



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA REGIÃO TOCANTINA DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-CCA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MARLA THUANY DE SOUSA SILVA

**Perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias Gram-positivas
isoladas de vacas com mastite na região Sudoeste maranhense**

Imperatriz

2025

MARLA THUANY DE SOUSA SILVA

Perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias Gram-positivas isoladas de vacas com mastite na região Sudoeste maranhense

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão como requisito básico para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária.

Orientadora:

Profa. Dra. Monalisa de Sousa Moura Souto

Imperatriz

2025

S586p

Silva, Marla Thuany de Sousa

Perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias Gram-positivas isoladas de vacas com mastite na região Sudoeste maranhense. / Marla Thuany de Sousa Silva. – Imperatriz, MA, 2025.

41 f.; il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Medicina Veterinária) – Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL, Imperatriz, MA, 2025.

1. Multirresistência. 2. Saúde única. 3. Terapia antimicrobiana. 4. Imperatriz - MA. I. Título.

CDU 618.19:636.2

Ficha elaborada pelo Bibliotecário: **Kacio Micael Oliveira Vidal CRB13/988**

Perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias Gram-positivas isoladas de vacas com mastite na região Sudoeste maranhense

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão como requisito básico para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária.

Data de aprovação: 10 / 02 / 2025

Banca Examinadora

Monalisa Souto

Prof. Dra. Monalisa de Sousa Moura Souto (Orientadora)
Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL

Luiz Eduardo Cruz dos Santos Correia

Prof. Dr. Luiz Eduardo Cruz dos Santos Correia (1º Membro)
Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL

Ermilton Junior Pereira de Freitas

Prof. Dr. Ermilton Junior Pereira de Freitas (2º Membro)
Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho em memória de Elza Maria da Conceição, minha querida avó, que recentemente fez sua páscoa. Toda a minha gratidão a você que por tantos anos se dedicou a família para que todos estivessem bem. Você é o meu exemplo de mulher temente a Deus, forte, destemida e que não media esforços quando o assunto é ser generosa. Amo-te até o céu, meu passarinho.

Também dedico em memória de Antônia Bezerra Moraes, Sonia Moraes e Lilica. Minhas três princesas que hoje já não estão aqui para compartilhar esse momento.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por todas as bênçãos derramadas sobre a minha vida e por tudo que me proporcionou durante a graduação. Ao divino Espírito Santo que me conduziu, me auxiliou e me iluminou. Ao meu Salvador, Jesus Cristo, por ser o meu sustento em todas as adversidades. E a minha mãe, Maria Santíssima, que sempre intercede em meu favor junto a seu Filho.

Aos meus pais, Joelson e Maria de Lourdes, por todo apoio, incentivo e esforço para que eu fizesse a graduação. Sem vocês não seria possível chegar até aqui.

Aos meus avós, Raimunda e Antônio, que com muita paciência e amor me assistiram durante essa jornada.

Aos meus irmãos, Juan e Italo, obrigada por serem meus companheiros de vida. Vocês me impulsionam a ser cada vez melhor.

A minha amiga Thiaga, Eliza Maria, por ser o meu socorro, consolo e minha confidente fiel.

Ao meu namorado, Guilherme, que foi meu ombro e me deu ânimo nos dias que eu achei que não iria conseguir.

A minha querida amiga que a universidade me deu, Amanda, que me acompanhou desde o primeiro dia de aula da graduação e foi o meu apoio nas fases difíceis e a minha alegria nas conquistas.

Aos meus amigos Géssika e Murillo, por todo carinho, atenção e por todos os conselhos preciosos.

Ao meu grupo de oração, minha segunda casa e meu refúgio.

A minha orientadora, Monalisa Souto, obrigada por toda paciência em me acompanhar, aconselhar, direcionar e por transmitir um pouco do seu conhecimento. Você é uma inspiração.

Ao meu “O Avião vai decolar” Tainara, Wendes e Marcos, que há tantos anos e mesmo com a distância nunca deixaram de se fazerem presentes e me apoiar quando preciso.

Aos meus colegas de graduação por todo auxílio na construção do conhecimento.

A minha parceira de laboratório Lilyan, que me ajudou com todo o processo das análises e virou uma amiga que levarei comigo para sempre.

Aos meus parentes e amigos que seria impossível cataloga-los aqui, o meu agradecimento.

