA e ZAHOR, 2007) tais como a pele e transitoriamente a orofaringe e fezes (SMITH et al., 2001). Contudo, portadores assintomáticos são a principal fonte de infecção por *S. aureus*, podendo causar doenças adquiridas tanto no ambiente hospitalar como na comunidade (externo ao ambiente hospitalar) (FUEYO et al., 2005).

De acordo com Boss et al. (2011) o *S. aureus* é o agente patogênico infeccioso mais frequentemente isolado de úberes em todo o mundo. Bao et al. (2016) trabalhando com vacas holandesas em grandes fazendas leiteiras no leste da China, encontraram prevalência de 43% de *S. aureus* coagulase-positivo em amostras de leite cru. Bexiga et al. (2005) pesquisando mastite subclínica em Portugal constatou que das 12 fazendas estudadas, sete tinham vacas com mastite subclínica causada por *S. aureus*. Mattos (2008) avaliando qualidade do leite cru na região Agreste de Pernambuco encontrou *S. aureus* em todas as amostras avaliadas.

Infecções intramamárias causadas pelo *S. aureus* geralmente são subclínicas, levando a uma alta contagem de células somáticas no leite (BOTARO et al, 2015). A doença pode levar a mudanças em componentes do leite (COULON et al., 2002), entre os quais frações de proteínas são as mais afetadas (ZECCONI et al., 2005). Além dessas mudanças na composição, uma redução na produção de leite de vacas também é observada (TESFAYE et ai. 2010).

Após a multiplicação do *S. aureus* no interior da glândula mamária, pode ocorrer a formação de microabcessos, que poderão romper-se posteriormente, liberando o microrganismo no interior da glândula mamária e caracterizando as infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas, tendo como consequência a substituição do tecido secretor por tecido fibrótico, o que dificulta a ação dos antibióticos, resultando em baixas taxas de cura, acarretando perda na produção de leite (BOTARO et al., 2015).

2.1.2 Transmissão

O *Staphylococcus aureus* é reconhecido como sendo o patógeno mais frequentemente isolado em casos de mastite subclínica, relacionado entre os microrganismos mais contagiosos. Por isso, há grande importância com cuidados que previnam a sua disseminação no rebanho. Os quartos mamários infectados, a pele do úbere e dos tetos são os principais sítios de localização desses agentes (BOTARO et al., 2015). Segundo Ferreira et al. (2006), o *S. aureus* pode ser isolado em outros locais, tanto em vacas e novilhas quanto no alimento, na sala de ordenha e até mesmo em portadores humanos. Além disso, animais portadores podem constituir fonte de infecção permanente, permitindo a persistência deste microrganismo durante toda a fase de lactação.

Na mastite contagiosa, chamada assim pois sua transmissão se dá de vaca para vaca e não através do ambiente, há uma baixa incidência de casos clínicos, e alta incidência de casos subclínicos, geralmente crônicos, com alta CCS. Nesse caso a transmissão se dá por patógenos cujo habitat é a glândula mamária, como é o caso do *S. aureus*. A infecção pode ocorrer na sala de ordenha, através das teteiras e mãos do ordenhador, devido a higienização inadequada dos profissionais e dos equipamentos utilizados na ordenha, além da higiene inadequada dos tetos, antes da realização dos tratamentos intramamários, água de lavagem dos tetos contaminada ou de conjuntos de ordenha mal desinfetados (SANTOS E FONSECA, 2007; VILAS BOAS, 2013). Ainda, de acordo com Hachem (2005), moscas também podem ser veículos de contaminação.

Ribeiro et al. (2006) afirmaram que a principal fonte de transmissão de mastite contagiosa é o leite de quartos infectados com sua disseminação ocorrendo de vaca para vaca

durante o processo de ordenha. Segundo Amaral et al. (2004) lesões nos tetos são fatores importantes que expõem a superfície dos tetos aos microrganismos patogênicos contagiosos.

2.1.3. Fatores de risco para mastite subclínica

A redução quantitativa e qualitativa do leite provocada pela mastite subclínica no quarto infectado, na vaca ou no rebanho, varia muito, dependendo de fatores ligados à natureza do(s) agente(s) etiológico(s), da resposta imunológica do animal, da evolução e duração da infecção e da propagação da mastite no rebanho. Estas condições ainda são influenciadas pelos cuidados e medidas sanitárias adotadas (DIAS, 2007). Compreender as causas potenciais e ações imediatas para minimizar os fatores de risco pode ajudar a limitar a incidência desta enfermidade.

Coentrão et al. (2008), avaliando fatores de risco para mastite subclínica em vacas na região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, constataram que animais com a base do úbere abaixo ou junto ao jarrete apresentaram 1,73 vezes mais chances de terem a CCS acima de 200.000 células/mL que os animais com a base do úbere acima do jarrete, sendo a provável causa a maior exposição das extremidades dos tetos aos microrganismos ambientais.

Ainda no trabalho realizado por Coentrão et al. (2008), o procedimento de inserção total da cânula na aplicação de antibiótico intramamário foi o maior risco identificado no estudo, representando 2,64 vezes mais chance de os animais apresentarem CCS acima de 200.000 células/mL em relação aos submetidos à técnica de inserção parcial da cânula da bisnaga de antibiótico. A inserção total da cânula pode aumentar o canal do lúmen, levando à maior penetração de bactérias, além de contribuir para que as bactérias presentes no canal do teto sejam introduzidas na cisterna da teta.

Nas propriedades onde os ordenhadores não recebiam qualquer tipo de treinamento (procedimentos adequados de higiene de ordenha, realização do exame dos primeiros jatos de leite e realização do California Mastitis Test), os animais apresentaram 2,51 vezes mais chances de apresentar a CCS acima de 200.000 células/mL (COENTRÃO et al., 2008).

Peller et al. (2000) identificaram fatores de risco para mastite subclínica e clínica associados com o aumento do número de parições, início e final de lactação, escape de leite pelos tetos observado durante a ordenha e animais de alta produção. À medida que a ordem e o estágio de lactação avançam, são observados aumentos na contagem de células somáticas (CCS) em razão da maior resposta celular de vacas adultas à ocorrência de mastite subclínica, aumento da prevalência de infecções e lesões residuais de infecções anteriores (SCHULTZ et al., 1977). Segundo Coldebella (2003), vacas múltiparas sofrem maiores perdas, como resultado dos danos permanentes à glândula mamária por infecções prévias, além de apresentarem infecções mais prolongadas, que resultam em maiores danos ao tecido mamário. Segundo Reneau (1986), à medida que as vacas envelhecem, aumenta as chances de exposição a agentes causadores de mastite, com tendência de infecções mais prolongadas e maior prejuízo para os tecidos da glândula mamária. Assim, a ocorrência de mastite pode resultar em perdas de produção não só na lactação atual, mas também na lactação seguinte, comprometendo a produção total do animal (CUNHA et al., 2008).

Os fatores de risco, incluindo técnicas de ordenha, práticas de criação e uso irracional de antibióticos estão significativamente associados à mastite (BHUTTO et al. 2010). O mal uso de ordenhadeira mecânica pode favorecer a presença de mastite pela possibilidade de falhas do equipamento, caracterizadas por alterações de vácuo, pulsação, deslizamento de teteiras e deficiência nas desinfecções, podendo comprometer a integridade das células que revestem o canal do teto e conseqüentemente, oscilações na CCS (OLIVEIRA et al., 2013). Outro fator importante é a não realização do pós-dipping, considerado como um dos principais fatores de risco para ocorrência de mastite (OLIVEIRA et al., 2013).

De acordo com Barbosa et al., (2009) a ordenha mecânica quando comparada com a manual leva vantagem em relação à saúde do úbere, no que diz respeito à velocidade e diminuição do tempo de operação, mas que as falhas no controle das máquinas ordenhadeiras, no que diz respeito à pulsação e linha de vácuo, podem trazer sérios danos à glândula mamária, principalmente leite residual e lesões de tetas. Eles ressaltam ainda que não é necessariamente o tipo de ordenha o responsável pela infecção da glândula mamária e sim o nível de higiene e o manejo da propriedade, e que estão diretamente relacionados com a CCS, cujos valores aumentam quando ocorrem essas irregularidades.

2.1.4. Diagnóstico

Mastites subclínicas não são diagnosticadas pelos métodos usuais de exame clínico, sendo disseminadas para outros animais pelo fato de estarem subdiagnosticadas no rebanho, agravando os prejuízos devido à transmissão para animais sadios (RADOSTITS et al., 2007). As frequências das formas clínica e subclínica são parâmetros consagrados para avaliação do estado sanitário do úbere, sendo o diagnóstico precoce fundamental neste processo (RIBEIRO JÚNIOR et al., 2008). O diagnóstico da mastite subclínica requer o emprego de métodos de detecção que incluem exames microbiológicos, métodos químicos indiretos e CCS (de amostras de leite por animal, por quartos mamários ou do rebanho) (VILAS BOAS, 2013).

