

PROBLEMAS DE DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO CORRETO EM CASOS DE MASTITE: OCORRÊNCIA DE RESISTÊNCIA DE ANTIBIÓTICOS

Data de submissão: 08/09/23

Data de aceite: 01/11/2023

Diogo Trentin

Centro Universitário Unimater
Pato Branco- PR
<https://orcid.org/0009-0000-9572-018X>

Gustavo Pizzatto

Centro Universitário Unimater
Pato Branco- PR
<https://orcid.org/0009-0005-8406-9236>

Micheli Lorensete

Centro Universitário Unimater
Pato Branco- PR
<https://orcid.org/0009-0006-3362-3863>

RESUMO: Muitas enfermidades atingem o rebanho leiteiro brasileiro, com ênfase o processo inflamatório da glândula mamária, denominada como mastite bovina, provindo geralmente de um processo infeccioso, podendo se apresentar de duas formas clínicas, sendo elas mastite clínica ou mastite subclínica. A forma de maior facilidade de identificação pelo produtor é a forma clínica, caracterizada por sinais visuais, podendo ser no leite (grumos, coágulos, sangue, pus, leite aquoso) ou quadros sistêmicos (febre, anorexia, desidratação). Por outro lado, a forma subclínica acaba passando despercebida, devido à ausência de sinais

clínicos, entretanto, o prejuízo acarretado é maior, apresentando redução de produção no quarto mamário afetado e perda na qualidade do leite. Devido à dificuldade de identificação alguns métodos devem ser aderidos, entre eles análise de células somáticas (CCS>200.000 céls/ml.) e testes como Califórnia mastites teste (CMT). A mastite acarreta cerca de 70% das perdas de produção dentro das propriedades, sendo essencial seu controle. Infelizmente, o uso exacerbado e errôneo de antibióticos vem acarretando problemas de resistência de diversas cepas bacterianas, além do resíduo remanescente no leite, levando a longos períodos de descarte. Para um controle correto dentro das propriedades, alguns métodos devem ser aderidos, por exemplo, a cultura microbiana que se faz ponto chave no diagnóstico, denominando o agente etiológico é possível designar um tratamento correto com o auxílio de um antibiograma. Visando auxiliar os produtores no controle e prevenção da mastite dentro das propriedades desenvolveu-se esse projeto com o objetivo buscar alternativas, métodos de controle e tratamento da mastite em algumas propriedades. Informando os produtores sobre o uso indevido e exacerbado de antibióticos e os

problemas que isso pode causar, auxiliando assim na diminuição de incidência da mastite na propriedade. Desta forma, foi desenvolvido um projeto composto em duas fases (fase I e fase II). A fase I foi a apresentação do projeto, junto com uma palestra de conscientização de métodos de prevenção, identificação e controle da mastite. Essa foi desenvolvida na comunidade do Caravaggio, Vitorino-PR, e contou com a presença de 20 produtores locais, no entanto, o projeto foi limitado para 150 animais. Portanto, foi selecionado um número de propriedades conforme o número de animais e aceitação do produtor, onde foi acompanhado a ordenha realizando o teste da caneca de fundo preto e o teste do CMT. Desta forma, nos casos positivos obtidos por meio dos testes foi realizada a colheita desse leite, destinando para laboratório realizando cultura bacteriana e antibiograma. Orientação de linhas de ordenha, utilização de pré e pós dipping, entre outras foi realizado na propriedade. Na fase II, composta pela parte laboratorial, realizou-se os testes de cultura e antibiograma. Após obtenção de resultados foi realizada devolutiva junto aos produtores. Assim, o resultado obtido visa conscientizar produtores de que uma análise adequada do tipo de agente e qual antibiótico usar pode resultar em mais ganho um melhor bem-estar dos animais e um alimento mais saudável para a população.

PALAVRAS-CHAVE: processo inflamatório, antibiograma, sinais clínicos.