“Até aqui nos socorreu o senhor”

1Samuel 7, 12

RESUMO

A mastite bovina é a inflamação da glândula mamária de causa multifatorial e complexa que envolve o animal, o ambiente e patógenos e tem como principal forma de tratamento e controle a antibioticoterapia, entretanto, estudos mostram o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. O presente trabalho teve como objetivo identificar o perfil de sensibilidade antimicrobiana dos microrganismos causadores da mastite em vacas leiteiras da região Sudoeste do Maranhão. Neste estudo, foram analisados 270 isolados bacterianos por meio do teste de disco difusão em ágar Mueller-Hinton, utilizando os antimicrobianos cefoxitina, ciprofloxacino, eritromicina, gentamicina, penicilina, sulfametoxazol + trimetoprima e tetraciclina. A partir de um crescimento *overnigh* os isolados foram colocados em suspensão em PBS na concentração de 0,5 da escala McFarland, para posterior semeadura e disposição dos discos de antimicrobianos, e incubados por 18 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Passado o período de incubação os halos foram aferidos com paquímetro calibrado e os resultados tabulados em planilha do Microsoft Excel 2019®. Dentre os isolados, haviam 70 *Staphylococcus aureus*, 90 *Staphylococcus* Coagulase Negativo, 67 *Staphylococcus* Coagulase Positivo não aureus, 36 *Bacillus* spp., 4 *Enterococcus* spp. e 3 *Streptococcus* spp. O padrão de sensibilidade dos microrganismos foi determinado conforme os critérios do CLSI (2022) e BrCast (2023), categorizando os isolados como sensível (S), intermediário (I) ou resistente (R). Isolados foram considerados multirresistentes quando apresentaram resistência a três ou mais classes de antimicrobianos. Os resultados indicaram que a penicilina foi o antimicrobiano menos eficaz contra os isolados de *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp. O caráter de multirresistência foi encontrado nos gêneros *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* Coagulase Negativa, achado bastante preocupante devido a possibilidade de disseminação desses genes de resistência entre cepas bacterianas tanto da mesma espécie quanto para outras espécies. Para cada grupo de bactérias foram encontrados isolados resistentes a pelo menos um antimicrobiano testado. Nota-se, a importância do conhecimento do perfil de sensibilidade antimicrobiana dos microrganismos da região, como indicador de tratamento eficaz nos rebanhos, bem como na prevenção de riscos à saúde humana.

Palavras-chave: Multirresistência; Saúde única; Terapia antimicrobiana.

ABSTRACT

Bovine mastitis is an inflammation of the mammary gland with a multifactorial and complex etiology involving the animal, the environment, and pathogens. The primary method for treatment and control is antibiotic therapy; however, studies have shown an increase in bacterial resistance to antimicrobials. This study aimed to identify the antimicrobial susceptibility profile of microorganisms causing mastitis in dairy cows in the Southwest region of Maranhão. A total of 270 bacterial isolates were analyzed using the disk diffusion test on Mueller-Hinton agar with the following antimicrobials: ceftiofur, ciprofloxacin, erythromycin, gentamicin, penicillin, sulfamethoxazole + trimethoprim, and tetracycline. After overnight growth, the isolates were suspended in PBS at a 0.5 McFarland standard concentration, followed by inoculation and placement of the antimicrobial disks. The plates were incubated for 18 ± 2 hours at $35 \pm 2^\circ\text{C}$. After incubation, inhibition zones were measured using a calibrated caliper, and the results were recorded in a Microsoft Excel 2019® spreadsheet. Among the isolates, there were 70 *Staphylococcus aureus*, 90 coagulase-negative *Staphylococcus*, 67 coagulase-positive non-*aureus* *Staphylococcus*, 36 *Bacillus* spp., 4 *Enterococcus* spp., and 3 *Streptococcus* spp. The susceptibility pattern of the microorganisms was determined according to CLSI (2022) and BrCast (2023) guidelines, categorizing the isolates as susceptible (S), intermediate (I), or resistant (R). Isolates were considered multidrug-resistant when they exhibited resistance to three or more antimicrobial classes. The results indicated that penicillin was the least effective antimicrobial against *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. Multidrug resistance was found in *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., and coagulase-negative *Staphylococcus*, a concerning finding due to the potential spread of resistance genes among bacterial strains, both within the same species and across different species. For each bacterial group, isolates resistant to at least one tested antimicrobial were identified. This study highlights the importance of understanding the antimicrobial susceptibility profile of microorganisms in the region as an indicator of effective treatment strategies for livestock and as a preventive measure to mitigate risks to human health.