É essencial monitorar infecções intramamárias em vacas leiteiras, a fim de manter a qualidade do leite e saúde do rebanho. Vários métodos de diagnóstico estão disponíveis, sendo a cultura bacteriológica de amostras de leite considerada o método de referência (DOHOO, et al., 2011), mas é geralmente dispendioso e demorado para utilização na rotina. Entretanto, outros métodos podem ser empregados no diagnóstico da doença, entre eles: Contagem de Células Somáticas (CCS), Califórnia Mastitis Test (CMT), Wisconsin Mastitis Test (WMT), a prova de Whiteside e Condutividade Elétrica do Leite (CEL) (VILAS BOAS, 2013).

A CCS constitui um importante recurso para o monitoramento da qualidade do leite e da saúde da glândula mamária dos rebanhos, por indicar a ocorrência de mastite subclínica e de possíveis perdas econômicas dela decorrentes (SANTOS e FONSECA, 2007). O termo “células somáticas do leite” refere-se a células de origem sanguínea (leucócitos) e a células provenientes de descamação do epitélio glandular secretor (DIAS et al., 2011). Segundo Coentrão et al. (2008) a CCS no leite é o indicador mais usado em programas de controle e prevenção da mastite em todo o mundo. No Brasil, de acordo com a Instrução Normativa nº 62 de dezembro de 2011, o limite de CCS é de 400.000 células/mL nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste a partir de 01/07/2016, e 500.000 células/mL nas regiões Norte e Nordeste partir de 01/07/2015 até 30/06/2017 (BRASIL, 2011).

A variação na CCS pode ocorrer devido a diversos fatores, como idade do animal, estágio de lactação, estresse, época do ano e nutrição; mas o fator mais relevante é a presença

de mastite no rebanho (MAGALHÃES et al., 2006). O estado de infecção é o principal responsável pela variação da CCS, sendo que as células de defesa correspondem de 98 a 99% das células somáticas encontradas no leite (JORGE et al., 2005). Segundo Andrade et al. (2007) a CCS aumenta com a idade da vaca, atingindo o máximo em torno dos 110 meses de idade.

A CCS individual é utilizada a nível de rebanho e de vaca, em virtude da maior disponibilidade aos produtores e menor custo que a cultura microbiológica (SCHUKKEN et al., 2003). O CMT é um dos testes mais populares, práticos e de baixo custo para o diagnóstico da mastite subclínica, o qual é realizado na propriedade no momento da ordenha fornecendo resultados imediatos (JORGE et al., 2005). É um método indireto, que avalia a quantidade de células somáticas do leite, sob a ação de um detergente aniônico capaz de romper a membrana celular, levando a formação de um gel pela interação dos ácidos nucléicos celular com o detergente (DIRKSEN et al., 1993). O resultado do CMT é dado, de acordo com sua viscosidade, como negativo, suspeito, fracamente positivo, positivo e fortemente positivo, sendo que quanto maior a quantidade de material nuclear (DNA) maior é a viscosidade (SCHALM; NOORLANDER, 1957).

A presença de um agente patogênico na glândula mamária provoca um aumento no número de células do sistema imunológico, principalmente os neutrófilos, para combater a infecção. Por conseguinte, uma elevada concentração de células pode ser utilizada como um indicador indireto de infecção, pois quanto maior a quantidade de células tem suas membranas rompidas, mais interação do gel vai ocorrer com seus núcleos, levando ao aumento da viscosidade (MADOUASSE et al., 2012).

Dentre esses métodos, o CMT, o WMT e a CEL, apesar de serem métodos menos precisos no diagnóstico da mastite subclínica quando comparados ao demais, apresentam vantagens, tais como o baixo custo, resultados rápidos e que podem ser realizados na propriedade sendo, portanto, importantes ferramentas que podem auxiliar o produtor na tomada de decisão quanto ao manejo dos animais doentes (RIBEIRO JÚNIOR et al., 2008).

Segundo Ribeiro Júnior et al. (2008) o teste de CMT é mais sensível e economicamente viável na identificação da mastite subclínica como método de diagnóstico de campo, quando comparado à prova de Whiteside. Brito et al. (1997) consideram o uso regular do CMT como importante ferramenta para melhoria do estado sanitário do rebanho, quando

usado para orientar a adoção de medidas para o controle da mastite, ou associado a práticas adequadas de manejo e higiene. Segundo Dingwell et al. (2003), o CMT pode ter um papel útil no controle efetivo em programas leiteiros, como teste de triagem para detecção de vacas com mastite subclínica.

A análise microbiológica do leite consiste em cultivar uma alíquota de 0,1mL de leite de cada amostra positiva ao CMT, ou com mastite clínica, em meio de ágar base adicionado de 5% de sangue ovino e em ágar Mac Conkey, incubando-se as placas a 37°C com observação do desenvolvimento microbiano a cada 24 horas durante três dias (LANGONI et al., 2011).

O Wisconsin Mastitis Test (WMT), também conhecido como viscosímetro, é o resultado do aprimoramento do CMT, tendo a finalidade de eliminar a subjetividade da interpretação dos resultados deste teste. É realizado em tubo graduado, ao qual se adicionam quantidades exatas de leite e reagente (o mesmo utilizado para o CMT). Deve-se diluir o reagente em água destilada 1:1, utilizando-se dois mL desse e dois mL da amostra do leite. A homogeneização deverá ser realizada com movimentos de rotação do tubo, invertendo-o em seguida e deixando-o escoar por 15 segundos, retornando-se, então, à posição inicial. O reagente age sobre as células somáticas do leite formando um gel viscoso na presença de alterações como a mastite. Como o tubo é graduado, o resultado será expresso em milímetros, de acordo com a maior ou a menor viscosidade da reação (LANGONI, 2000).

A prova de Whiteside é realizada em uma placa de vidro de relógio, onde são colocadas cinco gotas da amostra de leite previamente homogeneizada e, em seguida, adicionadas duas gotas de NaOH próximo ao leite. Com um bastão de vidro mistura-se o leite à solução de NaOH, agitando-se rapidamente por 15 segundos. A formação de grumos ou consistência filamentosa é interpretada como reação positiva e a ausência de grumos como negativa (ROSEMBERGER, 1993).

A Condutividade Elétrica do Leite (CEL) é um método indireto utilizado para prever o estado de saúde do úbere que vem sendo estudado e empregado na rotina de propriedades produtoras de leite. O método consiste na determinação da concentração de íons, sendo os mais importantes o sódio, o potássio e o cloreto. Na presença da mastite, a concentração de potássio no leite diminui, enquanto as concentrações dos íons sódio e cloreto elevam-se, levando ao aumento da CEL. A prova baseia-se no princípio de que o aumento na CEL é

diretamente proporcional ao aumento da inflamação do úbere e do aumento na CCS (VILAS BOAS, 2013).

2.1.5. Controle, prevenção e tratamento

Para que a doença não se instale ou propague pelo rebanho leiteiro, um bom programa de prevenção e controle da mastite deve ser estabelecido com o objetivo de limitar a incidência/prevalência das infecções, reduzindo, por consequência, impactos econômicos na atividade leiteira (DIAS et al., 2011). É importante a conscientização do produtor sobre o correto manejo para o controle da mastite, visto que muitos não percebem que todo o seu investimento em infraestrutura e melhorias no plantel não terão efeito sem a implementação de um planejamento adequado para prevenção e controle da enfermidade.

Dada a natureza multifatorial complexa da mastite, o controle consiste em uma ampla gama de atividades como: tratamento da doença (forma clínica ou subclínica), terapia da vaca seca, a prevenção da transmissão da infecção (de vaca para vaca ou através do ambiente) e melhoria do sistema imunológico. O controle deverá ser baseado nos seguintes aspectos fundamentais: quanto à fonte de infecção, ao seu diagnóstico, tratamento ou descarte; em relação ao animal susceptível, nutrição, seleção de animais mais resistentes e higiene de ordenha; quanto às vias de transmissão: higiene de ordenha; a conscientização do problema aos produtores devido às perdas econômicas, e educação sanitária dos tratadores (SILVA et al., 2010).

Nesses programas de controle, deve-se levar em consideração não apenas os fatores de risco relacionados às características de animal, de manejo e de equipamento de ordenha, mas também o suporte laboratorial. O diagnóstico microbiológico é importante, pois fornece o padrão de infecção do rebanho, o que auxiliaria no controle e na erradicação de determinados patógenos (COENTRÃO et al., 2008).

