

RANNIERI FACUNDO DE ALMEIDA

**IDENTIFICAÇÃO DE MASTITE BOVINA E SEUS AGENTES
CAUSADORES EM VACA DE ALTA PRODUÇÃO DE LEITE -
RELATO DE CASO**

**GARANHUNS-PE
2019**

RANNIERI FACUNDO DE ALMEIDA

**IDENTIFICAÇÃO DE MASTITE BOVINA E SEUS AGENTES CAUSADORES EM
VACA DE ALTA PRODUÇÃO DE LEITE - RELATO DE CASO**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Medicina Veterinária da Unidade
Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal
Rural de Pernambuco como parte dos requisitos
exigidos para obtenção do título de graduação em
Medicina Veterinária.**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. VITOR NETTO
MAIA**

**GARANHUNS-PE
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

D278 Almeida, Rannieri Facundo de
Identificação de mastite bovina e seus agentes causadores em vaca de alta produção de leite - Relato de caso / Rannieri Facundo de Almeida. - 2019.
47 f.

Orientador: Victor Netto Maia.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Medicina Veterinária, Garanhuns, 2019.

1. Infecção. . 2. Úbere. 3. Tratamento. 4. Ablação. 5. Descarte. I. Maia, Victor Netto, orient. II. Título

CDD 636.089

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**IDENTIFICAÇÃO DE MASTITE BOVINA E SEUS AGENTES CAUSADORES EM
VACA DE ALTA PRODUÇÃO DE LEITE - RELATO DE CASO**

Trabalho de conclusão de curso elaborado por:

RANNIERI FACUNDO DE ALMEIDA

Aprovada em: 12/12/2019

BANCA EXAMINADORA

ORIENTADOR: Prof. Victor Netto Maia
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

Profa. Dra. Elizabel Oliveira Silva de Melo
Professora e Pesquisadora – ITEP CT- LATICINIOS

Mariana Vasconcelos Camelo
Zootecnista - CRMV
Técnica de campo – SENAR/PE

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

FOLHA COM A IDENTIFICAÇÃO DO ESO

I. ESTAGIÁRIO

NOME: Rannieri Facundo de Almeida

CURSO: Medicina Veterinária

PERÍODO LETIVO: 2019.2

ENDEREÇO PARA CONTATO: Av. Rotary, 279, 1º Andar, Santo Antônio, Garanhuns/PE.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Vitor Netto Maia

SUPERVISOR: Rodolpho Rocha Juventino

FORMAÇÃO: Médico Veterinário

II. EMPRESA/INSTITUIÇÃO

NOME: Fazenda Paulista

ENDEREÇO: BR 423, Zona Rural, Garanhuns - PE

CIDADE/ESTADO: Garanhuns - PE

CEP: 55.293-000

III. FREQUÊNCIA

INÍCIO E TÉRMINO DO ESTÁGIO: 12/08/2019/ a 25/10/2019

TOTAL DE HORAS ESTAGIADAS: 405 horas

Dedico este trabalho a toda minha família. Minha Esposa Poliana, meu Filho Felipe, e minhas Filhas Laura e Júlia. Aos meus pais, e amigos, enfim a todos que de uma forma ou de outra se sentiram usurpados no direito do meu convívio em razão da dedicação necessária para a conclusão deste Curso inimaginavelmente sonhado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que sempre esteve no comando de tudo, por mais essa conquista, sofrida e batalhada, proporcionando-me a satisfação de concluir esse tão sonhado curso;

A todos os colegas de turma, que na correria da vida de Pai de Família, trabalhador e estudante, de alguma forma contribuíram para o término desse feito;

Aos professores, alguns mais que outros, sejam àqueles que abraçaram a minha situação diferenciada, ou até mesmo àquela que olhando nos meus olhos simplesmente disse: “... ou você trabalha ou você estuda, não dá pra querer os dois...”, mas que de alguma forma contribuíram na formação deste, como profissional, e mais ainda como ser humano, e em especial a professora Elizabete que foi de fundamental importância na confecção deste trabalho de conclusão de curso, que, na sua forma peculiar de ser, não poupou dedicação a este estudante todas as vezes que o mesmo a procurou;

A meu Pai Lourival Almeida e minha Mãe Lourdes Facundo, pelas vezes que os acionei para um socorro imediato em virtude do curso ou do trabalho e de pronto atendimento em um piscar de olhos se apresentavam para o cumprimento da missão que lhes era dada;

Agradeço *in memoriam*, ao amigo Sr. Alceu Cardoso, pelas vezes que se colocou na posição de “meu pai” para me aconselhar e não me deixar fraquejar nem desistir, bem como a sua filha Alcione, uma pessoa que Deus botou em nossa família desde o início do curso;

Por fim, agradeço de uma forma mais que especial a minha esposa Poliana, e meus filhos Felipe, Laura e Julia Moreira, pela ausência necessária, pelas vezes que os coloquei em segundo plano, pelas situações indesejadas causadas em detrimento do presente curso, enfim, por tudo que fiz durante esses cinco anos e meio que os fizeram aceitar compulsoriamente a lacuna deixada por mim em detrimento do objetivo de concluir essa Graduação.

A estes, a minha Gratidão!

“SEUS SONHOS DETERMINAM O QUE VOCÊ QUER, PORÉM SOMENTE SUAS ATITUDES SERÃO CAPAZES DE DETERMINAR O QUE VOCÊ VAI CONSEGUIR.”

“autor desconhecido.”

RESUMO

A inflamação mamária proveniente de microrganismos causadores de mastites ambientais é um dos grandes motivos que levam o produtor de leite a ter que efetuar o descarte precoce de animais, causando duros prejuízos econômicos às propriedades que participam desse nicho produtivo, e quando se trata de vacas de alta produção a perda financeira suportada se torna ainda maior. A identificação do microrganismo, bem como a brevidade no atendimento é pré-requisito para obtenção de sucesso no tratamento. O presente estudo relata uma vaca leiteira de altodesempenho, produtora de 42 (quarenta e dois) quilos de leite, que após acometida por *Staphylococcus aureus* e *Trueperella pyogenes* teve sua produção reduzida a 8 (oito) quilos de leite diários, que eram direcionados ao descarte. Efetuou-se tratamento medicamentoso que não surtiu efeito desejado o que culminou com a necessidade de praticada ablação química do quarto mamário acometido pela infecção e direcionamento do animal ao descarte da propriedade, reduzindo-se a importância de um animal, que no auge da produção valeria algo em torno de R\$ 9.000,00 (nove mil reais), ao valor de descarte de aproximadamente 50% do seu valor real, a preço de arroba de boi gordo, haja vista o descarte ser feito para produção de carne.

Palavras-chaves: Infecção. Úbere. *Bactérias*. *Tratamento*. *Ablação*. *Descarte*.

LISTAS DE FIGURAS

	Págs.
Figura 1: Fazenda da realização do ESO. Fonte: Arquivo Pessoal, 2019.	13
Figura 2: Anatomia das glândulas mamárias, vista dos ligamentos. Fonte: pt.slideshare.net	18
Figura 3: Estrutura alveolar. Fonte: jerseyguatemala.com	19
Figura 4: Circulação Sanguínea da glândula mamária. Fonte: contextoganadero.com.....	20
Figura 5: Inervação e tecidos do úbere. Fonte: Fonseca & Santos, 2001.	20
Figura 6: Vaca Guzolando Relata. Fonte: Arquivo Pessoal, 2019.	30
Figura 7: Teste da caneca de fundo preto, grumos no leite do teto esquerdo (A); leite normal nos outros tetos (B). Fonte: Arquivo Pessoal, 2019.	31
Figura 8: Teste do CMT, vista da raquete com mastite subclínica (A); vista da raquete com leite do teto com mastite clínica (B). Fonte: Arquivo Pessoal, 2019.....	32

LISTA DE TABELAS

Págs.

Tabela 1: Atividades desenvolvidas e/ou acompanhadas, no manejo Reprodutivo no período de 12/08/19 a 25/10/19	15
Tabela 2: Atividades desenvolvidas e/ou acompanhadas, no manejo Sanitário no período de 12/08/19 a 25/10/19.	15
Tabela 3: Relação entre CMT e CCS/mL/leite.....	25

Sumário

CAPÍTULO 1 – DESCRIÇÃO DO LOCAL E ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)	133
1.1 Atividades desenvolvidas durante o Estágio Supervisionado Obrigatório - ESO.....	133
1. INTRODUÇÃO	166
2. REVISÃO DE LITERATURA	188
2.1 Fisiologia da Glândula Mamária	188
2.3 Mecanismo de Defesa da Glândula Mamária.....	233
2.4 Diagnósticos	233
2.5 Tratamento e Controle.....	266
3. RELATO DE CASO	309
4. MATERIAL E MÉTODOS	333
4.1 Local e Período de coleta da amostra.....	333
4.3 Procedimentos de coleta do leite para o exame microbiológico	333
4.3 Procedimentos de meios de culturas microbiológicas.....	344
4 RESULTADOS E DISCURSÃO.....	366
CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

CAPÍTULO 1 – DESCRIÇÃO DO LOCAL E ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)

O estágio supervisionado obrigatório (ESO), iniciado em Agosto e finalizado em 25 de Outubro de 2019, perfazendo um total de 405 horas. O estágio foi integralmente desenvolvido numa Fazenda Produtora de Leite, que esta localizada na Zona Rural de Garanhuns – PE, sob a supervisão do Médico Veterinário Rodolpho Rocha Juventino.

A Fazenda trabalha com produção e comercialização de leite às margens da BR 423, que liga a cidade de Garanhuns a Jupí. Exclusivamente produtora de leite com sistema intensivo, utilizando-se de plantel da raça Guzolando, que são oriundos da própria propriedade e de aquisições feitas em outros criadores a nível nacional.



Figura 1: Fazenda da realização do ESO. Fonte: Arquivo Pessoal, 2019.