Keywords: Multidrug Resistance; One Health; Antimicrobial Therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Placas de antibiograma com diferentes discos testados impregnados com antimicrobianos.....	27
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação dos microrganismos isolados de vacas com mastite de rebanhos leiteiros pertencentes aos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão, estado do Maranhão.....	26
Tabela 2 - Teste do qui-quadrado para verificação de associação significativa entre os testes de sensibilidade e os municípios pesquisados.....	28
Tabela 3 - Perfil de sensibilidade de bactérias isoladas de vacas com mastite pertencentes aos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão, estado do Maranhão, frente aos sete antimicrobianos testados.....	28
Tabela 4 - Resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de vacas com mastite de rebanhos pertencentes aos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão....	29
Tabela 5 - Resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de vacas com mastite de rebanhos pertencentes aos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão, estado do Maranhão.....	30
Tabela 6 - Perfil de sensibilidade dos 270 isolados de amostras pertencentes a rebanhos dos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão, estado do Maranhão.....	30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Mastite bovina.....	13
2.2	Classificação das mastites.....	14
2.3	Microrganismos causadores da mastite.....	15
2.3.1	Bactérias Gram-positivas.....	15
2.3.2	Bactérias Gram-negativas.....	16
2.3.3	Fungos e algas.....	17
2.4	Diagnóstico.....	17
2.5	Tratamento, controle e prevenção.....	18
2.6	Mecanismo de ação dos antimicrobianos.....	20
2.6.1	Inibição da síntese da parede celular.....	20
2.6.2	Inibição da síntese de proteínas.....	21
2.6.3	Desestabilização da membrana da célula bacteriana.....	21
2.6.4	Interferência na síntese de ácido nucleico.....	21
2.6.5	Inibição da síntese de folato.....	22
2.7	Mecanismo de resistência bacteriana.....	22
2.7.1	Produção de enzimas que degradam ou modificam antimicrobianos.....	23
2.7.2	Sistema de efluxo hiperexpresso.....	23
2.7.3	Alterações do sítio alvo de ligação do antimicrobiano.....	24
2.7.4	Bloqueio ou proteção do sítio alvo do antimicrobiano.....	24
2.8	Uso de antimicrobianos na medicina veterinária.....	24
2.9	Risco da mastite para a saúde pública.....	25
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
4	RESULTADOS.....	28
5	DISCUSSÃO.....	30
6	CONCLUSÕES.....	33
	REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

A mastite é uma das principais causas de prejuízos econômicos dentro da pecuária leiteira, por conta da queda na produção de leite, custo com tratamento, descarte precoce de animais e do leite. Essa enfermidade é caracterizada pelo processo inflamatório da glândula mamária de causa complexa e multifatorial que envolve o animal, ambiente e patógenos. Estes patógenos podem ser bactérias, fungos e algas, sendo as bactérias incriminadas em 90% dos casos, e está relacionada, sobretudo, com o manejo sanitário e higiênico dos animais e do processo de ordenha (Ramos *et al.*, 2017; Zimermann; Araújo, 2017; Maiochi; Rodrigues; Wosiacki, 2019; Damasceno *et al.*, 2020; Fonseca *et al.*, 2021).

As bactérias, principais causadoras da mastite, são divididas em dois principais grupos: Gram-positivas e Gram-negativas. As bactérias Gram-positivas são caracterizadas por possuir uma camada espessa de peptidoglicano responsável pela retenção do cristal violeta no processo de coloração de Gram que confere a cor azul ou roxa. São o grupo de maior importância epidemiológica para a mastite bovina, pois são as mais isoladas nos estudos realizados, estão associadas tanto a mastite contagiosa quanto ambiental (Bandoch; Melo, 2011; Silva, 2021; Alves *et al.*, 2024; Reviello, 2024).

As bactérias Gram-negativas são caracterizadas por uma parede celular mais complexa composta por uma camada fina de peptidoglicano localizado entre a membrana externa e membrana interna, este não retém o cristal violeta e quando descorado pelo álcool ou acetona apresenta a coloração vermelha ou rosa. Apresentam ainda na membrana externa a presença de lipopolissacarídeos (LPS) importantes para a patogenicidade e atuando como endotoxinas. Essas bactérias são encontradas principalmente no ambiente como barro, fezes, urina e camas orgânicas, estão associadas a mastite ambiental (Zimermann; Araújo, 2017; Coser; Lopes; Costa, 2012; Martins *et al.*, 2010; Reviello, 2024).

A terapia antimicrobiana é o instrumento primário para o tratamento das mastites, que quando bem direcionada contribui para a redução de microrganismos patogênicos no leite e o número de vacas infectadas no plantel, aumenta a quantidade de quartos mamários saudáveis e auxilia no melhoramento do bem-estar dos animais, uma vez que o causador da inflamação é eliminado (Penha, 2009).