Para que seja efetivo, algumas metas devem ser atingidas: mão-de-obra especializada, monitoramento dos índices da doença, higiene ambiental, tratamento da mastite clínica, tratamento de vaca seca, descarte de vacas com infecções crônicas, manejo e higiene na hora

da ordenha, higienização e manutenção do equipamento de ordenha e até mesmo, em certos casos, vacinação contra algumas cepas causadoras de mastite. Desta forma, é possível diminuir o número de animais acometidos pelas formas clínica e subclínica, reduzir a taxa de novas infecções, melhorar a CCS do rebanho e a qualidade do leite produzido (DIAS et al., 2011).

Várias medidas devem ser tomadas durante o processo de ordenha mecânica com a finalidade de minimizar a transmissão de agentes causadores de mastite e diminuir o número de microrganismos que podem ser transferidos ao leite, depreciando sua qualidade microbiológica. Deve-se ter como objetivo principal no manejo de ordenha, assegurar que os tetos estejam limpos e secos antes do seu início. (DIAS, 2007).

A sala de ordenha deve ser limpa e arejada, desinfetada uma vez por semana, com produtos a base de cresóis ou cal virgem, os latões e baldes devem ser previamente limpos com água e sabão e colocados de cabeça para baixo, e deve-se evitar a presença de pessoas estranhas para não estressar os animais (SANTOS et al., 2004). É importante estabelecer a "linha de ordenha", ou seja, vacas com infecções, principalmente mastite, devem ser ordenhadas por último, para não contaminarem animais sadios. Recomenda-se ordenhar animais em lotes de acordo com o estado sanitário. Primeiro novilhas primíparas; depois vacas que nunca tiveram mastite, seguidas pelas que foram curadas e, por último, ordenhar as que estão em tratamento (PEELER et al., 2000).

Indica-se que seja feita antes da ordenha a lavagem completa das mãos dos ordenhadores com água e sabão, seguida preferencialmente pela desinfecção em solução desinfetante à base de cloro, iodo ou clorexidina. Os primeiros três ou quatro jatos devem ser retirados em uma "caneca telada" ou de "fundo preto", com objetivo de diagnosticar a mastite clínica e estimular a "descida" do leite (SANTOS et al., 2004).

A troca periódica dos componentes de borracha e teteiras do equipamento bem como o treinamento dos ordenhadores quanto à utilização e manutenção deste equipamento foram identificados por Souza et al. (2005) como pontos importantes no controle e na prevenção de mastite.

Deve-se salientar a realização do pré-dipping, o qual previne a contaminação do equipamento de ordenha por microrganismos de origem ambiental encontrados na superfície

do teto e pós-dipping, que pode prevenir a contaminação dos tetos por microrganismos após a ordenha (OLIVEIRA et al., 2013). A imersão dos tetos em solução desinfetante antes da ordenha reduz o número de novas infecções, lembrando que após a execução do pré-dipping deve ser feita secagem dos tetos com papel toalha descartável.

A imersão de tetos após a ordenha, em solução desinfetante cobrindo toda extensão do teto é recomendada. Segundo Fonseca e Santos (2000) o pós-dipping é considerado o método mais efetivo de controle da mastite subclínica, devendo ser obrigatoriamente utilizado em todos os rebanhos. É importante que seja feita a imersão completa dos tetos, não sendo recomendado o uso de spray, uma vez que não possibilita completa cobertura de toda a superfície. Outro aspecto importante é a utilização de produto desinfetante eficaz. Neste sentido os autores destacam os seguintes compostos: iodo 0,7 a 1,0%, clorexidina 0,5 a 1,0% e cloro 0,3 a 0,5% (4% hipoclorito de sódio). Já para o pré-dipping pode-se utilizar metade da concentração dos produtos para pós-dipping.

Logo após o pós-dipping, recomenda-se também que ao sair da sala de ordenha o animal receba alimentação e água de boa qualidade, estimulando que o mesmo permaneça em estação durante o período em que o esfíncter do teto ainda não esteja completamente fechado (DINGWELL et al., 2004).

A antibioticoterapia para a mastite deve visar a eficácia terapêutica e benefícios econômicos, tanto do ponto de vista do aumento da produção como na redução das fontes de infecção (quartos infectados). A terapia tem por meta a eliminação das infecções preestabelecidas e, para tanto, é necessário que o antimicrobiano atinja concentrações no úbere maiores ou pelo menos iguais à concentração inibitória mínima (CIM) para os principais patógenos da mastite (BENEDETTE, et al., 2008). Os agentes antimicrobianos convencionais têm sido o pilar da terapia da mastite nas últimas décadas, e estas drogas têm alto potencial de taxa de cura, quando o tratamento é bem orientado (BHATT et al., 2014). A terapia antimicrobiana é uma das principais medidas para o controle de mastite estafilocócica, no entanto, o *S. aureus* resistente aos antibióticos é um importante problema de saúde pública no mundo inteiro. (BAO et al., 2016).

Krewer et al. (2013) avaliando o perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro do *S. aureus* em amostras de leite de 3700 vacas com mastite subclínica, localizadas no Estado da Bahia e o Agreste Pernambucano, verificaram que a menor susceptibilidade deste

microrganismo foi para penicilina (33,6%) e tetraciclina (34%) e susceptibilidade acima de 97% para amoxicilina, eritromicina, lincomicina, oxacilina, ciprofloxacina, cefalexina, enrofloxacina e gentamicina. Silva et al. (2012) também observaram baixa sensibilidade à penicilina em amostras de *S. aureus* proveniente de mastite subclínica em rebanhos leiteiros de Garanhuns – PE, sendo que neste estudo 100% das amostras foram sensíveis à cefalotina, 95% à enrofloxacina, 93 à tetraciclina, 92% à eritromicina e clindamicina, e 78% à gentamicina.

Em termos de manejo externo, o período seco é um momento crucial para as vacas, pois elas se estressam devido à interrupção da ordenha e deixam de receber cuidados diários de desinfecção de tetos, tornando-se extremamente susceptíveis a mastite (SONDERGAARD et al., 2003). O tratamento de vacas é mais efetivo com infusões de antibióticos no final da lactação e não ao longo dela. Todavia, a terapia da vaca seca parece não diminuir a contagem de células somáticas (CCS) do leite obtido durante a lactação seguinte (ZAFALON et al., 2007). Porém, segundo Makovec e Ruegg (2003), a Terapia da Vaca Seca elimina até 80% das infecções existentes na secagem e também previne contra até 80% de novas infecções durante o período seco. Segundo Fonseca e Santos (2001) a antibioticoterapia da vaca seca, instituída de forma correta, determina, em média, taxas de cura contra *S. aureus* de 70%.

Rebanhos com boa técnica de ordenha, desinfecção de tetos pré e pós-ordenha, secagem adequadas de vacas, tratamento com antibióticos para mastite clínica, além de preocupação com higiene e suplementação mineral adequada demonstram baixo índice de mastite e, proporcionalmente, baixa CCS e reações negativas ou baixas no CMT (BARKEMA et al., 2006).

2.1.6. Impacto econômico

A mastite é a doença que provoca os maiores prejuízos à pecuária leiteira do Brasil e em grande parte do mundo, estando associada a perdas econômicas de quase US \$35 bilhões anualmente (ANDRADE et al., 2007; BHATT et al., 2014). Segundo Ribeiro Júnior et al. (2008) no Brasil, a alta prevalência da mastite em rebanhos leiteiros representa prejuízo de 12 a 15% na produção. Já na Região Sudeste, onde se encontra a maior bacia leiteira, esses

valores variam entre 20 e 71% nos estados de Minas Gerais e São Paulo, respectivamente (FAGUNDES e OLIVEIRA, 2004).

Segundo Lopes et al. (2012) o impacto econômico anual da mastite em rebanhos bovinos leiteiros no Brasil é de R\$ 72.784,74, R\$ 160.481,82, e R\$ 277.411,25, para frequências médias anuais da doença de 1, 7 e 15%, respectivamente. Tomando-se por referência uma vaca em lactação, de R\$ 727,85 a R\$ 2.774,11 e de R\$ 0,1090 a R\$ 0,5985/kg de leite, para frequências médias anuais de 1 e 15% de mastite clínica.