1.1 Atividades desenvolvidas durante o Estágio Supervisionado Obrigatório - ESO

As atividades desenvolvidas durante o período de Estágio Supervisionado estão diretamente relacionadas à produção leiteira, seja na forma de manejo nutricional, sanitário, reprodutivo, orientação á funcionários do local, situações estas que passo a descrever:

Manejo Reprodutivo:

Diariamente era efetuada avaliação dos lotes de Vacas que se encontravam no préparto buscando evitar partos em locais indevidos que comprometessem o nascimento do bezerro.

Com o parto, deviam ser cumpridos todos os protocolos, de amamentação colostrálica, natural ou assistida com uso de mamadeiras; corte e cura do umbigo, pesagem, marcação e vacinação. Tais intervenções visam o nascimento e crescimento de bezerros saudáveis e bem nutridos.

Ainda no manejo reprodutivo, participação na avaliação e implementação de protocolo reprodutivo mais adequado individualmente para cada animal, a partir da avaliação feita com auxílio do Aparelho de Ultrassonografia, toque retal, manipulação e aplicação de medicamentos, inseminação artificial com utilização de sêmen congelado, confirmação de prenhes, avaliação reprodutiva, enfim, houve a participação do procedimento completo, desde a inseminação até o parto do bezerro.

Manejo Sanitário.

Participação em tratamentos de Bezerros diagnosticados com problemas respiratórios em virtude de bronco aspiração pelo fornecimento do leite em mamadeiras, haja vista a utilização de bezerreiros individuais a partir do segundo dia de vida do bezerro, exceto em situações em que o bezerro seja retirado imediatamente do convívio com a vaca.

Amoçamento de bezerros com utilização de ferro quente, com aplicação prévia de anestesia e analgesia em respeito ao bem estar animal.

Manejo sanitário na linha de ordenha com observação, palpação, utilização de testes (teste da caneca) e exames (CMT) buscando a manutenção sanitária do rebanho e qualidade do leite produzido pela fazenda.

Orientação permanente aos funcionários responsáveis pela linha de ordenha na utilização de práticas sanitárias preventivas, tais como higiene individual dos ordenhadores, bem como do lugar da ordenha, dentre outros, que viabilizem a manutenção da saúde do rebanho, impedindo a contaminação cruzada de animais que comprometam a sanidade dos animais e do leite produzido.

Participação em atividade de urgência Médica Veterinária como lacerações, cortes, pequenas cirurgias que careçam de procedimentos de sutura.

Tabela 1: Atividades desenvolvidas e/ou acompanhadas, no manejo Reprodutivo no período de 12/08/19 a 25/10/19

Atividade	Quantidade
Palpação Retal	770
Exame Ultrasonográfico	608
Confirmações de prenhes	188
Assistência a parto	03

Tabela 2: Atividades desenvolvidas e/ou acompanhadas, no manejo Sanitário no período de 12/08/19 a 25/10/19.

Atividade	Total
Tratamento Respiratório	12
Amoçamento de bezerros	105
Realização de teste CMT/Caneca	1055
Assistência a parto	03
Protocolo Vacinal no rebanho	02
Procedimentos de Urgência	04

1 INTRODUÇÃO

Mastite uma afecção que atinge as glândulas mamárias que se caracteriza por apresentar modificações físico-químicas no leite. As alterações que são corriqueiramente observadas são: alterações de coloração, aparecimento de coágulos e presença de grande número de leucócitos (RADOSTITS, 2000).

Realizar uma correta identificação do quarto mamário acometido representa uma tarefa dificultosa, mas torne-se simples quando o indivíduo tem um conhecimento teórico – prático, e sabe identificar o fisiológico do patológico. Em sua maioria dos casos há alterações físicas demonstrando um processo inflamatório agudo, em caso de cronicidade ou incipientes, observam-se perdas econômicas, e esta situação torna uma fonte de disseminação dentro do rebanho. Além de ocasionar perdas econômicas, também ocasiona gastos com mão de obra, medicamentos, serviços veterinários e descarte precoce de animais (ROSA et al., 2018).

A etiologia da mastite pode advir de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica e infecciosa, tendo a maioria dos casos como sendo de origem infecciosa, com ênfase nas causas bacterianas, micoplasmática, micótica (fungos), por algas e leveduras, e em alguns casos por vírus (RADOSTITS et al., 2002). A mastite pode se apresentar na forma clínica e na forma subclínica. Na forma clínica e bem evidenciada pelos sinais de inflamação e anormalidades visíveis, podemos destacar como sinais: edemaciação, hipertermia, aparecimento de grumos ou flocos no leite, exsudato purulento e mudanças nas características do leite. Na forma subclínica, não se tem estes sinais bem evidenciados, o que na maioria das vezes passa despercebido pelo produtor, tratadores etc, esta é a forma mais predominante dentro dos rebanhos (SANTANA, 2018). A mastite além de ser multietiológica é multifatorial, ou seja, as vacas podem ser cometidas de forma contagiosa, através de equipamentos, utensílios contaminados, e de forma ambiental, onde o ambiente é favorável para esta contaminação. Sendo necessário caracterizar e identificar os agentes causadores da infecção, tanto para controlar como para prevenir e para o monitoramento dos rebanhos (ROSA et al., 2018).

Dentreos agentes mais encontrados nos isolamento em relação à mastite podemos citar: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), *Mycoplasma spp.*, *Corynebacterium bovis*; quando tratamos de mastites por agente ambientais podemos citar: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus*

spp., *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, leveduras, fungos, algas, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis* (LANGONI et al., 2011, ROSA et al, 2018).

Os impactos que a mastite causa na qualidade do leite são conhecidos mundialmente e os programas para controle devem ser os pilares de sustentação dos programas nacionais de qualidade do leite, e devendo este pautado em medidas preventivas, principalmente na identificação e tratamento adequado de animais infectados, este é um fator limitante e que apresenta uma grande dificuldade para ser atingido, pela complexidade da etiologia das mastites, pois no momento que se diagnostica cada caso e os aspectos de resistência microbiana (LANGONI et al., 2017).

A qualidade do leite esta diretamente relacionada à prevalência de mastite nos rebanhos e a importância no seu tratamento, assim como os aspectos relacionados com os patógenos envolvidos nas infecções intramamárias (LANGONI et al., 2017). Preconizando o que esta na legislação (IN 76 e 77 de novembro de 2018), em relação as boas praticas agropecuárias ou praticas de controle de mastite O objetivo deste é apresentar de forma sucinta sobre a mastite, seus agentes etiológicos, e principalmente, agentes oportunistas que é o caso da *Trueperella pyogenes* que foi um dos focos deste trabalho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fisiologia da Glândula Mamária

Através de melhoramento genético, pode se conseguir que vacas leiteiras produzam cada vez mais e com uma qualidade superior. Estes animais se utilizam estruturas bem desenvolvidas que são as glândulas mamárias, localizada na parte posterior do animal, localizando também úbere e os tetos, esta posição anatômica proporciona facilidade para alimentação do bezerro e para a ordenha (FONSCA & SANTOS, 2001). Úbere é dividido em quartos mamários, os quais albergam células especializadas e secretoras lácteas. Em sua anatomia está suspenso pelos ligamentos suspensórios laterais e mediais assim podem ser observados na figura 2; sustenta o peso total do úbere, e com excessivo peso pode acarretar problemas de afrouxamento destes ligamentos ou até mesmo rupturas, ocasionando problemas de lesão de teto e até as infecções. As glândulas mamárias são separadas, e não há intercomunicação; o quarto direito possui um fino tecido conjuntivo e possui apenas intercomunicação dos vasos sanguíneos. No quarto esquerdo, observa suprimento sanguíneo, nervoso e ligamentos suspensórios individuais (FONSECA & SANTOS, 2001).

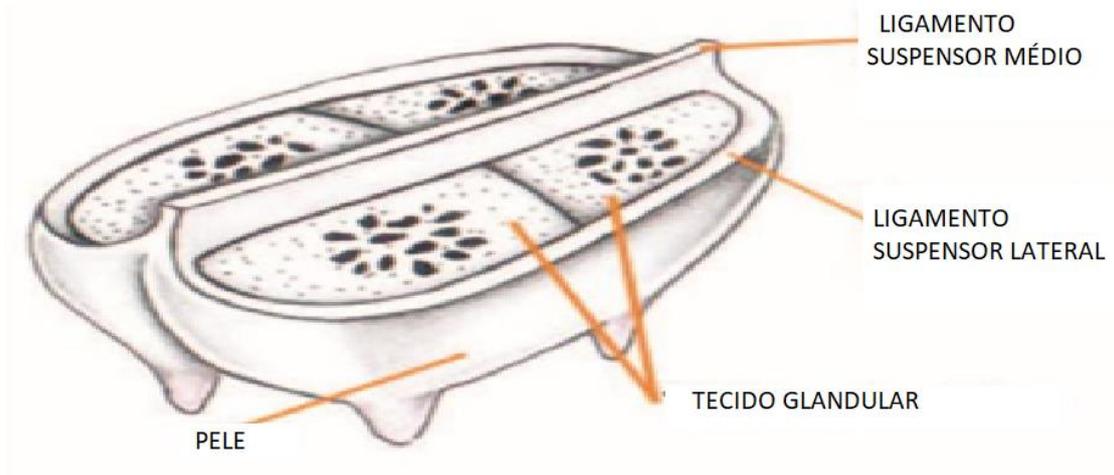


Figura 2: Anatomia das glândulas mamárias, vista dos ligamentos. Fonte: pt.slideshare.net

A glândula mamária é composta por dois tipos de tecido, o fibroso ou adiposo e o tecido secretor, justamente neste encontram-se as células epiteliais secretoras. O leite produzido é armazenado em cisternas das glândulas e drenado para cisterna do teto durante o processo de ordenha. Isto ocorre pelo sistema de ductos, onde ainda encontramos ductos

menores que sai dos alvéolos, desembocando em ductos maiores que formam lóbulos. Por sua vez os lóbulos e um conjunto de alvéolos recoberto por tecidos conjuntivos, que irão fazer a drenagem para a cisterna da glândula (FONSECA & SANTOS, 2001). O parênquima glandular é basicamente constituído por alvéolos, onde esta estrutura sintetiza e escoo o leite para o sistema de ductos; no lúmen dos alvéolos é produzido o leite pelas células secretoras, porém são as células mioepiteliais que vão estimular a ocitocina, que auxilia na descida do leite, que se alojará nas cisternas. Além de possui uma rede sanguínea e linfática que propicia a chegada de nutrientes necessários para células (FONSECA & SANTOS, 2001).