Todavia, estudos sobre susceptibilidade dos agentes causadores da mastite bovina a antimicrobianos mostram um aumento progressivo do padrão de resistência aos diversos fármacos utilizados no tratamento dessa enfermidade. Esse cenário favorece o surgimento de microrganismo resistentes e multirresistentes, representando riscos tanto para a saúde animal, devido à redução nas taxas de cura e à limitação das opções terapêuticas, quanto para a saúde pública, pela presença de resíduos de antimicrobianos no leite e pela circulação de bactérias resistentes nos produtos lácteos (Penha, 2009; Riseti, 2015; Fonseca *et al.*, 2021).

Segundo Ribeiro (2021), a região sudoeste do Maranhão é conhecida como a maior bacia produtora de leite do estado, no entanto, não há estudos que mostrem o perfil de sensibilidade dos microrganismos causadores da mastite na região. Portanto, o objetivo do trabalho foi verificar o perfil de sensibilidade de bactérias Gram-positivas isoladas de vacas com mastite de propriedades leiteiras da região Sudoeste maranhense.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MASTITE BOVINA

A mastite é uma das doenças mais frequentes no rebanho leiteiro, sendo um desafio significativo para a produção devido à redução na qualidade e quantidade de leite, onde estima-se que 50% dos animais do rebanho brasileiro é afetado pela enfermidade. A ocorrência da mastite está fortemente associada com as práticas de manejo antes, durante e após a ordenha e tem como principal desencadeador da inflamação mamária a infecção bacteriana (Coser; Lopes; Costa, 2012; Acosta *et al.*, 2016; Tenório, 2022).

Ela pode ser causada por injúria química, física, metabólica ou infecção microbiológica, sendo a etiologia infecciosa a mais frequente. Dos casos de mastite cerca de 70% são de apresentação subclínica representando um risco importante pela manifestação silenciosa, os outros 30% são de apresentação clínica (Coser; Lopes; Costa, 2012; Ramos *et al.*, 2017).

O desenvolvimento da doença é ocasionado pela penetração do microrganismo no canal do teto e a apresentação clínica se dará pela capacidade do microrganismo de se adaptar, colonizar e multiplicar-se no úbere, do grau de virulência da cepa e da capacidade de resposta do hospedeiro (Costa, 1996; Acosta *et al.*, 2016).

A resposta a infecção da glândula mamária, assim como em outros tecidos, pode ser classificada em inata e adquirida. A imunidade inata é a primeira linha de defesa representada por barreiras físicas como pele, tampão de queratina e músculo esfíncter do teto. Por barreiras solúveis como o sistema complemento, lactoferrina, lisozima, lactoperoxidase e citocinas. E por barreiras celulares composto por células epiteliais mamárias, neutrófilos, macrófagos e células *natural killer*. Essa resposta está predominante nos estágios iniciais da infecção (Carneiro, 2009; Alves *et al.*, 2024; Acosta *et al.*, 2016 González *et al.*, 2018).

A imunidade adquirida é acionada quando o patógeno consegue escapar ou não é totalmente eliminado pela imunidade inata. Desencadeando uma resposta específica ao agente agressor, com ativação, proliferação e diferenciação de linfócitos T e B e aumento do estímulo de outros componentes inespecíficos da resposta imune, como citocinas, macrófagos e células *natural killer* (Neves, 2011).

2.2 CLASSIFICAÇÃO DA MASTITE

A mastite pode ser classificada quanto a apresentação sintomatológica em; clínica ou subclínica. Na mastite clínica, observa-se alterações visíveis do leite como o aparecimento de grumos, pus, sangue e aquosidade, podendo apresentar-se na forma subaguda, aguda, superaguda, crônica ou gangrenosa. Ainda pode apresentar sinais de inflamação do úbere como aumento da temperatura, edema, endurecimento e dor (Zimmermann; Araújo, 2017; Martins *et al.*, 2010).

A mastite subclínica é caracterizada por alterações na composição do leite, como aumento de células somáticas, proteínas séricas, diminuição da lactose, gordura e caseína, sem alterações macroscópicas na glândula mamária e por isso apresenta maior importância epidemiológica (Martins *et al.*, 2010; Zimmermann; Araújo, 2017).