Os prejuízos causados pela mastite subclínica são representados por 70% de perda devido à redução na produção dos quartos; 8% pela perda do leite descartado por alterações e/ou pela presença de resíduos após tratamento; 8% pelos gastos com tratamentos; 14% por morte ou descarte animal ou ainda pela desvalorização comercial do animal, por quartos afuncionais ou atrofiados (COSTA, 1998). As perdas de produção devidas à mastite subclínica são geralmente consideradas como uma relação linear entre a contagem de células somáticas (CCS) e os registros do dia teste, no entanto, a produção de leite não melhora após a recuperação completa da enfermidade. Assim, a relação linear assumida pode subestimar as perdas de produção devido à mastite subclínica (HALASA et al., 2007). Estudos brasileiros mostraram que um quarto mamário com mastite subclínica reduz entre 25 a 42% a sua produção quando comparado a um quarto normal. Em rebanhos nos EUA, estima-se um custo anual com esta doença em torno de US\$ 1,8 bilhão, o que representa 10% do total de leite produzido no país (EMBRAPA, 2007).

A composição do leite e características microbiológicas são fatores importantes para o produtor de leite (leite cru de qualidade), indústria de laticínios (processo tecnológico e qualidade dos produtos lácteos) e consumidor (qualidade e segurança alimentar) (REIS et al., 2013). A qualidade do leite é prejudicada pela mastite subclínica levando ao baixo valor atribuído ao leite pela indústria, além de afetar diretamente o produtor através da redução da produtividade e também da vida útil produtiva das vacas, especialmente em novilhas (BEXIGA et al., 2005; DEMEU, 2009).

Um fator importante é a redução causada pela mastite subclínica no teor de lactose. A lactose é o componente do leite com maior capacidade osmótica, por isso, a diminuição da lactose resulta na redução da produção de leite. Também, o decréscimo na concentração de caseína durante a mastite pode ser atribuído à redução na síntese e secreção e ao aumento da

sua degradação em função do aumento da atividade das proteinases bacterianas, dos leucócitos e do sangue, os quais ocorrem durante os processos inflamatórios da glândula mamária. (CUNHA et al., 2008).

Philpot (2002) afirmou, com base em dados do National Mastitis Council, Estados Unidos, que a mastite custa ao produtor leiteiro aproximadamente US\$ 180/vaca/ano. Esse custo está associado a uma perda de 2,5% na produção de leite para cada 100.000 células somáticas/mL acima do nível basal de 200.000 células/mL (ANDRADE et al., 2007). O aumento da CCS está associado com reduções na caseína, gordura de leite e lactose; aumento da atividade enzimática; e redução da qualidade e produtividade de produtos lácteos (REIS et al., 2013). Isto interfere nas características do leite importantes para a indústria de derivados lácteos, podendo resultar em aumento do tempo de coagulação do leite, diminuição da firmeza do coágulo, maior perda de componentes do leite para o soro, menor rendimento de fabricação, defeitos de textura e alteração das características organolépticas (SANTOS et al., 2003).

Além das perdas para a indústria, devem ser consideradas também as perdas na produção de leite decorrentes do aumento da CCS, ou seja, as perdas que ocorrem no sistema de produção quando o animal apresenta a mastite subclínica ou clínica. Essas perdas podem ser ocasionadas pelo descarte do leite de animais doentes, pelos custos com tratamentos, pela perda de tetos saudáveis, pelo descarte involuntário dos animais ou pela contaminação de animais saudáveis do rebanho, o que significa menor retorno econômico para o produtor, tanto pela redução na produção como pelas penalidades aplicadas pelos laticínios (ANDRADE et al., 2007).

Segundo Bhatt et al. (2014) a redução na produção de leite pode chegar a 70-80% das perdas econômicas devido à mastite subclínica. Apesar de menos evidentes para o produtor quando comparada as formas clínicas, as formas subclínicas são as que mais afetam o rendimento econômico da exploração leiteira, representando 82% das perdas financeiras com a redução da produção láctea total, sendo que a forma clínica é responsável por apenas 18% do prejuízo total, devido a mortes e descartes prematuros (ZAFALON, 2003).

As perdas associadas ao *S. aureus* podem ser maiores do que as observadas em rebanhos onde outros patógenos são mais frequentemente isolados (BARKEMA et al., 2006). Infecções intramamárias por *S. aureus* são principalmente subclínicas, e geralmente causam

alta contagem de células somáticas no leite. A doença pode levar a mudanças em componentes do leite (COULON et al., 2002), afetando principalmente frações de proteínas (ZECCONI et al., 2005), e a mudanças na composição e redução na produção de leite de vacas com infecções intramamárias (TESFAYE et al. 2010).

Botaro et al. (2015) observaram que infecção subclínica causada por *S. aureus* reduziu a produção de gordura em 8,3%, além de diminuição média na quantidade total de leite por quarto mamário em 4,4%. Segundo esses autores, a produção média de leite das glândulas foi 1.476,47 e 1.577,93 g/quarto/ordenha de quartos mamários infectados e não infectados, respectivamente.

Cunha et al. (2008) observaram redução progressiva na produção de leite com o aumento do número de células somáticas no leite, sendo esta redução de 7,1% entre a classe de ≤ 101.000 e a de 101.000-250.000, e de 19,4% entre as classes de ≤ 101.000 e $\geq 3.000.000$.

No trabalho realizado por Dias et al. (2011) em pequenas e médias propriedades na Zona da Mata Mineira, tomando como base o total de animais testados (607 vacas) e uma produção total de aproximadamente 12.250 litros de leite diários, a mastite causou um prejuízo total de 8,42%, ou seja, R\$ 1.125,96 por dia e R\$ 23.976,15 por mês, considerando o preço pago pelo leite na época de R\$ 0,70, em média.

Muitos são os trabalhos que relacionam a perda econômica na produção leiteira à mastite subclínica causada pelo *S. aureus*, porém o real prejuízo causado por essa doença é difícil de ser mensurado, o que leva a crer que estes valores ainda são subestimados.

2.2. Saúde pública

2.2.1. Intoxicação alimentar estafilocócica

Franco e Landgraff (1996) definem as intoxicações alimentares como doenças causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-elaboradas, as quais são produzidas durante a proliferação dos microrganismos patogênicos presentes nesses

produtos. Neste contexto, destacam-se as espécies de *Staphylococcus* enterotoxigênicos coagulase positiva, sendo o *Staphylococcus aureus* o mais importante patógeno de origem alimentar deste grupo, responsável pela intoxicação alimentar estafilocócica (IAE), a qual é considerada como uma das principais causas de gastroenterite em todo o mundo, determinando sua importância tanto para saúde pública quanto para a indústria (DINGES et al., 2000).

As enterotoxinas estafilocócicas são proteínas produzidas por cepas enterotoxigênicas de estafilococos coagulase-positiva (principalmente *S. aureus*), que causa a doença, enquanto que os estafilococos coagulase-negativo nunca foram associados a surtos de doença (BAO et al., 2016). Essas toxinas são termoestáveis, dessa forma a temperatura de cozimento dos alimentos não interfere na atividade biológica das mesmas ao serem produzidas e liberadas pelos estafilococos durante sua multiplicação, possibilitando a instalação de quadros de intoxicação alimentar no homem (LUZ, 2008).

As enterotoxinas estafilocócicas são divididas em 11 tipos: A, B, C1, C2, C3, D, E, TSST-1, G, H e I, e com base nas diferenças sorológicas a enterotoxina C é subdividida em EEC1, EEC2 e EEC3. São consideradas superantígenos, por estimularem uma resposta policlonal inespecífica de linfócitos T e a liberação aumentada de citocinas, causando toxicidade sistêmica e supressão da resposta imune adaptativa (BALABAN e RASOOLY, 2000). A síndrome do choque tóxico (TST) é determinada mais frequentemente pela toxina do choque tóxico (TSST-1), entretanto podem estar envolvidas ainda as enterotoxinas dos tipos B e C21 (SÁ et al., 2004).

Jones e Wieneke (1988) relataram a produção de TSST-1 e de EEC por *S. aureus* isolados em cultura pura oriunda de um rebanho bovino com mastite. Segundo Cardoso et al. (2000), é possível que a TSST-1 represente um fator de virulência importante em casos graves de mastites. O *S. aureus* também produz toxinas esfoliativas, causadoras da síndrome da pele escaldada (ENDO et al., 2003).

Entre os alimentos envolvidos em surtos e casos de IAE destacam-se o leite cru, pasteurizado e os queijos, sendo *S. aureus* o microrganismo mais frequentemente isolado (BORGES et al., 2008). Devido a sua constituição, o leite torna-se um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de microrganismos, podendo ser responsável pela transmissão de importantes zoonoses ao homem (AMARAL et al., 2004). Estes patógenos podem estar

presentes no leite antes da ordenha ou contamina-lo durante ou após a mesma, e conseqüentemente, seus derivados, os quais ainda podem sofrer contaminação durante processamento e/ou estocagem, principalmente nos casos em que ocorre grande manipulação do produto (NOUT, 1994).