PROBLEMS OF DIAGNOSIS AND CORRECT TREATMENT IN CASES OF MASTITIS: OCCURRENCE OF ANTIBIOTIC RESISTANCE

ABSTRACT: Many diseases affect the Brazilian dairy herd, with emphasis on the inflammatory process of the mammary gland, known as bovine mastitis, usually resulting from an infectious process, which can present in two clinical forms, namely clinical mastitis or subclinical mastitis. The form that is most easily identified by the producer is the clinical form, characterized by visual signs, which can be in the milk (lumps, clots, blood, pus, watery milk) or systemic conditions (fever, anorexia, dehydration). On the other hand, the subclinical form ends up going unnoticed, due to the absence of clinical signs, however, the damage caused is greater, with reduced production in the affected mammary quarter and loss of milk quality. Due to the difficulty of identification, some methods must be adhered to, including somatic cell analysis (CCS>200,000 cells/ml.) and tests such as the California mastitis test (CMT). Mastitis causes about 70% of production losses within properties, and its control is essential. Unfortunately, the exacerbated and erroneous use of antibiotics has been causing problems of resistance of several bacterial strains, in addition to the remaining residue in milk, leading to long periods of disposal. For a correct control within the properties, some methods must be adhered to, for example, the microbial culture that becomes a key point in the diagnosis, naming the etiological agent it is possible to designate a correct treatment with the aid of an antibiogram. Aiming to assist producers in controlling and preventing mastitis within the properties, this project was developed to seek alternatives, methods of control, and treatment of mastitis in some properties. Informing producers about the misuse and exacerbation of antibiotics and the problems that this can cause, thus helping to reduce the incidence of mastitis on the property. In this way, a project composed of two phases (phase I and phase II) was developed. Phase I was the presentation of the project, along with a lecture to raise awareness of mastitis prevention, identification, and control methods. This was developed in the community of Caravaggio, Vitorino-PR, and was attended by 20 local producers, however, the project was

limited to 150 animals. Therefore, several properties were selected according to the number of animals and the producer's acceptance, where the milking was followed by performing the black bottom mug test and the CMT test. Thus, in the positive cases obtained through the tests, the milk was collected and sent to the laboratory for bacterial culture and antibiogram. Orientation of milking lines, and use of pre and post-dipping, among others, was carried out on the property. In phase II, consisting of the laboratory part, the culture and antibiogram tests were carried out. After obtaining results, devolution was carried out with the producers. Thus, the result obtained aims to make producers aware that an adequate analysis of the type of agent and which antibiotic to use can result in more gain, better animal welfare, and healthier food for the population.

KEYWORDS: inflammatory process, antibiogram, clinical signs.

1 | INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, o mercado leiteiro vem sofrendo modificações, principalmente o mercado consumidor desse leite, se tornando cada vez mais exigente. Nessas mudanças percebe-se a diminuição na quantidade de produtores, devido a vários fatores, entre eles, a falta de mão de obra, maior exigência do mercado consumidor e desvalorização do produtor. No entanto, os que ainda continuam buscam maior tecnificação e qualidade de produto, conseguindo alcançar maiores mercados, com maior valorização do seu produto.

A mastite bovina caracteriza-se como o processo inflamatório da glândula mamária, geralmente de caráter infeccioso, classificada como mastite clínica ou mastite subclínica (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Para isso o controle da mastite se faz essencial dentro dessas propriedades. A mastite é uma inflamação da glândula mamária, é uma doença responsável por cerca de 70% das perdas da produção, os antibióticos são amplamente utilizados no tratamento de afecções da glândula mamária e seu uso errôneo pode acarretar diversos problemas, dentre eles, pode-se mencionar a possibilidade de resíduos no leite e resistência de algumas cepas bacterianas. As perdas também se dão pelo leite descartado, pois, em razão da carência de antibióticos, o leite não pode ser enviado para a indústria. Muitas vezes, o custo seria menor com a prevenção da doença do que com o tratamento em si, pensando nisso desenvolveu-se esse projeto que tem com o objetivo buscar alternativas, métodos de controle e tratamento da mastite em algumas propriedades (NERO *et al.*, 2007).

Inicialmente, para poder falar sobre o processo inflamatório da glândula mamaria, é necessário conhecer sua anatomia, bem como o processo fisiológico da formação do leite. A porção produtora de leite é denominada de úbere, a qual possui subdivisões dentro de sua estrutura, chamadas de quarto mamário, estes apresentam intercomunicações de vasos sanguíneos e linfáticos, mas são anatomicamente separados por tecido conjuntivo. Desta forma é possível compreender que existe casos de mastites que afetem um quarto mamário de forma isolada, não apresentando alterações nos demais, pois não existe comunicação direta entre os quartos mamários do úbere, o que impede a passagem de leite, células ou microrganismos de um quarto para outro (SANTOS; FONSECA, 2019).