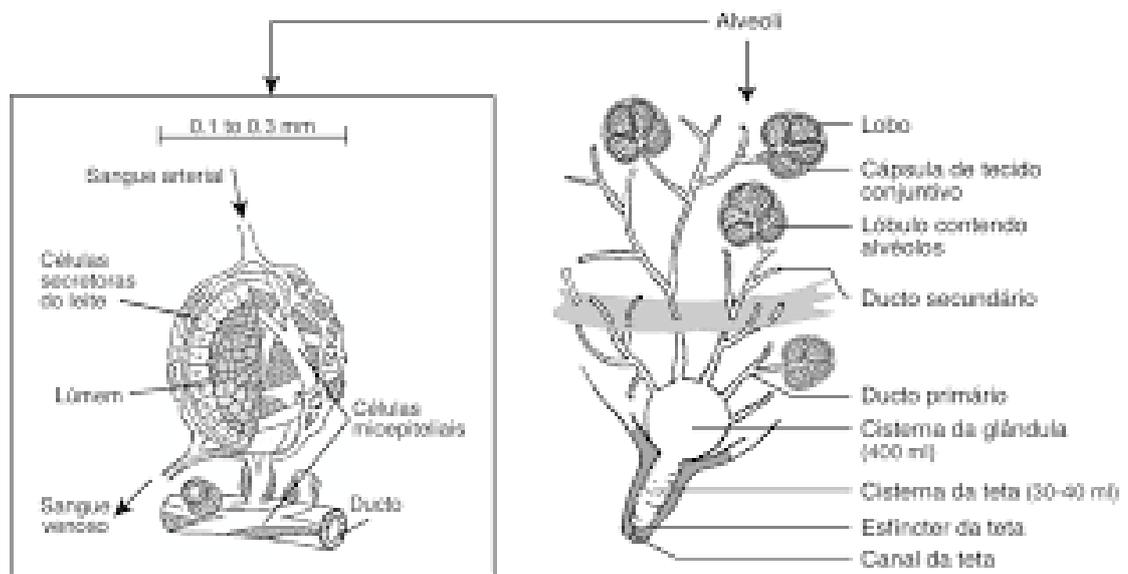


Figura 3: Estrutura alveolar. Fonte: jerseyguatemala.com

O aporte sanguíneo de fundamental importância para o transporte de nutrientes, oxigênio entre outros, estimado que para cada litro de leite seja bombeado de 300 a 500 litros de sangue para a glândula, onde este suprimento aumenta logo após o parto, e assim mesmo com a redução da produção leiteira o fluxo se mantém constante. O sistema vascular que vai para a glândula sai da cavidade abdominal pelo canal inguinal direito e esquerdo, este sistema é composto pela artéria ilíaca externa, artéria abdominal subcutânea e perineal (figura 4). (FONSECA & SANTOS, 2001)

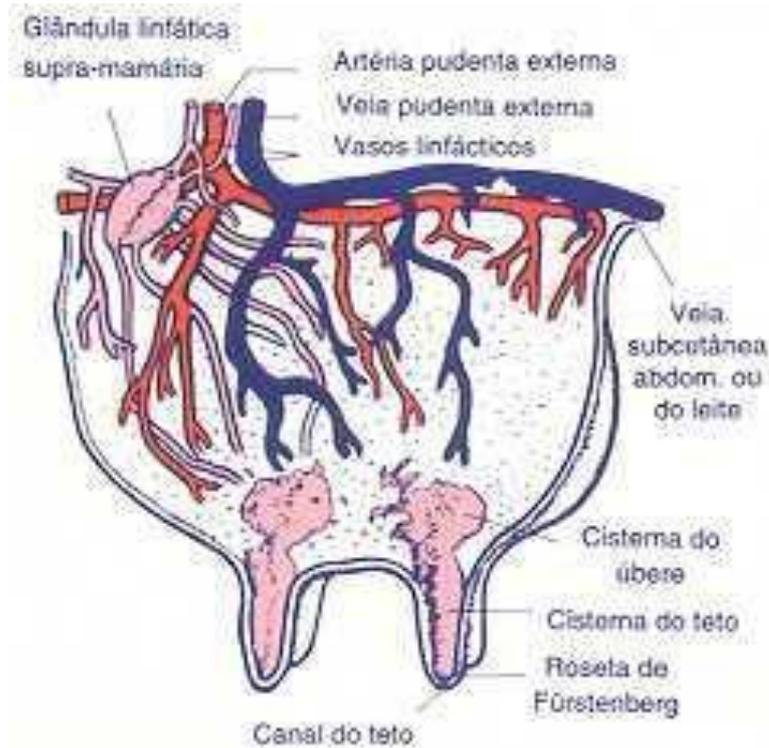


Figura 4: Circulação Sanguínea da glândula mamária. Fonte: contextoganadero.com

O sistema nervoso origina-se nos ramos lombares, passando pelo canal inguinal e chegando ao úbere. São fibras sensoriais, possuindo auxílio do sistema simpático, que controla o flux sanguíneo. Os tetos apresentam nervos sensoriais, enquanto o parênquima contém pouco ou nenhuma, e nós alvéolos não há (figura 5) (FONSECA & SANTOS, 2001).

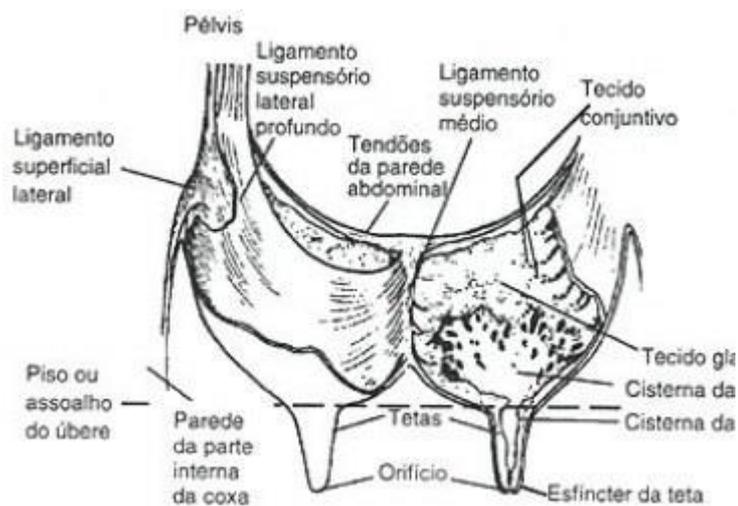


Figura 5: Inervação e tecidos do úbere. Fonte: Fonseca & Santos, 2001.

2.2 Etiologia

Diante do vasto território brasileiro e com condições climáticas tão variadas, além de diferentes sistemas de produção e a grande densidade de animais, fica simples compreender a diversidade etiológica dos causadores de mastite, tendo relevância os agentes mais pesquisados sobre a etiologia da mastite em bovinos, caprinos, ovinos e bubalinos (ACOSTA et al., 2016).

Podem-se classificar os agentes em dois grandes grupos: contagiosos e ambientais. Dos agentes contagiosos destacamos: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma species* e *Corynebacterium bovis* (BRAMLEY & DODD 1984; SMITH, 1983). Dos que são encontrados no meio ambiente, nos currais, no ambiente de ordenha são: *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Streptococcus bovis*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*; das bactérias: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes*; algas como a *Prototheca zopfii*; leveduras e fungos (OLIVER et al., 2004; KULKARNI & KALIWAL, 2013; CORBELLINI et al., 2001, BUENO et al., 2006; COSTA et al., 2012; CHAHOLA et al., 2001, PACHAURI et al., 2013, ZHOU et al., 2013). Tem-se o caso específico da *Trueperella pyogenes* que é considerado contagioso, bem como ambiental.

Staphylococcus aureus é o mais importante dentre os agentes causadores de mastites, considerando sua alta patogenicidade (HOGEVEEN et al., 2011, CONTRERAS & RODRIGUEZ 2011). Em muitas regiões o controle deste patógeno é bem rígido, pois ele coloniza o epitélio do teto, alojando-se nas células epiteliais da glândula mamária, o que torna inacessível para ação antimicrobiana. Observa-se na glândula infectada baixa produção, destruição do parênquima, formando áreas fibrosadas e microabscessos, que dificultam a defesa do úbere (RIBEIRO et al., 2016).

Staphylococcus coagulase negativos (SCN) vem sendo estudado cada vez mais pela sua alta capacidade de infecções persistentes com um aumento de CCS, além da produção de enterotoxinas. São mais frequentemente encontrados no início da lactação (GILLESPIE et al., 2009; DE FREITAS GUIMARÃES et al., 2007, SILANIKOVE et al., 2014).

Streptococcus agalactiae possui uma alta contagiosidade, tornando os animais reservatórios dentro do rebanho, onde sua transmissão será no momento da ordenha. Este patógeno não sobrevive por longo período no ambiente, ao contrário do que ocorre no ambiente glandular. A maioria das infecções por este agente é subclínica (LANGONI et al.,

2017). Importante considerar que há uma boa resposta ao antibióticos o que possibilita o controle ou até mesmo a erradicação em alguns casos (RATO et al., 2013).