O microrganismo normalmente contamina os alimentos através dos manipuladores de alimentos ou outras superfícies, como o equipamento de processamento (BAO et al., 2016). A bactéria é termolábil e não compete bem com outros microrganismos e, portanto, a contaminação ocorre geralmente após o alimento ter sido processado, momento em que há pouca concorrência (GRATIAN, 2011). As intoxicações estafilocócicas estão frequentemente associadas à ingestão de, no mínimo, 100 ng de enterotoxina e/ou contagens entre $10^5 - 10^6$ UFC de estafilococos/g ou mL de alimento (WONG e BERGDOLL, 2002).

Na região Nordeste, entre os derivados do leite destaca-se o queijo de coalho, o qual é produzido com massa semicozida e tradicionalmente consumido fresco ou maturado, sendo comum o emprego de leite cru para seu preparo. Surtos relacionados ao consumo de leite e queijo contaminados com bactérias causadoras de doenças transmitidas por alimentos são frequentemente relatados (LUZ, 2008).

Alves et al. (2009) avaliando a qualidade microbiológica do leite cru e do queijo coalho em São Luís – MA, identificaram cepas de *Staphylococcus coagulase positiva* em 31,0% e em 23,3% das amostras de leite cru e de queijo coalho respectivamente, estando o maior percentual de amostras no intervalo de contagem de 10^5 a 10^6 ufc/mL, faixa que corresponde aos níveis de contagens necessárias para elaboração de toxina estafilocócica. Segundo os autores, dentre as várias causas determinantes da presença deste agente no leite, destaca-se a mastite, podendo as contaminações também estarem associadas com deficiente higienização durante a ordenha, água contaminada, ordenhadores infectados e condições inadequadas de processamento, refrigeração e comercialização dos produtos.

Em Recife - PE, Mendes et al. (1999) avaliaram 105 amostras de queijo coalho procedentes de 15 municípios do Estado e comercializadas na capital, verificando que todos os municípios apresentavam de 13% a 90% das amostras com contagens acima dos padrões legais para estafilococos. Cunha Neto et al. (2002) avaliando alimentos *in natura* e processados no Estado de Pernambuco, isolaram *Staphylococcus enterotoxigênicos* em queijo de coalho e 100% dessas cepas foram positivas para enterotoxinas estafilocócicas clássicas.

Das 51 amostras de queijo coalho comercializado nas praias de Salvador-BA, analisadas por Tigre e Borelly (2011), 18 (35%) foram identificadas com *Estafilococos* coagulase positiva, uma delas com $2,3 \times 10^6$ UFC/g.

Pinto et al. (2011) avaliando a qualidade microbiológica do queijo minas frescal no Paraná, encontraram em 100% das amostras artesanais *Staphylococcus* spp., onde apresentaram valores acima do permitido pela legislação, que é de no máximo 5×10^2 UFC/g. Já nas amostras inspecionadas, 25% foram consideradas como “impróprias para o consumo”, estando em desacordo com o limite estabelecido pela legislação.

Aproximadamente 1,5 bilhão de dólares são gastos anualmente nos Estados Unidos por causa dessas intoxicações (SU e WONG, 1997), sendo estimado pelo Center for Disease Control and Prevention (CDC) que anualmente ocorram 185.000 casos de IAE (MEAD et al., 1999). No Brasil, é grande o comércio de leite e de seus derivados sem passarem pelos serviços de inspeção e fiscalização sanitária do governo colocando em risco a saúde pública (ALVES et al., 2009). A notificação da IAE não é considerada compulsória no Brasil e em diversos países, desconhecendo-se sua verdadeira incidência. Em virtude da sintomatologia, geralmente branda, e de curta duração, apenas grandes surtos chegam ao conhecimento das autoridades sanitárias, sendo impossível precisar a sua real incidência (SÁ et al., 2004; LUZ, 2008), assim como informações referentes a prevalência dos tipos de enterotoxinas estafilocócicas, ou seu caráter endêmico e/ou epidêmico (MARTIN et al., 2004).

Nos Estados Unidos, no período entre 1993 e 1997, o *S. aureus* foi envolvido em 42 surtos de intoxicação alimentar com 1.413 casos notificados e um óbito, com envolvimento de leite e queijos entre os alimentos implicados. A intoxicação estafilocócica representa cerca de 4,0% das doenças de origem alimentar bacteriana, sendo responsável por 1.753 hospitalizações e duas mortes a cada ano (OLSEN et al., 2000). No Brasil, existem 16 relatos de surtos causados por queijos, com 86 pessoas acometidas. Dois desses surtos foram notificados no estado do Ceará no ano de 2000, atribuídos ao consumo de queijos e envolvendo 14 pessoas (BORGES et al., 2008).

Segundo Borges et al. (2008) no mundo, assim como no Brasil, o número de surtos e casos esporádicos de intoxicações estafilocócicas são superiores aos reportados pela Vigilância Sanitária. No Brasil, entre 1999 e 2004 foram notificados 3.064 surtos de doenças transmitidas pelo alimento à Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), com acometimento de

57.353 pessoas e registro de 37 óbitos. *S. aureus* foi identificado em 18,1% dos casos, ocupando a segunda posição entre os agentes etiológicos identificados (CARMO et al., 2005).

A IAE é caracterizada por respostas entéricas, como diarreia, cólicas abdominais e vômitos (LEENALITHA e PETER, 2007). O início dos sintomas é repentino e depende, porém, do grau de suscetibilidade e peso do indivíduo, concentração da enterotoxina e quantidade do alimento ingerido, sendo mais graves em crianças, idosos e pessoas acometidas de doenças crônicas imunossupressoras. A recuperação ocorre em torno de dois dias, podendo em alguns casos levar mais tempo ou exigir hospitalização (CLIVER, 1994). O período de incubação oscila entre 30 minutos e oito horas, porém, na maioria dos casos, os sintomas aparecem entre duas e quatro horas após a ingestão do alimento contaminado (BORGES, et al., 2008).

A ação emética, sintoma observado com maior frequência na intoxicação estafilocócica, parece ter sítios localizados no intestino. O estímulo, transferido pelo nervo vago ao centro do vômito, induz a retroperistalsia do estômago e do intestino delgado, provocando vômitos intensivos (BALABAN e RASOOLY, 2000; DINGES et al., 2000). A ação diarreica constitui o segundo sintoma mais comum. Embora seu mecanismo de ação ainda não esteja bem esclarecido, causa inflamação e irritação da mucosa do estômago e intestino delgado (DINGES et al., 2000).

2.2.2. Staphylococcus metilina resistente

O *S. aureus*, do ponto de vista da saúde pública, destaca-se como o agente mais importante, de maior ocorrência nos rebanhos mundiais e de tratamento mais difícil, em razão da elevada resistência aos antibióticos. A aquisição sucessiva de resistência à maioria das classes de agentes antimicrobianos, tais como, penicilinas, macrolídeos, aminoglicosídeos, cloranfenicol e tetraciclina tem tornado o tratamento e o controle de infecções estafilocócicas altamente difícil (GILL et al., 2005).

A utilização largamente difundida de metilina e outras penicilinas semissintéticas no final dos anos 60 induziu à emergência de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina

(MRSA), que continua a persistir tanto em ambientes hospitalares como na comunidade (STEVENSON, 2003). Até 1980, os relatos de MRSA consistiam em casos isolados, mas após 1982 cepas epidêmicas foram descritas como multirresistentes, com capacidade de colonizar e causar surtos de infecções em todo o mundo, tornando-se uma causa amplamente conhecida de morbimortalidade (RANA e SHRIVASTAVA, 2011).

Mais de 60% dos isolados de *S. aureus* são resistentes a meticilina e alguns isolados têm desenvolvido resistência a mais de 20 diferentes agentes antimicrobianos (PAULSEN et al., 1997). Segundo Raygada e Levine (2009) aproximadamente 70% dos *S. aureus* isolados de pacientes em unidade de terapia intensiva (UTI) são MRSA, demonstrando o enorme risco à saúde pública que esses agentes representam, por acarretar altas taxas de morbidade e mortalidade. Deve-se ressaltar também que as infecções causadas por MRSA apresentam alto índice de letalidade, muito superior ao que ocorre em infecções estafilocócicas causadas por cepas não resistentes (SALES e SILVA, 2012).

