

## OCORRÊNCIA DE MASTITE BOVINA CAUSADA POR *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. E *Candida* sp. EM UMA PROPRIEDADE RURAL NO MUNICÍPIO DE INDIANÓPOLIS – MINAS GERAIS, BRASIL

*OCCURRENCE OF BOVINE MASTITIS CAUSED BY Staphylococcus sp., Streptococcus sp. AND Candida sp. IN A RURAL AREA OF INDIANÓPOLIS – MINAS GERAIS, BRAZIL*

**Laura Gonçalves da Silva CHAGAS<sup>1</sup>; Poliana de Castro MELO<sup>2</sup>; Nayara Gonçalves BARBOSA<sup>3</sup>; Ednaldo Carvalho GUIMARÃES<sup>4</sup>; Denise von Dolinger de BRITO<sup>5</sup>**

1. Médica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária – FAMEV, Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Uberlândia, MG, Brasil, [lauravetufu@gmail.com](mailto:lauravetufu@gmail.com); 2. Doutora em Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” Campus Jaboticabal, Jaboticabal, SP, Brasil; 3. Mestranda em Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas - UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 4. Professor, Doutor do Núcleo de Estudos Estatísticos e Biométricos, Faculdade de Matemática – UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 5. Professora Efetiva, Doutora do Instituto de Ciências Biomédicas, Área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia – UFU, Uberlândia, MG, Brasil.

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de mastite bovina por *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. e *Candida* sp. em uma propriedade rural no município de Indianópolis, Minas Gerais. Foi realizado o *California Mastitis Test* (CMT) em seis coletas, totalizando 671 amostras de leite positivas. Em seguida, foi realizado o exame microbiológico, no qual os resultados revelaram a presença de 137 amostras de leite com multiplicação microbiana. Dessas, constatou-se a presença de *Staphylococcus aureus* (45,2% das estirpes), demais estafilococos coagulase positiva (10,2%), *Staphylococcus epidermidis* (9,4%), *Staphylococcus simulans* (5,8%), demais estafilococos coagulase negativo (15,3%), *Streptococcus agalactiae* (7,2%), demais *Streptococcus* sp. (5,1%) e leveduras (1,4%). Verificou-se que 100% dos estafilococos foram sensíveis à rifampicina, gentamicina e ciprofloxacina; entretanto, resistentes à penicilina, tetraciclina e oxacilina. Em relação aos estreptococos, houve sensibilidade aos antimicrobianos empregados, exceto a clindamicina, a eritromicina e a tetraciclina. Conclui-se que existe grande necessidade de práticas adequadas de higienização e tomada de medidas profiláticas, a fim de reduzir a infecção dos animais por micro-organismos contagiosos e resistentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Análise microbiológica. Antimicrobianos. Leite. Micro-organismos. Resistência bacteriana.

### INTRODUÇÃO

A mastite bovina é um processo inflamatório da glândula mamária e sua incidência é preponderante em rebanhos leiteiros de todo o mundo, causando prejuízo econômico e sanitário para produtores e laticínios. Além disso, a mastite pode representar um risco potencial à saúde de homens e bezerros, pois o leite pode servir como um transmissor de micro-organismos patogênicos e enterotoxinas (ZAFALON et al., 2009).

*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* são as bactérias mais comumente isoladas e estão presentes na maioria das infecções clínicas (LAKEW; TOLOSA; TIGRE, 2009; MEDEIROS; SOUZA, 2009; ERICSSON UNNERSTAD et al., 2009). Outros importantes micro-organismos que têm ocorrido nas mastites são os estafilococos coagulase negativa (SCN), sendo que *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus simulans* são encontrados com alta frequência em amostras de leite (HERMANS;

DEVRIESE; HAESBROUCK, 2004). São reconhecidos por causar elevada Contagem de Células Somáticas (CCS) e reduzir a produção de leite (WATTS; RAY; WASHBURN, 1991). Oliveira et al. (2011) relataram os SCN como causadores da mastite clínica e subclínica, podendo estar relacionado à falta de higiene nos locais de ordenha e das mãos do ordenhador. Não obstante, é frequente encontrar micro-organismos ambientais como *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* e leveduras como *Candida* sp. (SANTOS; MARIN, 2005; SPANAMBERG et al., 2008; ERICSSON UNNERSTAD et al., 2009).