Streptococcus dysgalactiae são encontrados em todos os ambientes: úbere, tetos, currais etc. Podem ser controlados de maneira simples com manejo sanitizante adequado. E tem controle moderado à ação de antibióticos (BRITO et al., 2002). Possui comportamento ambiental e contagioso, permanecendo por longo tempo no ambiente. São encontrados na forma de infecções intramamárias (HOGAN & SMITH, 2012), ocorrendo a m,infecção durante a ordenha. Ocasiona mastites persistentes e com sinais clínicos variados como febre e inflamações do úbere. O diagnóstico definitivo faz-se por meio de cultivo microbiano (LANGONII et al., 2017).

Mycoplasma bovis é uma categoria intermediaria entre vírus e bactérias, são microrganismo que não têm parede celular e são resistentes à ação antibiótica. Não há um tratamento para este patógeno, seu controle é feito evitando a entrada de animais infectados no rebanho. É um agente raro no Brasil (BRITO et al., 2002). Quando identificado no rebanho, surtos endêmicos de mastite subclínica que evoluem para crônica, podem ser transmitidas na ordenha ou entre elas, encontra-se em ambiente ubiquitário, encontrado em trato respiratório e vagina podendo causar problemas respiratórios e reprodutivos (JUNQUEIRA & LANGONI, 2016).

Das algas que podem ser causadoras de mastites tem-se a *Prototheca zopfii* que é um patógeno de contaminação ambiental, que compromete a qualidade do leite e apresenta resistência antimicrobiana, resistente à pasteurização, e tem potencial zoonótico (RIBEIRO, 2001; BUENO et al., 2006).

Dentro do grupo dos *Actinomycetales*, temos a *Trueperella pyogenes* causadores da mastite de verão nos países com estação do ano bem definidas, que pode ser transmitida por vetores (insetos, moscas etc.). São casos de mastites crônicas, d tipo abscedantes, que em alguns casos fistulam e extravasa secreção purulenta com odor fétido bem característico (LANGONI et al., 2017); apresentando variadas manifestações clínicas: pneumonia, artrite, onfaloflebite, dermatites, endometrite e endocardites além de abscessos por vários órgãos.

A mastite causada por este patógeno ocorreem novilhas, vacas em lactação e em menor proporção em vacas secas; a infecção ocorre nas primeiras semanas do pós-parto geralmente pela circulação do microrganismo no úbere e tetos, através de vetores, utensílios de ordenha contaminados e traumatismo em mamas (MOTTA et al., 2011). Domingues et al.

(2008), relata que as infecções por *T. pyogenes* são ocasionadas por lugares com falta de manejo sanitário, com acúmulo de matéria orgânica, lugares muito úmidos, como sala de ordenha, presença de dejetos, lama etc. Radostits et al., (2007), caracterizada como agente ambiental de casuística da mastite bovina.

2.3 Mecanismo de Defesa da Glândula Mamária

O mecanismo de defesa se divide em imunidade inata e imunidade específica ou adquirida. A imunidade inata caracteriza-se por uma resposta não específica que ocorre na fase inicial da doença. Esta resposta é debelada rapidamente por mecanismo de ativação nos sítios ativos da infecção, porém não aumenta no decorrer da infecção. É constituída por barreiras físicas, exemplo o esfíncter do teto, e químicas como a queratina e fatores solúveis, citocinas, além de macrófagos, neutrófilos e células natural killer. Quando a resposta inata não consegue debelar o patógeno a imunidade específica é ativada, sendo feita por imunoglobulinas e por linfócitos T e B (ACOSTA et al., 2016).

A Contagem de Células Somáticas (CCS) refere-se a todas as células que estão presentes no leite, por exemplo, leucócitos e células do epitélio secretor. Sharma et al. (2011), relata que 3% são células polimorfonucleares, 80% macrófagos, 16% linfócitos e 2% células do epitélio glandular, para bovinos, mudando de composição de acordo com a espécie. Quando ocorre um aumento no CCS, demonstrando que há um processo inflamatório da glândula, tal parâmetro serve de referência para diagnosticar mastite subclínica. Este aumento é influenciado por vários fatores, por exemplo, patógenos infecciosos, raça, período de lactação, produção, número de lactação, problemas nutricionais entre outros (ACOSTA et al., 2016).

2.4 Diagnósticos

O diagnóstico clínico da mastite é de fácil demonstração. Apresenta-se um animal com glândula mamária inflamada, com vermelhidão, dolorosa a palpação, não se deixando ordenhar, com alterações anatômicas, secreção de leite sanguinolento, pus, flocos ou dessorado. Todas as citações retro são características de infecção intramamária aguda, mastite clínica. A mastite subclínica, crônica, que em um curto período destrói a capacidade funcional, ocasionando prejuízos econômicos, podendo disseminar-se silenciosamente dentro do rebanho, piorando a situação e levando a problemas de saúde animal, que passam despercebidos pelos exames rotineiros, tais como a inspeção do animal, do leite e palpação das glândulas mamárias (RODOSTITS et al., 2002).

A glândula mamária possui diferentes mecanismos de defesa que pode ser divididos em dois grupos: imunidade inata e específica ou adquiridas. A imunidade inata também conhecida como resposta específica ou não imune e predominante na fase da doença. Sua resposta é ativada rapidamente no sítio da infecção por inúmeros estímulos, porém não é aumentada pela exposição repetida ao mesmo agressor. É formada por barreiras físicas, esfíncter do teto, e barreiras químicas, formada pela queratina e fatores solúveis como as citocinas, além dos macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, células natural killer. No caso da imunidade inata não conseguir debelar o patógeno em curto espaço de tempo, a resposta específica é ativada, onde será mediada por fatores solúveis específicos como as imunoglobulinas e pelos linfócitos T e B (ACOSTA et al., 2016).

O monitoramento da mastite pode ser feita de diversas formas, seja clínica ou subclínica. A forma clínica pode ser detectada visualmente, através do Teste da Caneca, bem como por palpação e pelo aspecto do leite, porém na forma subclínica é necessário o auxílio de testes auxiliares, como o de Contagem de Células Somática (CCS), o California Mastitis Test (CMT) e o Wisconsin Mastitis Test (WMT).

2.4.1 Contagem de Células Somáticas

São células epiteliais ou de defesa provenientes da descamação normal do epitélio secretor e células de defesa, tais comoleucócito oriundo da circulação sanguínea dos alvéolos com resposta de algum processo inflamatório ou alguma injúria, por exemplo, infecções (COUTINHO, 2014). O CCS é um parâmetro muito importante para monitoramento de mastite dentro do rebanho, assim quando há considerável aumento nesta contagem indica que há uma progressão na infecção (COSER et al., 2012).

Uma produção saudável de leite deve conter uma quantidade de células inferior a 100.000 células/mL. Em animais com infecção subclínica, há $CCS > 200.000$ células/mL, embora que de acordo como o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade de Leite (PNQL) vacas com uma contagem $>$ que 300.000 células/mL, são consideradas produtoras de leite mastítico (COSER, 2012).

A CCS pode ser feita com amostras de leite provenientes do animal ou do taque de expansão, mais comumente, e enviadas para o laboratório especializado. Esta contagem pode ser feita do rebanho total ou individualizado (FONSECA & SANTOS, 2001). Na contagem individual é bem empregado para monitoração da saúde do úbere nos países desenvolvidos e que vem sendo empregado no Brasil com sucesso (COSER et al., 2012).

2.4.2 California Mastitis Test (CMT)

California Mastitis Test – CMT é um teste rápido, fácil e prático de ser realizado e a baixo custo. A amostra é retirada no momento da ordenha de cada quarto mamário, colocada em uma batedeira própria e adicionado o reagente, que faz o rompimento das membranas celulares expondo o DNA, que ao entrar em contato com água torna-se hidratado e viscoso. Sua avaliação é através da gelatinização ou viscosidade, se classifica em escore: negativo, traços, uma cruz (+), duas cruces (++), e três cruces (+++), conforme no quadro 1 (SANTANA, 2018).

Tabela 3: Relação entre CMT e CCS/mL/leite.

Escore	CCS	Interpretação
0 (negativo)	0 – 200.000	Quarto sadio
T (traço)	200.000 - 400.000	Mastite subclínica
+ (fracamente positiva)	400.000 - 1.200.000	Mastite subclínica
++ (positivo)	1.200.000 – 5.000.00	Mastite subclínica
+++ (fortemente positiva)	>5.000.000	Mastite subclínica

Fonte: Adaptado de Hoe (2011).

Bressanet al. (2000) relata que apesar de ser um teste simples e de fácil realizados muitos produtores não faz, sendo excelente no monitoramento do rebanho leiteiro, pois é uma forma de avaliara saúde da glândula mamaria. O CMT também nos mostra se há alterações de pH, pois se houver uma mastite o leite fica alcalino e em contato com o reagente adquire uma coloração púrpura intensa (SANTOS, 2001). Para alguns autores, esse teste é considerado muito subjetivo, pois tem um aspecto negativo, se levarmos em consideração a quantidade de reagente e quem esta manipulando. A falta de padronização da leitura, que sujeita a interpretação de acordo com o profissional (LANGONI, 2000).

2.4.4 Caneca de fundo escuro

Utilizado nas ordenhas diariamente, com ela é possível detectar uma mastite clínica. Nesse teste descartam-se os três primeiros jatos do teto em análise, utilizando o quarto jato na caneca, onde é possível a análise visual de alguma alteração no leite, seja na consistência, coloração, presença ou ausência de grumos, pus ou sangue, e sabendo que este leite não pode ir para o latão ou tanque de expansão, e caso este leite vá servir para alimentação de bezerros ou suínos, ter o devido cuidado de pasteurizar antes do uso, ou realmente fazer o descarte. Este teste vai possibilitar que o produtor evite o contágio do rebanho servindo de tratamento precoce (COSER et al., 2012).