A formação do leite acontece dentro de cada quarto mamário individualmente, como já mencionado acima, mais precisamente nos alvéolos secretores, estrutura essa composta por células que produzem esta secreção e liberam para o lúmen dos túbulos coletores. O alvéolo mamário é considerado a unidade básica de secreção de leite da glândula mamária (SANTOS; FONSECA, 2019).

O leite bovino é um líquido complexo que contém água, glicídios (basicamente lactose), gorduras, proteínas (principalmente caseína), minerais e vitaminas em diferentes estados de dispersão (OLIVEIRA; TIMM, 2006). Essas características proporcionam um ambiente favorável para a multiplicação de bactérias. No entanto, o agravamento da mastite depende da relação e do balanço entre três fatores principais: a capacidade de resposta imune da vaca, a patogenicidade do agente causador e fatores estressantes (SANTOS; FONSECA, 2019).

Na listagem dos principais agentes etiológicos causadores da mastite, é possível classificar em patógenos contagiosos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* e *Mycoplasma bovis*), patógenos ambientais (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equinus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. e *Pseudomonas* spp.), patógenos secundários ou menores (*Staphylococcus* spp. coagulase-negativas) e patógenos incomuns (*Arcanobacterium pyogenes*, *Nocardia* spp., *Pasteurella* spp., *Mycobacterium bovis*, *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens*, algumas espécies de bactérias anaeróbias, fungos e leveduras), conforme classificação elencada por Radostits *et al.*, 2002 *apud* Oliveira *et al.*, 2011.

A inflamação da glândula mamaria pode ocorrer de duas formas, crônica e aguda, sendo que a forma crônica pode ser mais associada à mastite subclínica, ou a patógenos de superfície (contagiosos), já a forma aguda tem como característica demonstrar sinais clínicos em um curto período de tempo, comum se apresentar em casos de patógenos ambientais. Segundo Santos & Fonseca (2019), a manifestação da mastite inclui a forma aguda, hiperaguda, crônica e latente.

Pode-se também classificar a mastite perante sua forma de manifestação, basicamente essa classificação é denominada pela presença ou não de sinais clínicos. A forma clínica, conforme salientam Santos & Fonseca (2019), pode apresentar presença de grumos, coágulos, sangue, pus e leite aquoso, além de sinais visuais como edema ou inchaço, aumento de temperatura, endurecimento e dor, bem como sinais sistêmicos no animal. Entretanto, a forma subclínica tem como característica a ausência de alterações visíveis, levando a perda de produção e baixa de imunidade, acarretando maior prejuízo e estando presente na maioria dos rebanhos leiteiros (SANTOS; FONSECA, 2019).

O diagnóstico dessa enfermidade se faz indispensável dentro de um rebanho. Para isso, existem métodos eficazes, segundo Santos & Fonseca (2019), como a identificação do patógeno causador através de cultura microbiana, testes rápidos como CMT, caneca

do fundo preto e CCS são as formas mais comuns e assertivas. O teste da caneca de fundo preto tem como objetivo identificar presença de grumo nos três primeiros jatos, o teste do CMT o resultado se dá pela coagulação do leite que foi depositado na raquete, essa alteração acontece, caso for positivo, pela ação do adicional, onde sua composição é um detergente, levando a degradação da membrana e exposição do citosol das bactérias presentes, seu parâmetro de avaliação é definido como +, ++ e +++, variando pela sua densidade (SANTOS; FONSECA, 2019). Já o teste de CCS realiza a identificação de presença de células de descamação do epitélio da glândula, sua medida é representada por células/ml. e é definido como presença de mastite contagens acima de 200.000 cél/ml (MAPA: IN nº 51,2002).

O tratamento na maioria dos casos se faz através do uso de antibióticos. No entanto, o uso errôneo e exacerbado em alguns casos vem acarretando prejuízos ao bem-estar da população, pois a maior quantidade de resíduos de antibiótico no leite é acarretada do tratamento de mastites. Além do mais, a presença de resíduos de antibiótico no leite possui efeitos deletérios para a saúde do consumidor, podendo causar vários efeitos indesejáveis, como seleção de cepas bacterianas resistentes, no ambiente e no consumidor, hipersensibilidade e possível choque anafilático em indivíduos alérgicos a essas substâncias, desequilíbrio da flora intestinal, além de efeito teratogênico (NERO *et al.*, 2007).