A introdução de medidas racionais de controle da mastite requer investigações sistemáticas visando o reconhecimento, a avaliação e a interpretação dos fatores epidemiológicos mais importantes (OLIVEIRA; MELO; AZEVEDO, 2009). Sendo assim, é importante o diagnóstico dos patógenos envolvidos na doença antes de realizar algum tratamento, para que este seja eficaz, prático e econômico.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de mastite bovina clínica e subclínica por *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. e *Candida* sp. em uma propriedade rural no município de Indianópolis, Minas Gerais, Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma propriedade rural produtora de leite tipo B no município de Indianópolis, estado de Minas Gerais, no período de 2009 a 2010, totalizando seis coletas de leite. Foi avaliado um rebanho com 85 vacas em lactação da raça Girolando, as quais foram submetidas ao teste CMT, conforme Schalm e Noorlander (1957). Após a limpeza do óstio papilar com álcool etílico 70% (v/v), utilizou-se tubos de ensaio esterilizados para acondicionar amostras individuais de 2 a 5 ml de leite, de cada quarto mamário positivo para o CMT, antes do início da ordenha, de acordo com as normas de assepsia propostas por Harmon et al. (1990). Os tubos contendo as amostras foram colocados em caixa de material isotérmico contendo cubos de gelo e levados ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Uberlândia, sendo que o tempo de coleta do leite e início das análises foi de duas horas.

As amostras de leite foram semeadas no meio seletivo ágar Baird Parker (SILVA et al., 2010) e depois incubadas em ambiente aeróbico a 37°C durante 24 a 48h. Houve a análise morfológica bacteriana pela coloração de Gram, com posteriores testes de catalase e coagulase em tubo para a diferenciação dos estafilococos coagulase positivo (ECP) e estafilococos coagulase negativo (ECN) (KONEMAN et al., 2001).

*Staphylococcus aureus* e os outros ECP foram identificados por produção de acetoína e fermentação da maltose e trealose (MAC FADDIN, 1976; MURRAY et al., 1999; KONEMAN et al., 2001). Enquanto *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus simulans* e os outros ECN foram testados em um esquema simplificado, segundo Koneman et al. (2001), quanto à utilização da sacarose e trealose, crescimento em meio anaeróbico tioglicolato e sensibilidade à polimixina B.

A identificação de *Streptococcus* sp. foi realizada utilizando o meio seletivo ágar KF *Streptococcus* (Oxoid) e as amostras foram incubadas em ambiente de microaerofilia a 37°C durante 48h. Posteriormente, houve a análise morfológica bacteriana pela coloração de Gram, teste de catalase, prova da bÍlis-esculina, CAMP e hidrólise da L-pirrolidonil-β-naftilamida (PYR) para

identificação das espécies de *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus* sp. e *Enterococcus* sp. (KONEMAN et al., 2001).

As amostras de leite colhidas também foram semeadas no ágar Sabouraud Dextrose (Oxoid, USA) e incubadas em temperatura ambiente por seis dias. Foi realizada a análise morfológica pela coloração de Gram para confirmar a multiplicação das leveduras, a qual foi feita pela grande facilidade de contaminação do meio por outros micro-organismos como *Staphylococcus* sp. As leveduras foram semeadas no meio CHROMagar Candida (CHROMagar Company, Paris, França) para diferenciar *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*, por meio da coloração das colônias isoladas na superfície do ágar (KONEMAN et al., 2001).

O antibiograma foi realizado segundo Koneman et al. (2001) e o resultado pesquisado em guias de interpretação da concentração inibitória mínima, publicados pelo Manual "Clinical and Laboratory Standards Institute" CLSI (2006).

Para *Staphylococcus* sp. foram testados: cefepime, ciprofloxacina, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, gentamicina, oxacilina, penicilina G, rifampicina, sulfazotrim, tetraciclina e vancomicina. Para *Streptococcus* sp. testou-se: cefepime, cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, penicilina, tetraciclina e vancomicina.