O termo MRSA refere-se a isolados que são resistentes aos antibióticos β -lactâmicos (incluindo as penicilinas e as cefalosporinas). Caracterizam-se como cepas que possuem o gene *mecA* ou demonstram uma concentração inibitória mínima (CIM) à oxacilina mais alta do que 4 mg/L. O gene *mecA* é responsável pela codificação da proteína de ligação à penicilina (PBP2a) que funciona como um alvo alternativo resistente à inibição pelo antibiótico, permitindo a formação da camada de peptídeoglicano da parede celular, impedindo a morte bacteriana (CERQUEIRA e ALMEIDA, 2013). Segundo Ciftci et al. (2009) um dos principais mecanismos de resistência a antibióticos β -lactâmicos é β -lactamase produzida por estafilococos. Esta enzima hidrolisa o anel betalactâmico e provoca a inativação do antibiótico.

MRSA foi isolado pela primeira vez em animais criados para alimentação humana em 1972, a partir de casos de mastite em vacas leiteiras na Bélgica (CERQUEIRA e ALMEIDA, 2013). O contato direto do homem com os animais, a exposição às fontes ambientais contaminadas com resíduos da produção pecuária e, principalmente, os alimentos de origem animal, como o leite e seus derivados, constituem meios de transferência deste patógeno para humanos (RAJALA-SCHULTZ et al., 2004).

Weese et al. (2006), afirmaram que o MRSA tem tido um papel cada vez mais importante como causador de infecções e vem sendo considerado por muitos pesquisadores

como “patógeno emergente”, devido ao crescente aumento de infecções ocasionadas por este microrganismo em animais na área de medicina veterinária. Pantosti (2012), afirma que MRSA tem sido diagnosticado como um agente etiológico de potencial zoonótico, sugerindo que animais de companhia e de produção podem servir como reservatórios do microrganismo ocasionando infecções em humanos.

MRSA tem sido relatado em mastite bovina (VANDERHAEGHEN et al, 2010; HUSSAIN et al, 2013). Segundo Cerqueira e Almeida (2013) o maior percentual de isolamento de MRSA por alimento de origem animal foi relatado em amostras de hambúrgueres embalados (22,3%), seguido de leite de mastite bovina (17,2%). Em bovinos, este microrganismo tem sido diagnosticado, principalmente em amostras de leite provenientes de casos de mastite, que pode, conseqüentemente, ser veiculado pelos produtos lácteos (MATOS, 2014). Vanderhaeghen et al. (2010) evidenciaram que quase 10% das 118 cepas de *S. aureus*, isolados de quartos mamários de vacas com mastite subclínica em rebanhos da Bélgica, eram MRSA.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mastite subclínica causada pelo *Staphylococcus aureus* gera grandes perdas econômicas ao produtor rural, principalmente pela redução na produção de leite, aliado as características silenciosas da doença e ao desconhecimento da mesma. Secundariamente a indústria de laticínios também apresenta perdas, em virtude da diminuição da qualidade do leite recebido e conseqüentemente, de seus derivados.

O *Staphylococcus aureus* além de ser o principal microrganismo responsável pela mastite subclínica, também está envolvido em surtos de infecção alimentar estafilocócica em humanos, sendo considerada uma das principais causas de gastroenterite em todo mundo. Contudo, apesar da importância, os estudos relacionando o *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) proveniente de leite e derivados, e seus impactos na saúde pública ainda são escassos, o que dificulta a adoção de medidas de controle efetivas.

A conscientização dos produtores é de extrema importância para reduzir os prejuízos causados pela mastite subclínica causada pelo *Staphylococcus aureus*, pois com o conhecimento a respeito da enfermidade, medidas poderão ser tomadas no intuito de prevenir e controlar a doença no rebanho e conseqüentemente produzir um produto final de qualidade, garantindo assim segurança alimentar adequada e prevenindo problemas à saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

- ALVES, L. M. C.; AMARAL, L. A.; CORRÊA, M. R.; SALES, S. S. Qualidade microbiológica do leite cru e de queijo de coalho comercializados informalmente na cidade de São Luís - MA. **Pesquisa em Foco**, v.17, n.2, p.01-13, 2009.
- AMARAL, L. A.; ISA, H.; DIAS, L. T.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; NADRE FILHO, A. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.4, p.173-177, 2004.
- AMARAL, L. A.; ROMANO, A. P. M.; NADRE FILHO, A.; ROSSI JÚNIOR, O. D. Qualidade da água em propriedades leiteiras como fator de risco à qualidade do leite e à saúde da glândula mamária. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 4, p. 417-421, 2004.
- ANDRADE, L. M., EL FARO, L., CARDOSO, V. L., ALBUQUERQUE, L. G., CASSOLI, L. D., MACHADO, P. F. Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 343-349, 2007.
- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal Enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, v.61, p. 1-10, 2000.
- BAO, H.; ZHANG, H.; ZHOU, Y.; ZHANG, L.; WANG, R. Prevalence, enterotoxin gene and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from clinical healthy dairy cows. **Pakistan Veterinary Journal**. 2016.
- BARBOSA, C. P.; BENEDETTI, E.; GUIMARÃES, E. C. Incidência de mastite em vacas submetidas a diferentes tipos de ordenha em fazendas leiteiras na região do Triângulo Mineiro. **Bioscience Journal**, v.25, n.6, 0.121-128, 2009.
- BARKEMA, H. W., SCHUKKEN, Y. H., ZADOKS, R. N. Invited review: The role of cow, pathogen and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.6, p.1877–1895, 2006.
- BENEDETTE, M. F.; SILVA, D.; ROCHA, F. P. C.; SANTOS, D. A. N.; COSTA, E. A. D. AVANZA, M, F. B. Mastite bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano VI, n.11, 2008.
- BEXIGA, R.; CAVACO, L. M.; VILELA, C. L. Mastites subclínicas bovinas na zona do Ribatejo-Oeste. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.100, p.39-44, 2005.
- BHATIA, A.; ZAHOOR, S. *Staphylococcus aureus* Enterotoxins: A Review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 1, n. 2, p. 188-197, 2007.

BHATT, V. D.; SHAH, T. M.; NAURIYAL, D. S.; KUNJADIA, A. P.; JOSHI, C. G. Evaluation of a topical herbal drug for its *in vivo* immunomodulatory effect on cytokines production and antibacterial activity in bovine subclinical mastites. **AYU Journal**. V.35, p.198-205, 2014.

BHUTTO, A. L., MURRAY, R. D., WOLDEHIWET, Z. Udder shape and teat-end lesions as potential risk factors for high somatic cell counts and intra-mammary infections in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v.183, p.63-67, 2010.

BORGES, M. F.; ARCURI, E. F.; PEREIRA, J. L.; FEITOSA, T.; KUAYE, A. Y. Staphylococcus enterotoxigênicos em leite e produtos lácteos, suas enterotoxinas e genes associados: Revisão. **B.CEPPA**, v.26, n.1, p.71-86, 2008.

BORTOLAMI, A., FIORE, E., GIANESELLA, M., CORRÒ, M., CATANIA, S., MORGANTE, M. Evaluation of the udder health status in subclinical mastitis affected dairy cows through bacteriological culture, somatic cell count and thermographic imaging. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v.18, n.4, p.799-805, 2015.

BOSS, R., NASKOVA, J., STEINER, A., GRABER, H. U. Mastitis diagnostics: quantitative PCR for *Staphylococcus aureus* genotype B in bulk tank milk. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.128-137, 2011.

BOTARO, B. G.; CORTINHAS, C. S.; DIBBERN, A. G.; SILVA, L. F. P.; BENITES, N. R.; SANTOS, M. V. *Staphylococcus aureus* intramammary infection affects milk yield and SCC of dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v.47, p.47-61, 2015.

BRASIL. Instrução normativa nº. 62, de 30 de dezembro de 2011. **Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite**. Diário Oficial da União, Brasília, Seção1, p. 6, 30 de dezembro de 2011.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S.; BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do “Califórnia Mastite Test” como recurso diagnostico da mastite subclínica em relação a contagem de células somáticas. **Pequisa Veterinária Brasileira**, v.17, n.2, p.49-53, 1997.

CARDOSO, H. F. T.; CARMO, L. S.; SILVA, N. Detecção da toxina-1 da síndrome do choque tóxico em amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, p. 7-10, 2000.

CERQUEIRA, E. S.; ALMEIDA, R. C. C. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) em alimentos de origem animal: uma revisão sistemática. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v.72, n.4, p.268-81, 2013.

CIFTCI, A.; FINDIK, A.; ONUK, E. E.; SAVASAN, S. Detection of methicillin resistance and slime factor production of *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, p.254-261, 2009.