Sabendo que o custo com exames laboratoriais tem reduzido consideravelmente a realização de isolamento dos microrganismos para identificação dos testes de sensibilidade “in vitro”, dos agentes causadores de mastite bovina (FREITAS et al., 2005). Tal situação tem causado problemas sérios, pois se tem priorizado a escolha de medicamentos antimastínicos baseando unicamente em perfis clínicos da enfermidade (FAGLIARI et al., 1990). Diante desta realidade que encontramos corriqueiramente, os prejuízos experimentados pelos produtores rurais em decorrência do uso inadequado e do não tratamento da mastite bovina, vem agravando ainda mais a situação de prejuízos (FREITAS et al., 2005).

2.5 Tratamento e Controle

O tratamento é realizado com antimicrobianos, que são os que têm uma resposta satisfatória, embora em relação a *S. aureus* a antibioticoterapia não seja tão eficaz, estudos vêm sendo desenvolvidos, para indicar a falha ou ineficácia dos tratamentos frente a este patógeno, dando ênfase em qual mecanismo é responsável por isto, e pensando futuramente que este tratamento seja eficaz no controle de mastite estafilocócica (CASSOL, 2010).

No período seco é mais indicado fazer um tratamento, pois auxilia para que na próxima lactação não ocorra uma nova infecção. Muitos agentes causam grandes prejuízos para lactação, e as infecções podem perdurar por longos períodos. Mesmo com uma alta sensibilidade a variados antibióticos, os índices de “cura” ou remissão dos sinais clínicos são baixos. E como resultado há a formação de fibrose interalveolar, perda de função secretória e consequentemente baixa qualidade e quantidade de produção leiteira (RADOSTITS, 2000).

Os programas de controle de mastite estão baseados em identificar fatores que possam levar a uma infecção. As coletas destas informações possibilitam elaborar estratégias específicas que minimizem a disseminação dos agentes patogênicos dentro do rebanho. Para que haja sucesso dos programas é necessário ter mão de obra treinada que possa repassar com facilidade para os produtores. Quando verificamos as referências acerca dos programas de controle de mastite, geralmente encontra com títulos de boas práticas de manejo ou boas práticas agropecuárias, onde desempenham procedimentos básicos e comuns de ordenha (BRITTO et al., 2002).

As medidas que são preconizadas pelos programas de boas práticas de controle para mastite de acordo com a IN 77 de novembro de 2018.

Artigo 2º: para os fins desta Normativa, são adotados os seguintes conceitos:

I – boas práticas agropecuárias: conjunto de atividades, procedimentos e ações adotadas na propriedade rural com a finalidade de obter leite de qualidade e seguro ao consumidor e que englobam desde a organização da propriedade, suas instalações e equipamentos, bem como formação e capacitação dos responsáveis pelas tarefas cotidianas realizadas;

Artigo 9º: as boas práticas agropecuárias implementadas na execução do plano de qualificação de fornecedores de leite devem contemplar no mínimo:

I – manejo sanitário;

II – manejo alimentar e armazenamento de alimentos;

III – qualidade de água;

IV – refrigeração e estocagem do leite;

V – higiene pessoal e saúde dos trabalhadores

VI - higiene de superfícies, equipamentos e instalações;

VII – controle integrado de pragas;

VIII – capacitação dos trabalhadores;

IX – manejo de ordenha e pós-ordenha;

X – adequação das instalações, equipamentos e utensílios para produção de leite;

XI – manejo de resíduos e tratamento de dejetos e efluentes;

XII – uso racional e estocagem de produtos químicos, agentes tóxicos e medicamentos veterinários;

- XIII – manutenção preventiva e calibragem de equipamentos;
- XIV – controle de insumos agrícolas e pecuários;
- XV – fornecimento de materiais técnicos como manuais, cartilhas, entre outros; e
- XVI – adoção de práticas de manejo racional e de bem – estar animal.

2.5.1 Da Ablação química do quarto mamário

Podemos destacar, entre as principais causas de descarte involuntário de vacas de alta, os problemas de origem reprodutiva, as contaminações causadoras de mastite crônicas e vários outros problemas de úbere, afecções podais e de locomoção, as doenças de origem metabólicas e outros. Estudos realizados em rebanhos leiteiros brasileiros definiram a mastite e outras alterações glândula mamária como responsáveis por aproximadamente 17% dos casos de descartes involuntários. (SANTOS; 2016)

A alta prevalência de vacas portadoras de mastite crônica, pode advir de tratamentos com antibióticos que não obtiveram êxito, mesmo após diversas tentativas efetuadas com princípios ativos diferentes. Assim, uma vaca que não teve resposta ao tratamento com antibióticos por 3 tentativas, o descarte ou sua secagem permanente apresentam-se como a recomendação mais acertada para redução dos riscos de contaminação do rebanho, bem como para reduzir a prevalência dessa patologia no rebanho. Essa medida é de fundamental importância para o controle da mastite. (SANTOS; 2016)

Assim, diante da ineficácia terapêutica convencional com a utilização de antimicrobianos, o mais recomendado é que seja feita a secagem abrupta dos quartos mamários acometidos, com utilização de ablação química dos tetos afetados, ou mesmo o descarte dos animais infectados. (Ribeiro, 2008).

Estudos sobre protocolos de secagem permanente de vacas com mastite crônica são muito raros, motivo pelo qual produtores e técnicos se utilizam de protocolos sem respaldo científico que levam o animal a se submeter a dor, desconforto, com prejuízo ao bem estar animal, além do risco de não se conseguir o objetivo almejado com tal procedimento que seria eliminar a fonte de infecção mantendo a vaca em condições de produzir com os demais quartos funcionais. (SANTOS; 2016)

Dentre os raros estudos, foi apresentado um, cujo protocolo baseia-se na aplicação de 120 ml de iodo a 5%, intramamárias, diário, por período de dois dias. Tal protocolo se mostrou eficaz na eliminação da lactação, haja vista que as vacas que se submeteram a tal

tratamento, mesmo após o período seco, não retomaram a produção de leite. (SANTOS; 2016).

3. RELATO DE CASO

O presente relato mostra uma vaca leiteira de alta produção (42 quilos de leite/dia), da raça Guzolando, com 09 (nove) anos de idade (nascida em 30/01/2010), estando em sua quarta lactação nesta propriedade, apresentando-se no quarto mês de prenhes (Figura 6). Durante o período de ESO, observou-se na rotina diária dos testes diagnósticos de mastite (Caneca telada/ CMT) que a vaca relatada apresentava mastite clínica persistente, o que fez com que a mesma fosse direcionada à enfermaria (Figura 6). Tal persistência desencadeou uma atenção diferenciada de forma tal que se resolveu realizar a identificação dos agentes causadores para um tratamento mais direcionado, haja vista que aquele animal, devido a tal enfermidade, vê queda de produção em mais de mais de 80% na sua produção diária, e ainda que tal leite era descartado em virtude da doença e dos resíduos de antibióticos utilizados no tratamento.

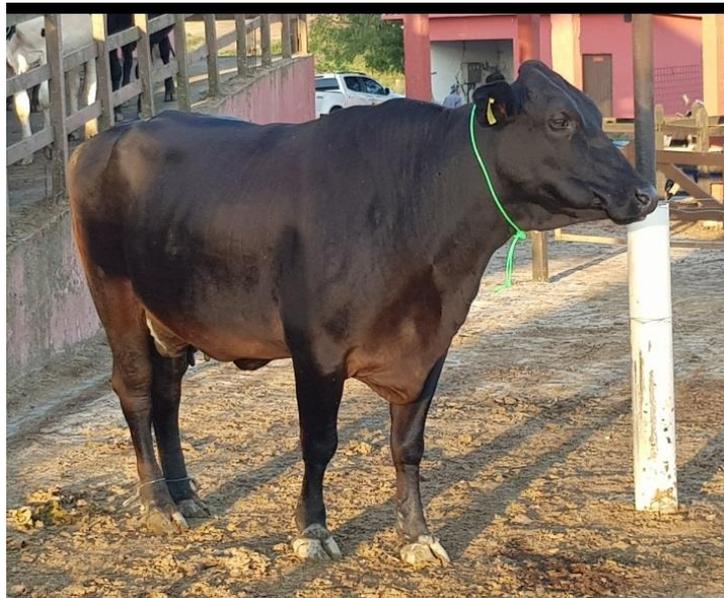


Figura 6: Vaca Guzolando Relata. Fonte: Arquivo Pessoal, 2019.

Com a realização dos exames da Caneca de Fundo Preto e do CMT (Figura 9), constatou-se a infecção mastítica clínica (anterior esquerdo), com presença de grumos e odor fétido; e subclínica (anterior direito / posteriores direito e esquerdo) com resultado positivo correspondente a (+) nos demais tetos. Diante desses resultados obtidos, constatou-se a necessidade de testes microbiológicos para detecção precisa dos agentes causadores daquelas mastites.

Realizados os testes, constataram-se os seguintes agentes: Para o quarto mamário anterior esquerdo foi detectado o agente *Trueperella pyogenes* como causador da mastite

clínica apresentada. Já na mastite subclínica apresentada nos demais quartos mamários foi detectada a presença do agente *Staphylococcus aureus*.

A partir da identificação dos microrganismos foram realizados testes de sensibilidade à antimicrobianos (antibiograma) onde os resultados de resistência e sensibilidade serão apresentados e discutidos em momento oportuno neste mesmo trabalho. Pela impossibilidade de identificação das drogas testadas para a bactéria *Trueperella pyogenes*, decorrentes da não proliferação em ensaio microbiológico de sensibilidade, bem como pelo avançado estado de infecção que se encontrava o quarto mamário acometido, demonstrando uma irreversibilidade daquele quadro, chegaram a seguinte conclusão (proprietário e Médico Veterinário da fazenda), de que o tratamento para tal situação seria a Ablação química do quarto mamário acometido, método esse que foi efetuado.



Figura 7: Teste da caneca de fundo preto, grumos no leite do teto esquerdo (A); leite normal nos outros tetos (B). Fonte: Arquivo Pessoal, 2019.