Para a análise estatística dos resultados foram utilizados os testes de comparação múltipla de proporções com níveis de significância de 5% entre o total de cada micro-organismo e entre os antimicrobianos (BIASE; FERREIRA, 2009). Para comparação entre as variáveis relacionadas à mastite subclínica e clínica, efetuou-se análise univariada, utilizando o Teste do qui-quadrado e Exato de Fisher pelo programa Epi Info 2005, com uma significância definida pelo  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 85 vacas leiteiras avaliadas, foram colhidas 1608 amostras de leite e, posteriormente, submetidas ao CMT. Dessas, 937 (58,3%) foram consideradas negativas e 671 (41,7%) positivas. Observou-se na primeira colheita que 30 (53,0%) animais apresentavam mastite subclínica e nove (16,0%), mastite clínica (Tabela 1). Sucedeu aumento de animais com mastite subclínica, principalmente, a partir de janeiro a abril de 2010. Tal fato pode ter sido ocasionado pela existência de micro-organismos contagiosos e ambientais existentes no rebanho e também pela higienização incorreta dos utensÍlios pelos funcionários, o que

era observado nos dias das colheitas das amostras, além da terapia da vaca seca, que não era seguida de forma efetiva pelos funcionários. De forma geral, a

mastite subclínica manteve maior frequência durante todas as colheitas comparadas à mastite clínica.

**Tabela 1.** Frequência de vacas com mastite subclínica e clínica em uma propriedade leiteira no município de Indianópolis – MG, no período de setembro de 2009 a junho de 2010.

Mês/Ano	Total de animais	Animais com mastite subclínica		Animais com mastite clínica		Animais negativos para o CMT	
		N	%	N	%	N	%
Set/09	57	30	53	9	16	18	31
Nov/09	75	36	48	4	5	35	47
Jan/10	61	39	64	2	3	20	33
Fev/10	85	62	73	4	5	19	22
Abr/10	69	48	70	1	1	20	29
Jun/10	55	35	64	6	11	14	25
Índice Médio	67	41,5	62	4,3	7	18,8	31

Os resultados obtidos foram semelhantes aos registrados por Freitas et al. (2005), que examinaram 246 animais, totalizando 984 quartos mamários. Desses, 10 (1,0%) apresentaram mastite clínica, 562 (57,1%) mastite subclínica e 412 (41,9%) foram negativos. Oliveira, Melo e Azevedo (2009) constataram que, dos 893 quartos mamários examinados, 15 (1,7%) apresentavam mastite clínica e 288 (32,2%) mastite subclínica.

Nota-se um alto índice de mastite neste estudo. A proporção de casos clínicos em relação aos subclínicos foi de 1:10 (Tabela 1), sendo observada uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ), semelhante ao encontrado por Costa et al. (2008). Estes dados foram

superiores aos de Costa et al. (2001), com 1:6 em rebanhos leiteiros de São Paulo e de Minas Gerais e por Bueno et al. (2002), com 1:8 em rebanhos da região de Pirassununga – SP.

A frequência de mastite subclínica está associada com o isolamento de estafilococos que são patógenos que formam bolsões na região dos alvéolos, podendo também formar biofilmes o que explica a sua prevalência em casos de mastite subclínica.

O agente etiológico mais prevalente foi *Staphylococcus aureus* (45,0%), seguido de *Staphylococcus epidermidis* (10,0%). Os grupos dos demais ECN totalizaram 15,0% das estirpes e dos ECP 10,0% (Tabela 2).

**Tabela 2.** Perfil microbiológico de amostras de leite colhidas de vacas leiteiras que apresentaram reações ao *California Mastitis Test* em propriedade leiteira no município de Indianópolis – MG, no período de setembro de 2009 a junho de 2010.