2 | MATERIAIS E METODOS

2.1 MATERIAIS

- 1- Alça de Drigalski
- 2- Álcool 70%;
- 3- Algodão
- 4- Caixa de conservação
- 5- Caneca de fundo preto;
- 6- CMT;
- 7- Estufa Bacteriológica;
- 8- Ficha de Acompanhamento;
- 9- Lamparina;
- 10- Leite;
- 11- Luvas
- 12- Material de divulgação
- 13- Micropipetador;

- 14- Papel toalha
- 15- Placa de Petri;
- 16- Ponteira;
- 17- Raquete;
- 18- Tubo de coleta com conservante;

2.2 MÉTODOS

O método de divulgação do projeto aderido foi por meio de palestra para os produtores. Para isso, no dia 03 de março de 2023 foi realizado essa palestra com os produtores de leite da comunidade do Caravaggio, no município de Vitorino/PR. O objetivo da palestra foi apresentar o projeto de forma que os produtores aceitassem a presença da equipe de coleta na propriedade durante a ordenha, aonde realizara-se os testes para a identificação da mastite (CMT e teste da caneca do fundo preto) e posteriormente, se obtivesse casos positivos, coletasse o leite para ser enviado ao laboratório para realização de cultura microbiana.

A palestra contou com aproximadamente 20 produtores locais. No entanto, o limite do projeto era de 150 animais, desta forma apenas 5 produtores participaram deste, totalizando um número de 148 animais, sendo essa amostragem de raças mistas (holandesa e Jersey), sem padrão de tamanho, idade e dias em lactação (del).

A realização dos testes, bem como o procedimento correto a ser realizado, segue métodos descritos por Santos & Fonseca (2019). Desta forma, realizou-se a desinfecção dos tetos com o pré-dipping, além da higienização da ponta do teto com um algodão. Após os tetos limpos e higienizados, foi realizado o teste da caneca de fundo escuro para visualizar as alterações no leite da mastite clínica. Posteriormente, realizou-se o teste da raquete, coletando jatos de leite de cada quarto mamário em compartimentos diferentes da raquete, misturado o adicional (detergente CMT), para visualizar as alterações no leite do quarto mamário causadas pela mastite subclínica. Depois de misturado, se possuir formação de uma gelatina/gel, com uma coloração roxa, significa que há presença da mastite, então, o leite desse quarto mamário é colocado em um tubo de coleta e armazenado em temperatura entre 4° C e 7 °C.

Quando os tubos de coleta chegaram ao laboratório foi realizado o teste de cultura microbiana e o teste de sensibilidade a antibióticos (TSA). Utilizando uma pipeta regulada em 0,1 microgramas, é retirado o leite do tubo de coleta e colocado em uma placa de petri com meio de cultura para bactérias. Após isso, o leite é espalhado cuidadosamente com uma alça de *drigalski* por toda a placa, seguindo para a estufa a 36 °C, permanecendo neste ambiente por 24 horas. Nesta fase, após crescimento bacteriano, segue a realização da sorotipagem desta, passando por uma bateria de testes realizado por outra equipe, bem

como o teste de sensibilidade a antibióticos (TSA).

3 | RESULTADO E DISCUSSÃO

Dos 148 animais avaliados, 4,05 % (6) animais apresentavam mastite clínica, 14,86 % (22) animais apresentavam mastite subclínica, e 81,08% (120) animais se apresentavam saudáveis. A prevalência da mastite subclínica se mostrou próxima aos estudos de Oliveira *et al.* (2011), porém, se mostrou bem inferior ao estudo de Bandeira *et al.* (2013), que obteve prevalência de 53% dos animais testados.

Dentro dos 4,05% (6) animais que apresentaram mastite clínica, 83,33% (5) animais eram contaminados com coliformes fecais (*E. coli*, *Klebsiela*, *Citrobacter* e *Enterobacter*), e 16,66% (1) dos animais contaminado com o gênero *staphilococcus*. A prevalência dos casos de mastite subclínica que totalizaram 14,68% (22), constatou-se que 68,18% (15) dos animais apresentaram contaminação por bactérias do gênero *Staphilococcus*, 13,63% (3) dos animais pelo gênero *Streptococcus*, 4,54% (1) dos animais por coliformes fecais e 22,72% (5) dos animais apresentou resultado inconclusivo, sendo que em nenhum dos casos foi definido a espécie de bactéria presente.