CLIVER, D. O. **Foodborne disease handbook: diseases caused by bacteria**. New York: Marcel Dekker, 1994. 613p.

COENTRÃO, C. M.; SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; PAIVA E BRITO, M. A. V.; LILENBAUM W. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.2, p.283-288, 2008.

COLDEBELLA, A. **Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas**. 2003. 99f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

COSTA, E.O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**. v.1, n.1, p.3 - 9, 1998.

COULON, J. B., GASQUI, P., BARNOUIN, J., OLLIER, A., PRADEL, P., POMIES, D. Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. **Animal Research**, v.51, n.5, p.383–393, 2002.

CUNHA, R. P. L.; MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. U.; FACUTY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M.; GENTILINI, M. B. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.1, p.19-24, 2008.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STANFORD, T. L. M. Staphylococcus enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.3, p. 263-271, 2002.

DETILLEUX, J.; THERON, L.; DUPREZ, J. N.; REDING, E.; MOULA, N.; DETILLEUX, M.; BERTOZZI, C.; HANZEN, C.; MAINIL, J. Mediation analysis to estimate direct and indirect milk losses associated with bacterial load in bovine subclinical mammary infections. **The Animal Consortium**, p.1-7, 2016.

DEMEU, F. A. **Simulação do impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros**. 2009. 192f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal de Lavras, Lavras.

DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinaria Brasília**, v.1, n.1, p.23-27, 2007.

DIAS, R. S.; DUARTE, V. S.; FAVARO, V. L. B.; MANTOVANI, H. C.; SILVA, C. C.; SILVA, E. A. M.; OLIVEIRA, L. L.; DE PAULA, S. O. Conscientização dos produtores de leite da zona da mata mineira sobre métodos de prevenção da mastite bovina e isolamento dos seus agentes etiológicos. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v.1, n.2., p.96-100, 2011.

DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M. **Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews***. v.13, n.1, p.16-34, 2000.

DINGWELL, R.T.; LESLIE, K.E.; SCHUKKEN, Y.H.; SARGEANT, J.M.; TIMMS, L.L. Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. ***Canadian Veterinary Journal***, v.44, p.413-416, 2003.

DINGWELL R. T., LESLIE K. E., SCHUKKEN Y. H., SARGEANT J. M., TIMMS L. L., DUFFIELD T. F., KEEFE G. P., KELTON D. F., LISSEMORE K. D.; CONKLIN J. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. ***Preventive Veterinary Medicine***, v.63, p.75-89, 2004.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.; STÖBER, M. **Exame Clínico dos Bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan SA, 1993. p.306.

DOHOO, L.; SMITH, R.; ANDERSEN, S.; KELTON, D. F.; GODDEN, S. Diagnosing intramammary infections: Evaluation of definitions based on a single milk sample. ***Journal of Dairy Science***, v.94, p.250-261, 2011.

EMBRAPA. Agencia de informação Embrapa. Brasília, DF. **Agronegócio do leite: Mastite**. 2007. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_202_21720039247.html> Acesso em: 05 de julho de 2016.

ENDO, Y.; YAMADA, T.; MATSUNAGA, K.; HAYAKAWA, Y.; KAIDOH, T.; TAKEUCHI, S. Phage conversion of exfoliative toxin A in *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis. ***Veterinary Microbiology***, v. 96, p. 81- 90, 2003.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intra-mamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e sua implicações em saúde pública. ***Ciência Rural***, v.3, n.4, p.1315-1320, 2004.

FERREIRA, L. M.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, E.; ZAFALON, L. F.; SOUZA, V. Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. ***Ciência Rural***, v.36, n.4, p.1228-1234, 2006.

FRANCOZ D, B., BERGERON, L., NADEAU M, BEAUCHAMP G. Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Quebec. ***Canadian Veterinary Journal***, v. 3, p.1071-1078, 2012.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000, p.174.

FUEYO, J. M.; MENDONZA, M. C.; ALVAREZ, M. A.; MARTÍN, M. C. Relationships between toxin gene content and genetic background in nasal carried isolates of *Staphylococcus aureus* from Asturias, Spain. ***FEMS Microbiology Letters***, v. 243, p. 447-454, 2005.

GILL, S. R. et al. Insights on Evolution of Virulence and Resistance from the Complete Genome Analysis of an Early Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strain and a Biofilm-Producing Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis* Strain. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 7, p. 2426-2438, 2005.

GRATIAN, K. K. **Food safety in milk markets of smallholder farmers in Tanzania: a case of peri urban wards in Temeke municipality**. 2011. 103f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição Humana), Universidade Agrícola de Sokoine, Morogoro, Tanzânia.

HACHEM, N. I. MASTITE BOVINA: **Descrição dos tipos mais frequentes e métodos de prevenção e tratamento visando a melhoria da qualidade do leite e saúde dos rebanhos**. 2005. Dissertação (Pós-Graduação Lato Sensu em Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado) UFLA - Lavras – MG, 2005.

HALASA, T.; HUIJPS, K.; OSTERAS, O.; HOGEVEEN, H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. **Veterinary Quarterly**, v. 29, n.1, p.18-31, 2007.

HUSSAAIN, R.; JAVED, M; KHAN, A.; T.; MUHAMMAD, G. Risks factors associated with subclinical mastitis in water buffaloes in Pakistan. **Tropical Animal Health and Production**. V. 45, p. 1723-1729, 2013.

IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa pecuária municipal - 2015**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> Acesso em: 11/11/2016.

JONES, T. O.; WIENEKE, A. A. Staphylococcal toxic shock syndrome. **Veterinary Record**, v. 25, p. 435- 436, 1988.

JORGE, A.M.; ANDRIGHETTO, C.; STRAZZA, M.R.B.; CORREA, R.C.; KASBURGO, D.G.; PICCININ, A.; VICTORIA, C.; DOMINGUES, P.F. Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) do Leite de Búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2039-45, 2005.

KARIMURIBO, E. D.; FITZPATRIC, J. L.; SWAI, E. S.; BELL, C.; BRYANT, M. J., OGDEN, N. H.; KAMBARAGE, D. M.; FRENCH, N. P. Prevalence of subclinical mastitis and associated risk factors in smallholder dairy cows in Tanzania. **Veterinary Records**, 163(1):16-21, 2008.

KREWER, C. C.; LACERDA, I. P. S.; AMANSO, E. S.; CAVALCANTE, N. B.; PEIXOTO, R. M.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; COSTA, M. M.; MOTA, R. A. Etiology, antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus* spp. and risk factors associated with bovine mastitis in the states of Bahia and Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.5, p.601-606, 2013.

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

LANGONI, H.; PENACHIO, D. S.; CITADELLA, J. C. C.; LAURINO, F.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; LUCHEIS, S. B.; MENOZZI, B. D.; SILVA, A. V. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.12, p.1059-1065, 2011.

LEENALITHA, P.; PETER, M. (2007). **Signal Amplification and Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins in Foods**. 2007. Disponível em [http://www.ansi.okstate.edu/research/research-reports-1/2007/panneerseelan_008.pdf]. Visitado em 14/06/2016.

LOPES, M. A.; DEMEU, F. A.; ROCHA, C. M. B. M.; COSTA, G. M.; FRANCO NETO, A.; SANTOS, G. Avaliação do impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros. **Arquivo de Instituto Biológico.**, v.79, n.4, p.477-483, 2012.

LUZ, I. S. **Caracterização molecular das toxinas em *Staphylococcus aureus* isolados de leite e queijo de coalho em municípios da região agreste de Pernambuco**. 2008. 126f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), Centro de Pesquisas Ageu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife.

MADOUASSE, A, BROWNE, W. J.; HUXLEY, J. N.; TONI, F.; BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J. Risk factors for a high somatic cell count at the first milk recording in a large sample of UK dairy herds. **Journal of Dairy Science**. V.95, p.1873-1884, 2012.

MAGALHÃES, H. R.; FARO, L. E.; CARDOSO, V. L.; PAZ, C. C. P.; CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.415-421, 2006.

MAKOVEC, J.A.; RUEGG, P.L. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3466-3472. 2003.

MARTIN, M. C. FUEYO, J. M.; GONZALÉZ-HEVIA, M. A.; MENDONZA, M. C. Genetic procedures for identification of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* from three food poisoning outbreaks. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 279-286, 2004.

MATOS, R. A. T. **Resistência à meticilina em estafilococos coagulase positivos e negativos causadores de infecções em animais de companhia e animais de produção**. 2014. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Campina Grande.