Agente	Set		Nov		Jan		Fev		Abr		Jun		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>S. aureus</i>	12	38,7	9	32,1	6	54,6	14	56,0	14	63,7	7	35,0	62a	45,2
Outros ECP	3	9,6	3	10,7	1	9,1	3	12,0	2	9,1	2	10,0	14b	10,2
<i>S. epidermidis</i>	2	6,5	2	7,2	1	9,1	3	12,0	1	4,5	4	20,0	13b	9,4
<i>S. simulans</i>	1	3,2	2	7,2	1	9,1	1	4,0	-	-	3	15,0	8b	5,8
Outros ECN	8	25,9	2	7,2	2	18,1	4	16,0	2	9,1	3	15,0	21b	15,3
<i>S. agalactiae</i>	-	-	9	32,1	-	-	-	-	1	4,5	-	-	10b	7,2
<i>Streptococcus</i> sp.	3	9,6	1	3,5	-	-	-	-	2	9,1	1	5,0	7b	5,1
<i>Enterococcus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leveduras	2	6,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2b	1,4
<i>Candida</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	31	100	28	100	11	100	25	100	22	100	20	100	137	100

Legenda: *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; ECP: Estafilococos coagulase positivo; *S. epidermidis*: *Staphylococcus epidermidis*; *S. simulans*: *Staphylococcus simulans*; ECN: Estafilococos coagulase negativo; *S. agalactiae*: *Streptococcus agalactiae*; - (hífen): Fenômeno não ocorre. \*As porcentagens da penúltima coluna seguidas de letras iguais, não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de proporção com significância de 5%. Sendo que *Staphylococcus aureus* (a) possuem diferença estatisticamente significativa frente aos demais micro-organismos (b).

A prevalência de *Staphylococcus aureus*, como causadores da mastite bovina, pode estar relacionada aos mecanismos de resistência, tais como a presença do biofilme associados à redução da susceptibilidade a antimicrobianos, ao baixo percentual de cura durante a lactação e à presença deles tanto no ambiente quanto nos animais e no homem, considerando o fato desses patógenos não serem classificados como ambientais (MELO, 2008).

Segundo Lakew, Tolosa e Tigre (2009), em Asella, Etiópia, *Staphylococcus* sp. (41,4% dos quartos mamários) e *Streptococcus* sp. (24,8%) foram mais prevalentes nos casos de mastite clínica e subclínica. Assim como Oliveira, Melo e Azevedo (2009), na região dos Tabuleiros Costeiros, de Sergipe, os quais isolaram 196 (21,9%) amostras de *Staphylococcus aureus*, 104 (11,6%) de ECN e 67 (7,5%) de *Streptococcus agalactiae*.

Nagahata et al. (2007) realizaram um estudo de mastite no sul de Hokkaido, Japão, com 57 vacas da raça Holandesa e encontraram *Staphylococcus aureus* (12,8%), ECN (12,8%), *Corynebacterium bovis* (16,7%) e os estreptococos ambientais (4,0%).

Medeiros e Souza (2009) analisaram 16 propriedades rurais leiteiras, na região de Cerqueira César, São Paulo. Os agentes patogênicos isolados nas amostras de leite de quartos mamários positivos para mastite clínica ou subclínica foram: *Staphylococcus aureus* (30,0%), *Corynebacterium bovis* (23,0%), *Staphylococcus* spp. (15,0%), *Staphylococcus hyicus* (6,0%), *Streptococcus* spp. (6,0%), *Streptococcus uberis* (5,0%) e *Streptococcus dysgalactiae* (2,0%).

Várias espécies dos ECN foram encontradas por Beloti et al. (1997) em propriedades de leite B da região do norte do Paraná, totalizando 37 (12,5%) amostras positivas. As espécies com maior frequência foram: 10 (25,0%) de *Staphylococcus hyicus*, seis (15,0%) de *Staphylococcus chromogenes*, seis (15,0%) de *Staphylococcus epidermidis* e duas (5,0%) de *Staphylococcus simulans*.

Todas as leveduras foram semeadas no meio CHROMagar Candida, porém, nenhuma demonstrou multiplicação. A causa provável é por pertencer a outro gênero, como *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ou *Trichosporon*, as quais também ocorrem em mastite bovina (SANTOS; MARIN, 2005; SPANAMBERG et al., 2009).

*Candida* sp. tem sido associada à mastite de bovinos, e em alguns casos, predominando em relação às demais leveduras como o estudo de Costa et al. (2008) que evidenciaram *Candida* spp. em 25,5% das amostras de leite analisadas em um dos

rebanhos. Mas, nesse estudo não foi detectada *Candida* sp., o que evidencia a pouca relevância de micro-organismos deste gênero na etiologia da mastite do rebanho estudado.