O teste de sensibilidade a antibióticos (TSA), utilizou-se de 5 princípios ativos, sendo eles ampicilina (1), cefalexina (2), enrofloxacina (3), ciprofloxacina (4) e penicilina (5), os antibióticos escolhidos seguiram o padrão de escolha conforme os mais utilizados pelos produtores. Nos casos de mastite clínica (4,05%), constatou-se que 100% (6) dos animais se mostraram sensíveis aos antibióticos 1,3 e 4. Já para o antibiótico 2, 50% (3) dos animais se apresentou sensíveis, aonde a outra metade apresentou resistência. Para o antibiótico 5, 66,66% (4) dos animais se mostrou sensível, com 33,33% (2) dos animais resistentes.

Nos casos de mastite subclínica (14,86% – 22 animais), para o antibiótico 1, 54,54% (12) dos animais se mostrou sensível, 22,72% (5) resistente e 22,72% (5) inconclusivo. Para o antibiótico 2, 40,9% (9) dos animais se mostraram sensíveis, 36,36% (8) resistentes e 22,72% (5) inconclusivo. Para o antibiótico 3, 63,63% (14) dos animais se mostraram sensíveis, 13,63% (3) resistente e 22,72% (5) inconclusivo. Para o antibiótico 4, 59,09% (13) dos animais se mostraram sensíveis, 18,18% (4) resistente e 22,72% (5) inconclusivo. Para o antibiótico 5, 22,72% (5) dos animais se mostraram sensíveis, 54,54% (12) resistente e 22,72% (5) inconclusivo.

Observou-se que em todas as propriedades participantes eram utilizados métodos de higienização de equipamentos e instalações, como lavagem de ordenhas, sala de espera e sala de ordenha. Além de uso de pré dipping e pós dipping, secagem de tetos e lavagem quando necessário. No entanto, as questões de ambiente, em alguns casos, não eram as mais adequadas, como a presença de barro e elevada umidade.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ante o exposto, foi possível observar baixa prevalência de mastite subclínica comparado a outros autores. No entanto, a prevalência de casos relacionado a bactérias do gênero *Staphylococcus*, chegando a 68,18% dos casos. Além de apresentarem altos níveis de resistência, a maior parte dos antibióticos testados, listando em ordem decrescente pelo nível de resistência, antibiótico 5 (54,54%), antibiótico 2 (36,36%), antibiótico 1 (22,72%), antibiótico 4 (18,18%), antibiótico 3 (13,63%), constatou-se que a penicilina possui o maior nível de resistência e a enrofloxacin com menor nível neste teste. Contudo, muitos dos tratamentos utilizados pelos produtores se fazem ineficazes, levando, assim, a um uso errôneo exacerbado de antibióticos.

REFERÊNCIAS

BANDEIRA, F.S.; PICOLI, T.; ZANI J.L.; SILVA, W.P.da; FISCHER, G.; **Frequência de *Staphylococcus aureus* em casos de mastite bovina subclínica, na região Sul do Rio Grande do Sul.** Arq.

Inst. Biol., São Paulo, v.80, n.1, p.1-6, jan./mar., 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/nhngm37MBPCPcVLh9XZfJHw/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 08 de setembro de 23.

MINISTÉRIO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução**

Normativa nº 51/2002, de 18 de setembro de 2002. Brasília, 2002. Disponível em: https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=141673&filename=LegislacaoCitada%20INC%20611/2003. Acesso em: 07 de setembro de 2023.

NERO, L. A.; MATTOS, M.R.de; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; FRANCO, B.D.G.de M.; **Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil.** Cienc Tecnol Aliment, v. 27, n. 2, p. 391-393, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/4WpVtNfH45PYR8G48TVJsVC/?lang=pt&format=html#>. Acesso em: 08 de setembro de 2023.

OLIVEIRA, C.M.C.; SOUSA, 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.v.31, n.2, p.104-110. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/JT4Y54pzCQNrTDhQvqvjV35F/#>. Acesso em: 08 de setembro de 2023.

OLIVEIRA, D.S; TIMM, C.D.; **Composição do leite com instabilidade da caseína.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(2): 391-393, abr.-jun. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/5gSDF9fxDsFNLNDYgnv6drs/#>. Acesso em: 06 de setembro 2023.

SANTOS, M.V.dos; FONSECA, L.F.L. da.; **Controle de mastite e qualidade do leite- Desafios e soluções.** Pirassununga-SP: Edição dos Autores, 2019. 301 p.