- MATTOS, M. R. **Qualidade do leite cru produzido na região agreste de pernambuco e atividade antagonista de bactérias ácido lácticas contra *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus***. 2008. 56f. Tese (Doutorado em Sanidade Animal), Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- MEAD, P. S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAIG, L. F.; BRESEE, J. S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P. M.; TAUXE, R. V. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, p. 607-625, 1999.
- MENDES, E. S.; LIMA, E. C.; NUMERIANO, A. K. M.; COELHO, M. I. S. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e coliformes em queijos de “coalho” comercializados em Recife. **Higiene Alimentar**, v.13, n.66/67, p.122-126, 1999.
- NOUT, M. J. R. Fermented foods and food safety. **Food Research International**, v. 27, n. 7, p. 291-298, 1994.
- OLIVEIRA, J. L. P.; KOZERSKI, N. D.; SILVA, D. R.; SILVA, A. V.; MARTINS, L. A. Fatores de risco para mastite e qualidade do leite no município de Altônia –PR. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zootecnia**, v. 16, n. 1, p. 61-72, 2013.
- OLSEN, S. J.; MACKINON, L. C.; GOULGING, J. S.; SLUTSKER, L. Surveillance for foodborne disease outbreaks, 1992-1997. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.49, n.1, p.1-51, 2000.
- PANTOSTI, A. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. **Front Microbiology**, v.3, n. 127, 2012.
- PARKER, K.I., COMPTON, C., ANNISS, F.M., WEIR, A., HEUER C., MCDUGALL, S. Subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant pre-calving. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.207-18, 2007.
- PAULSEN, I. T.; FIRTH, M.; SKURRAY, R. A. Resistance to antimicrobial agents other than β -lactams. In: CROSSLEY, K. B.; ARCHER, G. L. (Ed.). **The Staphylococci in Human Disease**. New York: Churchill Livingstone, 1997. p. 175-212.
- PEELER, E. J.; GREEN, M. J.; FITZPATRICK, J. L. et al. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.2464-2472, 2000.
- PHILPOT, W.N. Qualidade do leite e controle de mastite: passado, presente e futuro. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2., 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto, 2002. p.23- 38.
- PINTO, F. G. S.; SOUZA, M.; SALING, S.; MOURA, A. C. Qualidade microbiológica de queijo minas frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, v.78, n.2, p.191-198, 2011.

RADOSTITS O, M., GAY C. C., HINCHCLIFF K. W. CONSTABLE P. D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.** 10. ed., London, Saunders Company, 2007. 673 p.

RAJALA-SCHULTZ, P. J.; SMITH, K. L.; HOGAN, J. S.; LOVE, B. C. Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. **Veterinary Microbiology**, p. 33-42, 2004.

RANA, N.; SHRIVASTAVA S. Comparative study of antimicrobial activity of different plants against multi drug resistant pathogen *Staphylococcus aureus* ATCC242 isolated from burnt patients and the effect of different binary combination of antimicrobial plant extracts. **Journal of Food Safety**, v.13, p.88-92, 2011.

RAYGADA, J. L.; LEVINE, D. P. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A growing risk in the hospital and in the community. **Am Health Drug Benefits**. V.2, p.86-95, 2009.

REIS, C. B. M.; BARREIRO, J. R.; MESTIERI, L. PORCINATO, M. A. F.; SANTOS, M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. **BMC Veterinary Research**, v.9, n.67, p.2-7, 2013.

RENEAU, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.1708-1720, 1986.

RIBEIRO, A. C.; QUEIROZ, S. A.; BARBOSA, R. S.; ZANELA, M. B.; GOMES, J. F.; STUMPF JUNIOR, W.; SCHRAMM, R. Ocorrência de mastite causada por *nocardia spp.* em rebanhos de unidades de produção leiteira no sul do rio grande do sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.4, p.471-473, 2006.

RIBEIRO JÚNIOR, E.; SILVA, M. H.; VIEGAS, S. A. A.; RAMALHO, E. J.; RIBEIRO, M. D.; OLIVEIRA, F. C. S.; California Mastitis Test (CMT) e whiteside como métodos de diagnóstico indireto da mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.**, v.9, n.4, p.680-686, 2008.

RYAN, K.J., RAY, C.G. (Eds.)(2004). **Sherris Medical Microbiology McGraw Hill**, UK. 733pp.

SÁ, M. E. P.; CUNHA, M. R. L. S.; ELIAS, A. O.; LANGONI, C. V. H. Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.41, p.320-326, 2004.

SALES, L. M.; SILVA, T. M. *Staphylococcus aureus* metilina resistente: um desafio para a saúde pública. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v.3, n.1, 2012.

SANTOS, M. C. **Curso sobre manejo de ordenha e qualidade do leite.** VilaVelha: UVV, 2001. 57p.

SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L.; BALLOU, M. A.; HIGGINBOTHAM, G. E.; KIRK, J. H. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.80, p.31-45. 2004.

SANTOS, M. V.; MA, Y.; BARBANO, D. M. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. **Journal of Dairy Science**. v.86, n.8, p.2491-2503, 2003.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Malone, 2001. 313 p.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199-207, 1957.

SCHMITT, M.; SCHULER-SCHMID, U.; SCMIDT-LORENZ, W. Temperature limits of growth, TNase, and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. **International Journal of Food Microbiology**. V.11, p.1-19, 1990.

SCHUKKEN, Y. H.; WILSON, D. J.; WELCOME, F.; GARRISON-TINOFKY, L.; GONZALES, R. N. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. **Vet Res**, v.34, p.579-596, 2003.

SCHUTZ, M. M.; HANSEN, L. B.; STEUERNAGEL, G. R. Variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.484-493, 1990.

SILVA, M. V. M.; NOGUEIRA, J. L.; PASSOS, C. C.; FERREIRA, A. O.; AMBRÓSIO, C. E. A mastite interferindo no padrão de qualidade do leite: uma preocupação necessária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano VIII, n.14 ,2010

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. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p.701-711, 2012.

SMITH, A. J.; JACKSON, M. S.; BAGG, J. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. **Journal of Medical Microbiology**, v. 50, n. 11, p. 940-946, 2001.

SONDERGAARD, E.; SORENSEN, M. K.; MAO, I. L.; JENSEN, J. Genetic parameters of production, feed intake, body weight, body composition, and udder health in lactating dairy cows. **Livestock Production Science**, v.77, p.23-34, 2002.

SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; MOREIRA, E.C. et al. Fatores de risco para alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, supl.2, p.251-260, 2005.

SU, Y. C.; WONG, A. C. L. Current Perspectives on Detection of Staphylococcal Enterotoxins. **Journal of Food Protection**, v. 60, p. 195-202, 1997.

TESFAYE, G., REGASSA, F., KELAY, B. Milk yield and associated economic losses in quarters with subclinical mastitis due to *Staphylococcus aureus* in Ethiopian crossbred dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, n.5, p.925–931, 2010.

TIGRE, D. M.; BORELLY, M. A. N. Pesquisa de Estafilococos coagulase-positiva em amostras de "queijo coalho" comercializadas por ambulantes na praia de Itapuã (SALVADOR-BA). **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.10, n.2, p.162-166, 2011.

UNGER, F.; MUNSTERMANN, S. Assesment of the impact of zoonotic infections in selected regions of The Gambia, Senegal, Guinea and Guinea Bissau – A Scoping study. **DFID, Animal Health Programme**, Banjul, the Gambia, 2004.

WEESE, J. S.; DICK, H.; WILLEY, B. M.; McGEER, A.; KREISWIRTH, B. N.; INNIS, B.; LOW, D. E. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. **Veterinary Microbiology**, v.115, p. 148–155, 2006.

WONG, A. C. L.; BERGDOLL, M. S. **Staphylococcal food poisoning**. 2.ed. London: Elsevier, 2002.

VANDERHAEGHEN, W; CERPENTIER T; ADRIAENSEN, C, VICCA J, HERMANS K; BUTAYE, P. Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. **Veterinary Microbiology**, v.144: 166-171, 2010.

VILAS BOAS, D. F. **Associações entre a condutividade elétrica e as características produtivas e de qualidade do leite em vacas da raça Gir Leiteiro**. 2013. 95f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável), Instituto de Zootecnia APTA/SAA, Nova Odessa.

ZAFALON, L. F. **Mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus*: qualidade e quantidade de leite secretado por quartos tratados e não tratados e relação custo/benefício do tratamento durante a lactação**. 2003. 79f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil.

ZAFALON, L. F.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D. Mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*: custo-benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.3, p.577-585, 2007.

ZECCONI, A., BINDA, E., BORROMEO, V., PICCININI, R. Relationship between some *Staphylococcus aureus* pathogenic factors and growth rates and somatic cell counts. **Journal of Dairy Research**, v.72, n.2, p.203–208, 2005.