O não isolamento de *Candida* sp está relacionado com outras pesquisas que relatam a baixa frequência destes micro-organismos em casos de mastite bovina. A pesquisa deste patógeno foi no intuito de verificar se essa baixa frequência está relacionada com algum tipo de manejo e com a resistência do animal, sendo que neste estudo não foi possível o isolamento destes, podendo assim ser relatado a resistência dos animais em relação a este patógeno e ou outros fatores relacionados com a imunidade destes animais.

As 118 estirpes de estafilococos isoladas demonstraram sensibilidade a maioria dos antimicrobianos testados. Os antimicrobianos com 100% de eficácia foram: rifampicina, gentamicina e ciprofloxacina. Entretanto, foi observado um percentual de resistência de *Staphylococcus* sp. de 61,8% à penicilina, 15,2% à oxacilina e 9,3% à tetraciclina (Tabela 3).

Alguns autores mencionam a resistência de *Staphylococcus* sp. à penicilina, como é o caso de Andrade et al. (2000) e Scapin, Zanette e Rossi (2010), que verificaram *Staphylococcus aureus* resistentes na porcentagem de 76,3% e 46,1%, respectivamente.

Dados semelhantes, quanto à resistência dos ECP à penicilina e à tetraciclina, foram obtidos por Freitas et al. (2005) com 80,0% à penicilina e 26,0% à tetraciclina e por Martins et al. (2009) com 86,6% à penicilina e 39,0% à tetraciclina.

Com relação à oxacilina, foi detectado *S. epidermidis* e *S. simulans* resistentes a este antimicrobiano. Verificou-se alguns resultados similares na literatura, como os de Costa et al. (2000) e Machado, Correa e Marin (2008), com 80,7% e 36,3% de ECN resistentes, respectivamente, diferente de Beloti et al. (1997) que não encontraram cepas de ECN resistentes.

A variação dos níveis de sensibilidade talvez possa ser explicada pelo uso indiscriminado e inadequado (subdosagens) de antimicrobiano na Medicina Veterinária, possibilitando a seleção de cepas resistentes, pela eliminação de cepas sensíveis e, ainda, pela presença da betalactamase em algumas cepas de *Staphylococcus aureus* (ANDRADE et al., 2000; FREITAS et al., 2005).

Quanto à resistência aos antimicrobianos pelos *Streptococcus* sp., defrontou-se com um percentual médio de 76,4% à clindamicina, 58,8% à eritromicina e 58,8% à tetraciclina (Tabela 4).

Resultados semelhantes foram obtidos por Moreira, Silva e Mesquita (1997), com 45,1% das cepas resistentes à tetraciclina, e por Ferreira et al. (2010), que observaram 40,0% das cepas de *Streptococcus* sp. resistentes à eritromicina.

Hendriksen et al. (2008) e Pitkälä, Koort e Bjorkroth (2008) também verificaram que *Streptococcus* sp. isolados foram resistentes à eritromicina e à tetraciclina. Entretanto, Pitkälä Koort e Bjorkroth (2008) relataram sensibilidade à clindamicina.

**Tabela 3.** Porcentagem de resistência aos antimicrobianos de agentes contagiosos isolados de vacas com mastite subclínica e clínica em uma propriedade leiteira no município de Indianópolis – MG, no período de setembro de 2009 a junho de 2010.

Antimicrobiano	<i>S. aureus</i> (n=62)	Outros ECP (n=14)	<i>S. epidermidis</i> (n=13)	<i>S. simulans</i> (n=8)	Outros ECN (n=21)
PEN	67,7a	64,2a	38,4a	50,0a	61,9a
OXA	4,8a	-	53,8b	62,5b	14,2a
SUT	-	14,2	7,6	25,0	4,7
TET	8,0a	28,5a	-	-	9,5a
CLO	-	-	-	12,5	4,7
CLI	1,6	-	-	-	9,5
ERI	1,6	7,1	-	-	4,7
VAN	1,6	-	-	-	4,7
COM	1,6	-	-	-	-
RIF	-	-	-	-	-
GEN	-	-	-	-	-
CIP	-	-	-	-	-

Legenda: RIF: Rifampicina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; CPM: Cefepime; VAN: Vancomicina; CLO: Cloranfenicol; TET: Tetraciclina; CLI: Clindamicina; SUT: Sulfametoxazol-trimetoprim; ERI: Eritromicina; OXA: Oxacilina; PEN: Penicilina; - (hífen): Fenômeno não ocorre. \*As porcentagens nas linhas seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de proporção com significância de 5%.