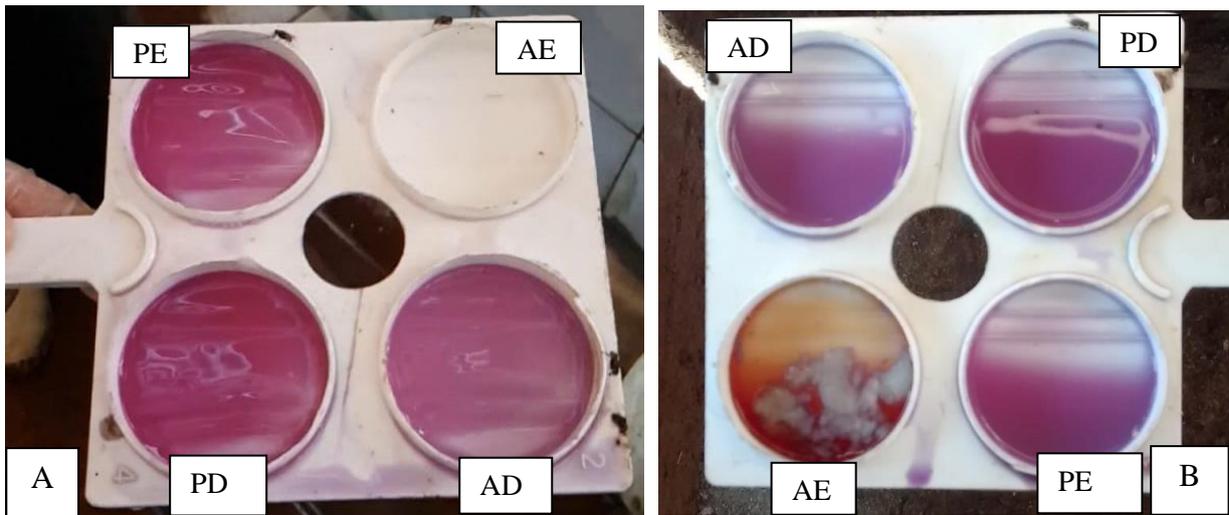


Figura 8: Teste do CMT, vista da raquete com mastite subclínica (A); vista da raquete com leite do teto com mastite clínica (B). Fonte: Arquivo Pessoal, 2019.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e Período de coleta da amostra

As amostras coletadas foram provenientes de um mesmo indivíduo bovino leiteiro, da raça Guzolando, que tinha sido identificado com reincididos episódios de mastite subclínica, porém sem a devida identificação do agente, haja vista não se ter sido feito cultura microbiológica para tal finalidade.

Diante dessa situação, foram realizadas coletas semanais durante o mês de Outubro/2019, especificamente neste animal, cujo relato de caso se debruça. Válido salientar que apesar do exemplar em comento estar loteado na enfermaria, o mesmo já está há mais de 40 (quarenta) dias sem receber qualquer tipo de droga, haja vista, após todos os exames efetuados, o mesmo ter sido submetido a ablação química do quarto mamário acometido, como forma de tratamento, após confirmação da impossibilidade de aproveitamento do quarto mamário comprometido, assim, tendo a fazenda já destinado o animal para descarte.

4.2 Procedimentos de coleta do leite para o exame microbiológico

Os agentes patogênicos podem estar presentes no úbere, nos tetos da vaca, nas mãos do ordenhador e no ambiente, podendo gerar contaminação cruzada. Leite foi coletado adequadamente e após, realizaram-se exames bacteriológicos que indicaram os agentes causadores da infecção da glândula mamária.

➤ Material e coleta das amostras

Foram utilizados tubos de plástico descartáveis e esterilizado (10 mL), com tampa de rosca; recipiente para acondicionar os tubos; álcool 70%; luvas, algodão; papel-toalha; solução desinfetante para limpeza dos tetos. Tudo com a devida identificação de cada tubo (nome do animal, data da coleta, quarto mamário).

Foram coletadas amostras, imediatamente no início da ordenha, fazendo o descarte dos três primeiros jatos de leite, e efetuando o armazenamento dos jatos posteriores até a obtenção do volume desejado.

Os tetos foram previamente lavados com água, limpos e secos, para a retirada de sujidades como fezes, poeira e outros. Foi feita a imersão dos tetos em solução desinfetante, a base de iodo a 1%, deixando agir de 20 a 30 segundos e após, removido o excesso com papel-toalha. Ainda como forma de antisepsia do teto utilizou-se algodão umedecido em álcool

70%, para limpeza das extremidades do teto, um para cada teto, efetuando a limpeza até a extremidade, imediatamente antes da coleta. No ato da coleta, situação essa repetida individualmente para cada teto, foidesprezados os três primeiros jatos, e os seguintes acondicionados em frasco com tampa de rosca, mantendo-se o cuidado de não encher ate a borda. Além dos cuidados supramencionados, ainda foram tomados os seguintes cuidados: cuidado para não haver contaminação com o toque na pele do animal; o acondicionamento do leite em recipiente, com temperatura mantida com gelo reciclável e processada em laboratório nas primeiras 3 horas pós-coleta.

4.3 Procedimentos de meios de culturas microbiológicas

- ✓ Ágar Sangue: base rica, que favorece condições ótimas para crescimento da maioria de microrganismos. Sua composição e blood Ágar base, Columbia Ágar base, BHI Ágar Mueller Hinton Ágar; adicionado 5mL de sangue de carneiro desfibrilado a 5% a cada 100mL, deve ser previamente diluído, esterilizado em autoclave; realizar homogeneização e distribuir em placa. Deve ser acondicionados refrigerada 4 a 10° C por até 4 meses.
- ✓ Ágar BÍlis-Esculina: esta prova é baseada nas condições que a bactéria tem de hidrolisarem a esculina na presença de bílis. Sendo um derivado glicosídico da cumarina, composto por moléculas de glicose e 7-hidroxycumarina. As características das bactérias bile-esculina crescem em presença de sais biliares, com a hidrolise forma glicose e esculina, reagindo com íons férricos formando um complexo negro, para ter controle utilizam-seas cepacontrole (padrão) que são as ATCC's; possui um preparo simples, hidratação do meio fundir e após distribuir em tubos de 2,5 mL, esteriliza em autoclave e após inclinar os tubos (ângulo de 45°) e deixar esfriar até solidificar, sua conservação 4 a 10° C por até 04 meses;
- ✓ Ágar Sangue – CAMP: é a interação da beta hemólise pelo *Staphylococcus aureus* que é o microrganismo de interesse, secreta proteína denominada “fator CAMP” pra esta prova utiliza Agar Sangue e a cepa de *Staphylococcus aureus* produtora de beta hemolisina; sua inoculação é feita de forma simples inocula em linha reta a ATCC e após em linhas paralelas inocula aas amostras a serem testadas; como resultado positivo a área de hemólise forma de flecha, negativo ausência de hemólise;
- ✓ Prova de Catalase: seu principio se baseia em decompor o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 3%, sua conservação em manter em local seco, abrigo de luz e calor; sua inoculação é colocar uma gota H₂O₂ 3% em lâmina e com auxilio de alça

bacteriológica colocar um agregado de colônias. Interpretação se baseia em positiva se houver presença de bolhas (efervescência), negativa para não formação de bolhas ou efervescência;

- ✓ Prova da Coagulase: esta prova traduz a capacidade do microrganismo reagir com o plasma e formação de um coágulo, sabendo que a coagulase é uma proteína parecida com a protombrina, tendo a capacidade de converter fibrinogênio em fibrina. É encontrada em duas formas: coagulase conjugada e a livre (mais utilizada, prova do tubo), é utilizado plasma de coelho com EDTA liofilizado. Utiliza esta prova para fazer a separação *Staphylococcus* de a para a clínica: dividido em *S.aureus* – coagulase positiva das demais – coagulase negativa; Sempre com auxílio de um alça suspende as colônias e coloca para incubar a 37° C, é necessário ajustar a turbidez até 0,5 da escala de MacFarland, em tubo adiciona 0,5 ml de plasma e 0,5 de caldo BHI com crescimento, coloca para incubar a 35° C por 4 horas e depois verifica a presença ou não de coágulo;
- ✓ Coloração de Gram: basear em uma coloração identificação da morfologia é um método visual, onde são utilizados, álcool, cristal violeta, lugol, Serafina, que vai fazer uma diferencial na parede celular do microrganismo que será dividido em Gram-positivo e Gram-negativo.

5 RESULTADOS E DISCURSÃO

A mastite é uma inflamação das glândulas mamárias, sendo multietiológica e multifatorial de grande importância dentro da cadeia leiteira do país. Suas formas de apresentações pode ser clínica e subclínica, de acordo com sua patogenia pode ser classificado em 2 grupos diferentes: contagiosos e ambientais (SAAB et al, 2014).

No relato de caso foi realizado o teste da caneca tela de fundo escuro foi diagnosticada mastite clínica, com presença de odor fétido no leite obtido no quarto mamário (anterior esquerdo). Já o leite oriundo dos outros quartos mamários não apresentou nenhuma alteração significativa em suas características organolépticas. Realizado o California Mastitis Test (CMT), com resultado positivo, observando-se mastite subclínica em três tetos (mastite subclínica grau 1(+), e o teto anterior esquerdo apresentou mastite grau 3 (+++). As forma subclínica é observada no teste visual através d Teste da caneca telada de fundo escuro, bem com a palpação e pelo aspecto visual do leite.As amostras é retirada no momento de cada ordenha e cada quarto mamário, colocada em uma bandeja própria e adicionado o reagente que faz o rompimento das membranas expondo o DNA, que o leite ao entra em contato com a solução torna-se uma material gelatinoso ou viscoso, se classificando em escore: negativo, traços, uma cruz (+), duas cruces (++) e três cruces (+++) (COSER et al., 2012).