**Tabela 4.** Porcentagem de resistência dos microrganismos frente aos antimicrobianos de isolados de vacas com mastite subclínica e clínica em uma propriedade leiteira no município de Indianópolis – MG, no período de setembro de 2009 a junho de 2010.

Antimicrobiano	<i>Streptococcus agalactiae</i> (n=10)	Outros <i>Streptococcus</i> sp. (n=7)
CLI	90,0a	57,1a
ERI	80,0a	28,5b
TET	90,0a	14,2b
PEN	10,0a	28,5a
CPM	-	28,5
VAN	-	28,5
CLO	-	-

Legenda: CLO: Cloranfenicol; CPM: Cefepime; VAN: Vancomicina; PEN: Penicilina; ERI: Eritromicina; TET: Tetraciclina; CLI: Clindamicina; - (hífen): Fenômeno não ocorre. \*As porcentagens nas linhas seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de proporção com significância de 5%.

É relevante destacar a limitação deste estudo quanto à afirmação da sensibilidade ou resistência das estirpes de estreptococos aos antimicrobianos, devido ao baixo número de estirpes isoladas durante a pesquisa.

A presença de micro-organismos contagiosos como causadores da mastite, representa a necessidade de práticas adequadas de higienização durante a ordenha e tomada de medidas profiláticas. A terapia antimicrobiana é uma ferramenta primordial para o tratamento da mastite. Por isso, os

testes de suscetibilidade antimicrobiana devem guiar o veterinário a selecionar o mais apropriado agente antimicrobiano para tratamento de infecções intramamária. Surge então, a importância de um monitoramento periódico e contínuo das informações sobre a mastite no rebanho para obter sucesso no controle dessa doença. De fato, o controle da sanidade e das boas práticas de manejo e higiene de ordenha são fundamentais para manutenção do rebanho com menor número de casos de mastite subclínica e agentes patogênicos.

## CONCLUSÕES

Foram isolados com maior frequência *Staphylococcus aureus*, seguidos de estafilococos coagulase negativa e *Streptococcus agalactiae*. Não houve isolamento de *Candida* sp.

O número de casos de mastite subclínica foi superior aos casos de mastite clínica.

O monitoramento das práticas de manejo, cuidado e higiene, parecem evitar a presença de micro-organismos importantes tais como os *S. aureus* em casos de mastite subclínica.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq por financiar a pesquisa e ao ICBIM por disponibilizar o transporte.

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the occurrence of bovine mastitis by *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. and *Candida* sp. in a rural area of Indianópolis, Minas Gerais. It was realized the California Mastitis Test (CMT) in six collect, a total 671 of milk sample positive. Then the microbiological examination was performed, where the results revealed the presence of 137 milk samples with microbial multiplication. These, showed the presence of *Staphylococcus aureus* (45.2% of strains), other coagulase negative *Staphylococcus* (10.2%), *Staphylococcus epidermidis* (9.4%), *Staphylococcus simulans* (5.8%), other coagulase negative (15.3%), *Streptococcus agalactiae* (7.2%), other *Streptococcus* sp. (5.1%) and yeasts (1.4%). It was found that 100% of *Staphylococcus* were susceptible to rifampicin, gentamicin and ciprofloxacin; but, resistant to penicillin, tetracycline, and oxacillin. Regarding antimicrobial susceptibility *Streptococcus*, were employed, except to clindamycin, erythromycin and tetracycline. We conclude that there is a great necessity of proper hygiene practices and taking prophylactic measures taken in order to reduce the infection of animals caused by infectious microorganisms and resistance.

**KEYWORDS:** Antimicrobial, Bacterial resistance, Microbiological analysis, Microorganisms, Milk.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. A.; DIAS FILHO, F. C.; MESQUITA, A. J.; ROCHA, P. T. Sensibilidade *in vitro* de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 1, n. 1, p. 53-57, 2000.
- BELOTI, V.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C.; METTIFOGO, E. Estudo da mastite subclínica em rebanhos leiteiros no norte do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 45-53, 1997.
- BIASE, N. G.; FERREIRA D. F. Comparações múltiplas e testes simultâneos para parâmetros binomiais de k populações independentes. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 301-323, 2009.
- BUENO, V. F. F.; NICOLAU, E. S.; MESQUITA, A. J.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B.; COSTA, E. O.; COELHO, K. O.; NEVES, R. B. S. Mastite bovina clínica e subclínica na região de Pirassununga, SP: frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 47-52, 2002.
- CLSI – CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 6 ed. v. 21. Wayne, Pennsylvania, 2006. (Approved Standard M7-A5). p. 46-52.
- COSTA, E. O.; BENITES, N. R.; GUERRA, J. L.; MELVILLE, P. A. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 47, n. 2, p. 99-103, 2000.
- COSTA, E. O.; GARINO JÚNIOR, F.; WATANABE, E. T.; SILVA, J. A. B. Proporção de ocorrência da mastite clínica em relação à subclínica correlacionada com os principais agentes etiológicos. **Revista Nappama**, São Paulo, v. 4, n. 3, p. 10-13, 2001.
- COSTA, G. M.; SILVA, N.; ROSA, C. A.; FIGUEIREDO, H. C. P.; PEREIRA, U. P. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do sul do estado de Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1938-1942, 2008.

- ERICSSON UNNERSTAD, H.; LINDBERG, A.; WALLER, K. P.; EKMAN, T.; ARTURSSON, K.; NILSSON-ÖST, M.; BENGTSSON, B. Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. **Veterinary Microbiology**, Geneva, v. 137, n. 1-2, p. 90-97, 2009.
- FERREIRA, J. L.; PIGATTO, C. P.; LINS, J. L. F. H. A.; AGUIAR FILHO, J. L. C.; CAVALCANTE, T. V. Bactérias causadoras de mastite subclínica em rebanhos leiteiros no município de Teresina, Piauí. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, n. 14, 2010. Disponível em <<http://www.revista.inf.br/veterinaria14/artigos/RCEMV-AnoVIII-Edic14-Art08.pdf>>. Acesso em: 23 novembro 2010.
- 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.; SENA, M. J.; 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. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 171-177, 2005.
- HARMON, R. J.; EBERHART, R. J.; JASPER, D. E.; LANGLOIS, B. E.; WILSON, R. A. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection**. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34 p.
- HENDRIKSEN, R. S.; MEVIUS, D. J.; SCHROETER, A.; TEALE, C.; MEUNIER, D.; BUTAYE, P.; FRANCO, A.; UTINANE, A.; AMADO, A.; MORENO, M.; GREKO, C.; STÄRK, K.; BERGHOLD, C.; MYLLYNIEMI, A. L.; WASYL, D.; SUNDE, M.; AARESTRUP, F. M. Prevalence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens isolated from cattle in different European countries: 2002–2004. **Acta Veterinaria Scandinavica**, London, v. 50, n. 28, p. 1-10, 2008.
- HERMANS, K.; DEVRIESE, L. A.; HAESEBROUCK, F. *Staphylococcus* In: GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J. G.; THOEN, C. O. (Eds). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. Cap. 4. 3 ed. Ames: Blackwell Publishing, 2004. p. 43-55.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JUNIOR, W. C. **Diagnóstico microbiológico** – Texto e atlas colorido. 5 ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001. p.551-588, 614-623, 1066, 1311-1312, 1334-1335.
- LAKIEW, M.; TOLOSA, T.; TIGRE, W. Prevalence and major bacterial causes of bovine mastitis in Asella, South Eastern Ethiopia. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 41, n. 7, p. 1525-1530, 2009.
- MAC FADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1976. 312 p.
- MACHADO, T. R. O.; CORREA, M. G.; MARIN, J. M. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from mastitis cattle in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 278-282, 2008.
- MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M.; ALBUQUERQUE, L. M. B.; FONTELES, T. V.; REGO, S. L.; FAHEINA JUNIOR, G. S. Perfil de resistência de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas de manipuladores de alimentos. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 27, n. 1, p. 43-52, 2009.
- MEDEIROS, M. I. M.; SOUZA, L. C. Associação de agentes patogênicos isolados em análise microbiológica da água, com a presença de mastite clínica ou subclínica, em vacas de propriedades leiteiras da Região de Cerqueira César-SP. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 580-585, 2009.
- MELO, P. C. **Estudo fenotípico e genotípico da produção de biofilmes por estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas dos casos de mastite subclínica bovina**. 2008. 200 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal. 2008.