Observado estas características foram realizados os testes microbiológicos para identificação de possíveis agentes causadores da mastite. Realizado um cultivo inicial em ágar sangue, de então foi isolado dois agentes, a *Trueperella pyogenes* e o *Staphylococcus aureus*.

O *Staphylococcus aureus* vem sendo descrito, em diversos estudos nacionais e internacionais como um dos principais agentes etiológico de infecções intramamária (TIZOTTI et al., 2010). O agente foi isolado em cultivo primário (ágar sangue, com sangue de ovino desfibrilado a 5%), incubado a 37°C por 24 ou 48 horas. Apresentando colônias escuras, brilhantes com halo claro. Foi submetido a coloração de Gram e teste para identificação da espécie *S. aureus*, prova da Catalase, prova da coagulase, conforme Baird-Parker (1990), Ao microscópio, disposição das células e características morfotintorias ao Teste de Gram (CARTER,1988). Para uma identificação de *Staphylococcus* spp. foram realizadas provas bioquímicas como produção de coagulase livre, Catalase (SILVA et al., 1997). Realizado testes, isolando o agente *Staphylococcus* coagulase positivo (SCP), quando positivo para aprova da coagulase, Catalase, mas negativos em alguns outros os testes (MEDEIROS et al., 2009).

Nos testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* isolado foi realizado pela técnica de difusão em ágar Mueller Hinton segundo Bauer et al. (1966). Utilizando os seguintes discos impregnados de antibióticos: enrofloxacina (5mcg), tetraciclina (30mcg), cefotaxima (30mcg), cefalotina (30µg), penicilina G (10 UI), oxaciclina (1 µg), gentamicina (10mcg), ampicilina (10mcg), cefpime (30mcg). A metodologia utilizada de acordo com Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012). No resultado encontrado foi observada sensibilidade em tetraciclina, enrofloxacina, oxacilina e gentamicina, como resistência a ceftiofur, penicillina e ampicilina, Andrade et al. (2010) e Fontana et al. (2010) encontrou sensibilidade para gentamicina, que é um agente eficaz no tratamento das mastites bovinas de origem bacteriana. A tetraciclina na maioria das literaturas consultadas é resistente, pois é um antibiótico de eleição entre os produtores, por ser bastante utilizada no tratamento de mastite (MEDEIROS et al., 2009), no caso relatado apresentou sensibilidade o que mostrar a eficiência para *Staphylococcus* spp. Para *S. aureus* é resistente às várias classes de agentes antimicrobianos e a resistência à penicilina G e à ampicilina ocorre em quase todas as manifestações clínicas de mastite. Frente aos antimicrobianos enrofloxacina, oxacilina, cefalotina e cefpime mostra sensibilidade, oliveira et al (2011) em análise de rebanho frente a *S. aureus* demonstra sensibilidade a este antimicrobiano demonstrando sua eficácia frente a este agente nos quais neste trabalho representa a uma maioria causadores de mastite. Diante dos resultados a sugestão de tratamento pode-se indicar a utilização de drogas a base de enrofloxacina, tetraciclina, oxacilina, cefalotina, cefpime, gentamicina.

O resultado obtido tem mostrado informações substanciais sobre a sensibilidade do *Staphylococcus* spp. isolados da mastite bovina, frente aos antimicrobianos testados. Assim, tem-se que atentar para que a escolha aleatória da medicação que possua, por exemplo, a gentamicina como princípio ativo de escolha, não seja a mais indicada para obtenção de sucesso no tratamento, principalmente naquelas propriedades que fazem uso na rotina deste princípio ativo, bem como aos outros princípios que indicaram apresentação de resistência no teste.

Como teste de triagem bacteriana foi utilizado o meio Agar Sangue, isolamento primário, onde foi identificado o crescimento bacteriano característico de *T. pyogenes*. Após o isolamento inicial, feito esfregaço em lâmina sendo corado pelo método de coloração de Gram, possível observar microrganismos pleomórficos, com arranjos de “paliçada” ou “letra chinesa” com base nestas características fenotípicas, este microrganismo foi definido como *A. pyogenes*. A coloração de Gram é um método visual e que possibilita observação das características morfotintoriais das colônias.

Para o *T. pyogenes* no testes, obteve-se o resultado de Catalase Negativa, podendo observar a produção de oxigênio pelo microrganismo. No teste de Coagulase em Plasma de Coelho obteve-se resultado Negativo. Riseti (2015) relata que este microrganismo apresenta catalase negativa e coagulase também negativa.

Realizado o perfil de sensibilidade microbiana dos isolados, pelo método mais direto que é a técnica de difusão de discos segundo o CLSI (PERFORMANCE..., 2003). Os antimicrobianos comerciais utilizados frequentemente no tratamento de vacas são: ampicilina (10µg), cefalexina (30 µg), ceftiofur (30µg), enrofloxacina (5µg), tetraciclina (30µg), oxaciclina (1µg), penicilina (10µg), gentamicina (10µg), cefpime (10µg) (MOTTA et al., 2011).

Radostits et al. (2007) e Quinn et al., (2011), no que refere-se a tratamento do *T. pyogenes* têm-se as cefalosporinas, penicilinas, beta-lactâmicos e tetraciclinas como drogas de eleição para terapias antimicrobianas em animais. Um estudo realizado na Polônia com uma cepa *in vitro* fez uma investigação sobre a ação inibitória do *T. pyogenes*, e os antimicrobianos mais sensíveis foram os beta-lactâmicos (penicilina, ampicilina, cefalotina, ceftiofur e penicilina-novabiocina), o que também foi observado foi à resistência da tetraciclina e eritromicina (ZASTEMPOWSA & LASSA, 2012). Mesmo diante de uma alta sensibilidade *in vitro* dos microrganismos isolados, quando expostos a determinados antimicrobianos, um prognóstico desfavorável foi observado em tratamentos *in vivo* envolvendo a *T. pyogenes* em casos de mastites bovinas, haja vista a capacidade de atingir o microrganismo que esta dentro do piogranuloma das lesões (RUEGG, 2010; SNGER & POST, 2005; RADOSTITS et al., 2007; QUINN et al., 2011). Algo muito preocupante é o uso indiscriminado de antimicrobianos o que faz aumentar a taxa de bactérias multirresistentes. O uso responsável destes medicamentos trata-se de fundamental necessidade de um ponto de vista da saúde pública (GIGUÈRE et al., 2010).

No caso relatado, após várias tentativas de se obter um resultado do perfil de sensibilidade por difusão em disco, o *T. pyogenes* não apresentou crescimento adequado para confecção do perfil de sensibilidade, onde pode ser observada sua patogenicidade associada ao comportamento oportunista da bactéria e a formação de reações piogênicas em diferentes órgãos e tecidos dos animais.

Assim, pode-se balizar de forma consensual que a escolha do medicamento a ser utilizado no tratamento de mastite ambiental bovina, advenha previamente da necessidade dos

testes laboratoriais, e do perfil de sensibilidade frente aos antibióticos e quimioterápicos utilizados para seu tratamento.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mastite, enfermidade que pode se tornar crônica, causadora de perdas econômicas aos proprietários produtores de leite e uma questão de saúde pública, haja vista as condições de segurança alimentar que devem ser seguidas por todos que de uma forma ou de outra estejam ligados a produção de alimentos, sejam eles in natura ou industrializados.

A necessidade de um atendimento imediato é determinante no êxito do tratamento dessa enfermidade, evitando desta forma que a patologia evolua de tal forma que não haja mais condições de recuperar o quarto mamário acometido pela mastite clínica, não deixando outra saída a não ser o descarte do animal, situação esta vivenciada no relato em comento.

Mesmo com a utilização de drogas específicas descobertas com utilização de antibiogramas, para tratamento dos casos de mastite bovinas nos estabelecimentos produtores de leite, a implantação de medidas de diagnóstico e prevenção, como é o exemplo do uso da caneca telada, do CMT, da linha de ordenha e de medidas de higiene no antes, no durante e no pós-ordenha poderão contribuir consideravelmente para a redução no número de casos de mastite com isso os produtores poderão disponibilizar às indústrias de laticínios um produto de qualidade bem superior.

Portanto, todo trabalho acerca de prevenção controle e tratamento da mastite bovina, busca evitar a presença de patógenos transmissíveis dentro do rebanho e conseqüentemente minimizar a possibilidade de ter que suportar prejuízos econômicos oriundos da contaminação dos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COSTA, A.C. **Mastites em ruminantes no Brasil**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.36, n.7, p. 565-573, 2016.
- BRAMLEY, A.J. & DODD, F.H. 1984. **Reviews of the progress of dairy science: mastitis control-progress and prospects**. J. Dairy Res. 51:481-512.
- BRITO, J. R. F; BRITO, M. A.V.P.; ARCURI, E.F. **Como (re)conhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos**. EMBRAPA – Circular Técnica, Juiz de Fora, MG, Dezembro 2002.
- BILLINGTON, S. J. pós K.W; JOST, B.H. **Isolamento de Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes de casos de otite externa felina e cistite canina**. J Vet. Diagn. Invest. 14: 159-162. 2002.
- BUENO, V.F.F.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B.; COSTA, E.O.; COELHO, K.O.; COUTO, D.V. **Etiologia e suscetibilidade à antimicrobianos dos agentes da mastite bovina isolados na região de Pirassununga - SP-Brasil**. Revista de Patologia Tropical, v.32, n.1, p.33-44, 2003.
- BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; FILHO, F.C.D. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, n.3, p.273-283, jun-set, 2006.
- CASSOL, D.M.S.; SANDOVAL, G.A.F.; PERICOLE, J. J.; GIL, C.N.; MARSON, F.A. **Introdução Agentes da Mastite Diagnóstico e Tratamento**. A Hora Veterinária – Ano29, n°175, maio/junho/2010. Disponível em:
<http://www.ourofinvet.com.br/portal/files/espaco_veterinario/HV175-MastitebovinaDaniela.pdf>
- CHAHOTA, R.; KATOCH, R. MAHAJAN, A. & VERMA S. **Clinical bovine mastitis caused by Geotrichum candidum**. Vet.Arshiv. 17: p. 197-201. 2001.
- CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.; DIAS M.M. & FERREIRO, L. **Bovine mastitis due to Prototheca zopfii: clinical, epidemiological and pathological aspects in a Brazilian dairy herd**. Trop. Anim. Health Proc. 33: p. 463-470. 2001.
- CONTRERAS G.A. & RODRÍGUEZ J. M. 2011. **Mastitis comparative etiology and epidemiology** .J Mammary Gland Biol. Neoplasia.V. 16, n. 4, p. 339-356.