- MOREIRA, P. C.; SILVA, L. A. F.; MESQUITA, A. J. Resistência do *Staphylococcus* coagulase positiva e *Streptococcus* sp. isolados do leite de vacas com mastite clínica na bacia leiteira de Goiânia. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária da Universidade Federal de Goiânia**, Goiânia, v. 27, n. 2, p. 61-68, 1997.
- MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of Clinical Microbiology**. 7 ed. Washington: American Society for Microbiology (ASM Press), 1999. 1773 p.
- NAGAHATA, H.; ITO, H.; MARUTA, H.; NISHIKAWA, Y.; SUSUKINO, H.; MATSUKI, S.; HIGUCHI, H.; OKUHIRA, T.; ANRI, A. Controlling highly prevalent *Staphylococcus aureus* mastitis from the dairy farm. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 69, n. 9, p. 893-898, 2007.
- OLIVEIRA, A. A.; MELO, C. B.; AZEVEDO, H. C. Diagnóstico e determinação microbiológica da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 10, n. 1, p. 226-230, 2009.
- OLIVEIRA, C. M. C.; SOUZA, M. G. S.; SILVA, N. S.; MENDONÇA, C. L.; SILVEIRA, J. A. S.; OAIGEN, R. P.; ANDRADE, S. J. T.; BARBOSA, J. D. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 104-110, 2011.
- PITKÄLÄ, A.; KOORT, J.; BJÖRKROTH, J. Identification and antimicrobial resistance of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis* isolated from bovine milk samples. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 10, p. 4075-4081, 2008.
- SANTOS, R. C.; MARIN, J. M. Isolation of *Candida* spp. from mastitic bovine milk in Brazil. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 159, n. 2, p. 251-253, 2005.
- SCAPIN, D.; ZANETTE, E.; ROSSI, E. M. Suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de bovinos com suspeita de mastite. **Unoesc & Ciência – ACBS**, Joaçaba, v. 1, n. 1, p. 65-70, 2010.
- SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Research**, Schaumburg, v. 130, n. 5, p. 199-204, 1957.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. (Eds). **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 624p.
- SPANAMBERG, A.; WÜNDER JUNIOR, E. A.; PEREIRA, D. I. B.; ARGENTA, J.; SANCHES, E. M. C.; VALENTE, P.; FERREIRO, L. Diversity of yeasts from bovine mastitis in Southern Brazil. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Barcelona, v. 25, p. 154-156, 2008. Disponível em: <<http://www.reviberoammicol.com/2008-25/154156.pdf>> Acesso em: 03 jun. 2011.
- SPANAMBERG, A.; SANCHES, E. M. C.; SANTURIO, J. M.; FERREIRO, L. Mastite micótica em ruminantes causada por leveduras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 282-290, 2009.
- WATTS, J. L.; RAY, C. H.; WASHBURN, P. J. A convenient method for differentiation of coagulase-negative Staphylococci isolated from bovine mammary glands. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 2, p. 426-428, 1991.
- ZAFALON, L. F.; ARCARO, J. R. P.; NADER FILHO, A.; FERREIRA, L. M.; VESCHI, J. L. A. *Staphylococcus aureus* portadores de genes de toxinas isolados em amostras de diferentes fontes de transmissão durante a ordenha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 269-277, 2009.