COSER, A.M.; LOPES, M.A.; COSTA, G.M. da. **Mastite Bovina: Controle e Prevenção**. Universidade Federal de Lavras – Departamento de Medicina Veterinária. (Boletim Técnico – nº 93, p. 1-30), Lavras/MG 2012.

COSTA, E. O.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T. et al. **Infectious bovine mastitis caused by environmental organisms**. J. Vet. Med., v. 45, p.65-71, 1998.

De FREITAS GUIMARÃES F.; NÓBREGA D. B.; RICHINI-PEREIRA V. B.; MARSON P.M. De Figueiredo Pantoja J.C. &Langoni H. 2013. **Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulse-positive staphylococci isolated from bovine milk**. J. DairySci.v. 96, n.8, p. 2866-2872.

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

FAGLIARI, J.J.; LUCAS, A.; FERREIRA NETO, J.M. **Sensibilidade a drogas antimicrobianas de bactérias isoladas de vacas com mastite clínica e subclínica**. Ciência Veterinária, v.4, n.2, p.11-13, 1990.

FREITAS, M.F.L.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; STAMFORD, T.L.M.; RABELO, S.S.A.; SILVA, D.R.; SILVEIRA FILHO, V.M.; SANTOS, F.G.B.; MOTA, R.A. **Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de Staphylococcus coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do Estado de Pernambuco**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.72, n.2, p.171-177, 2005. Disponível em: <
http://www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/V72_2/freitas.PDF>.

FONSECA L.F.L & SANTOS M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. Lemos Editorial, São Paulo. 175.2000.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos 2001. 175p.

GILLESPIE, B.E; HEADRICK, S.I; BOONYAYATRA S. & OLIVER S.P. 2009. **Prevalence and persistence of coagulase-negative Staphylococcus species in three dairy research herds**. Vet. Microbiol. V. 134, n. 1, p. 65-72.

HOGVEEN H.; HUIJPS K. & LAM, T.J.G.M. 2011. **Economic aspects of mastitis: new developments**. N.Z. Vet. J. v.59, n.1, p.16-23.

HOE, F. **Boas práticas no controle de mastite com o uso de CMT**. Disponível em:

<<http://www.rehagro.com.br/siterehagr/publicacao.do?cdnoticia=724>>

HOGAN, J. & SMITH, K.L. **Managing environmental mastitis**. Vet Clin. North Am., Food Anim. Pract., v. 28, n. 2, p. 217-224. 2012.

JOST, B. H; BILLINGTON S. J. **Arcanobacterium pyogenes: patogênese molecular de um animal oportunista**. Antonie Van Leeuwenhoek. 88: 87-102, 2005.

JUNQUEIRA N. B. & LANGONI, H. **Aspectos gerais sobre a mastite bovina causada por Mycoplasma spp**. Vet. Zootec., v. 23, n.3, p.356-364. 2016.

KULKARNI, A.G. & KALIWAL, B. **Bovine mastitis: a review**. Int. J. Recent.Sci. Res. 4: p. 543-548. 2013.

LAFFRANCHI, A.; MULLER, E.E.; FREITAS, J. C.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, J.A.; SALVADOR, R.. **Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação**. Ciência Rural, v.31, n. 6, p. 10027-1032, 2001.

LAGONI, H.; SALINA, A; OLIVEIRA, G. C; JUNQUEIRA, N. B et al. **Considerações sobre o tratamento das mastites**. Pesquisa Veterinária Brasileira v.37, n.11, p. 1261-1269. 2017.

LAGONI, H.; PENACHIO D. da S.; CITADELLA, J. C. C.; LAURINO, F.; FACCIOLI-MARTINS P. Y.; LUCHEIS S. B.; MENOZZI B. D & SILVA A. V. da 2011. **Aspectos microbiológicos e de qualidade de leite bovino**. Pesq. Vet. Bras. n 29, p. 881-886.

MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: DÜRR, J.W. et al. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil, Passo Fundo**: UPE, p. 331, 2004.

MOTTA, R.G; RIBEIRO, M.G.; PERROTTI, I.B. M; MOTTA, D.G.; DOMINGUES, P.F. et al. **Surto de mastite bovina causada por Arcanobacterium pyogenes**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.63, n.3, p. 736-740, 2011.

OLIVER S.P., GILLESPIE B.E., HEADRICK S.J., MOOREHEAD H., LUNN P., DOWLEN H.H., JONHSON D.L., LAMAR K.C., CHESTER S.T. & MOSELEY W.M. 2004. **Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows**. J.DairySci.87(8):2393-2400.

- OLIVEIRA, C. A. F.; FONSECA, L. F.L.; GERMANO, P.M.L. **Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite.** Revista Higiene Alimentar. São Paulo, v. 13, n.62, p. 10-13, 1999.
- PAIVA E BRITO, M. A.V.; BRITO, J. R.F. **Diagnóstico microbiológico da mastite.** EMBRAPA – Circular Técnica 55, dez. 1999.
- PACHAURI, S.; VARSHNEY, P.; DASH, S.K. & GUPTA, M. K. **Involvement of fungal species in bovine mastitis in and around Mathura, India.** Vet. World. 6:393-395. 2013.
- PEDERSEN L.H., Aalbaek B., Rontved C.M., Ingvartsen K.L., Sorensen N.S., Heegaard P.M. & Jensen H.E. 2003. **Early pathogenesis and inflammatory response in experimental bovine mastitis due to Streptococcus uberis.** J. Comp. Path. 128:156164.
- PERFORMANCE standards for antimicrobial disk susceptibility test (CLSI-NCCLS).8.ed. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
- PHILPOT, W. N., NICKERSON, S.C., **Mastitis: Counte Attack.**, Waperville., 1991., p.150
- QUINN, P.J.; MARKEY, B.K., CARTER, M.E. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.**Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B.K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E.S.; FANNING, S.; HARTIGAN, P.J. **Microbiologia veterinária e doença microbiana.** Reino Unido:Wiley-Blackwell; p.245-257. 2011
- RADOSTITS, O. M. et al., **Clínica Veterinária**, 9 ed., Rio de Janeiro: 2000.
- RADOSTITS O.M., GAY C.C., BLOOD D.C. & HINCHCLIFF K.W. 2002. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos.** 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1737p.
- RADOSTITS O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Medicina veterinária: um livro sobre as doenças de bovinos, cavalos, ovelhas, porcos e cabras.** Filadélfia PA: SaundersElsevier; p. 722-724, 2007.
- RATO M. G., BEXIGA, R., FLORINDO, C., CAVACO, L.M., VILELA C.L. & SANTOS-SANCHES I. 2013. **Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of streptococci from bovine mastitis.** Vet.Microbiol.v. 161, n. 3, p. 286-294.

RIBEIRO M.G., LANGONI H., DOMINGUES P.F. & PANTOJA J.C.F. 2016. **Mastite em animais domésticos**, p.1155-1205. In: Megid J., Ribeiro M.G. & Paes A.C. (Eds), Doenças Infeciosas em Animais de Produção e de Companhia. Roca, Rio de Janeiro.

RIBEIRO, M.G. **Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia**. In: ANDRADE, S.F. (Ed). Manual de terapêutica veterinária. 3.ed. Roca: São Paulo, 2008. p.759-771.

RUEGG, P. L. **Mastitis in large animals**. In: Kahn C.M, editor. The Merck Veterinary Manual, Duluth, GA: Meck& Co. Inc: p. 1248-1257. 2010.

SANTANA, R. S. **Mastite subclínica em vacas com diferentes proporções genótípicas Holandês-Gir**. Universidade Federal de Alagoas [Pós-graduação]. Viçosa – AL, 2018.

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

SANTOS, M.V. **Como secar de forma permanente quartos mamários com mastite crônica?** Disponível em: < <https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/como-secar-de-forma-permanente-quartos-mamarios-com-mastite-cronica-206108n.aspx>>

SILANIKOVE N., MERIN U., SHAPIRO F. & LEITNER G. 2014. **Milk metabolites as indicators of mammary gland functions and milk quality**. J. Dairy Res. 81:358-363.

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

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**. Res. Cien. Eletr. de Med. Veterinária. Ano III, n. 14. Jan. 2010.

SMITH BRADFORD P., **Medicina Interna de Grandes Animais**., 3º ed. Barueri, SP., 2006.

SONGER, J. G.; POST, K. W. **Veterinary microbiology. Bacterial and fungal agents of animal disease**. St Louis: Elsevier Saunders: p.84-91, 2005.

WILSON, D. J.; GONZALES, R. N.; DAS, H. H. **Bovine mastitis pathogens in New York and Pensilvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk productin.** J. Dairy Sci., v.80, p.2592-2597, 1997.

ZASTEMPOWSKA E.; LASSA H. **Genotypic characterization and evaluation of na antibiotic resistance of Trueperella pyogenes(Arcanobacterium pyogenes) isolated form milk of dairy cows with clinical mastitis.** Vet. Microbiol. 161: 153-158. 2012.

ZHOU, Y.; REN, Y.; FAN, C.; SHAO H., ZHANG Z.; MAO, W. et al. **Survey of myctic mastitis in dairy cows from Heilongjiang Province, China.** Trop. Anim. Health Proc., v. 45, p. 1709-1714. 2013.