Ainda, pode ser classificada quanto a origem da infecção em contagiosa e ambiental. Sendo a primeira causada por microrganismos que habitam o interior da glândula mamária e a superfície da pele dos tetos e úbere, principalmente *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma* spp. e *Corynebacterium bovis*, sendo transmitidos principalmente durante a ordenha de uma vaca/teto infectado para uma vaca/teto sadio. E a mastite ambiental, causada por microrganismos ambientais que se encontram principalmente em acúmulo de fezes, urina, barro e camas orgânicas, tendo a transmissão ocorrendo no período entre as

ordenhas, entre os principais microrganismos estão *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Streptococcus uberis* e *S. dysgalactiae* (Martins *et al.*, 2010; Coser; Lopes; Costa, 2012; Zimmermann; Araújo, 2017).

2.3 MICRORGANISMOS CAUSADORES DA MASTITE

Os agentes etiológicos causadores da mastite podem ser bactérias, fungos e algas. Estima-se que em torno de 137 espécies de microrganismos de 35 gêneros diferentes podem causar a enfermidade, no entanto as bactérias são as mais prevalentes, incriminadas em cerca de 90% das infecções, sendo que os *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* indentificadas em cerca de 95% dos casos. Os outros 5% são decorrente de microrganismos como *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Nocardia* spp. e *Bacillus* spp. (Tozzetti; Bataier; Almeida, 2008; Zimmermann; Araújo, 2017; Silva, 2021).

2.3.1 Bactéria Gram-positivas

Os *Staphylococcus* spp. são os agentes mais isolados nos casos de mastite tanto clínica quanto subclínica, estão distribuídos no ambiente e fazem parte da microbiota dos mamíferos. *Staphylococcus aureus* é capaz de causar infecções de longa duração com tendências a se tornar crônica e com baixa taxa de cura, além de produzir exotoxinas. A espécie *Staphylococcus coagulase negativa* é considerada emergente associada, principalmente, na forma subclínica agindo como patógenos oportunistas secundários por conta da baixa patogenicidade causando poucos danos a glândula mamária (Bandoch; Melo, 2011; Silva, 2021; Alves *et al.*, 2024).

Os *Streptococcus* spp. estão presentes em 60% do rebanho brasileiro e podem causar mastite contagiosa por *S. agalactiae*, ou ambiental por *S. uberis* e *S. dysgalactiae*, contribuindo para a elevação da contagem de bactérias e células somáticas no leite total do rebanho (Barbalho; Mota, 2001; Mesquita, 2017; Massote *et al.*, 2019; Bessa; Laranjeira, 2020).

Os *Bacillus* spp. são bactérias com formato de bastonete produtoras de endósporos, aeróbios e em alguns casos anaeróbios facultativo, e se movem por meio de flagelo. Estão associados a disseminação no ambiente e agem como oportunistas ocasionando mastites aguda ou superaguda (Montilla, 2023; Alves *et al.*, 2024).

Os *Corynebacterium* spp. são bactérias pleomórficas, intracelulares, anaeróbicas facultativas e imóveis, são altamente contagiosas e resistentes ao ambiente. A infecção por esta bactéria tem sido relatada com frequência entre os estudos realizados com altas porcentagens e sua ocorrência está atrelada à falta de desinfecção dos tetos após a ordenha e é considerado um agente secundário (Brito *et al.*, 1999; Neto, 2022 Castro, 2023; Soares *et al.*, 2024).

As bactérias do gênero *Mycoplasma* spp. não possuem parede celular rígida conferindo a elas característica pleomórfica pela capacidade de formar filamentos semelhantes aos fungos, são classificados filogeneticamente entre as bactérias Gram-positivas, porém na prática não são corados pela técnica de Gram sendo observadas pelo microscópio eletrônico. Pela ausência de parede celular não são afetadas por antimicrobianos geralmente utilizado para as outras bactérias como, por exemplo, as cefalosporinas e penicilinas, que atuam na parede celular bacteriana, no entanto são sensíveis ao aquecimento e desinfetantes comuns. A mastite causada por essa bactéria geralmente é crônica e apresenta agalaxia, sinal incomum em mastites por outros agentes etiológicos. Pode ocasionar sinais sistêmicos como artrites e alterações no apetite (Razin *et al.*, 1998; Brown *et al.*, 2011; Junqueira, 2017; Lopes, 2020).

As *Nocardia* spp. são bacilos aeróbios estritos e formam filamentos semelhantes aos dos fungos filamentosos. Os quartos acometidos por essa bactéria apresentam nódulos endurecidos perceptíveis ao toque com áreas de fibrose (Murray; Rosenthal; Pfaller, 2009; Campos *et al.*, 2023).

Os *Enterococcus* spp. são cocos dispostos em pares, catalase negativa e crescem em aerobiose e anaerobiose. São causadores de mastite ambiental de sintomatologia clínica ou subclínica com alta capacidade de adaptação e sobrevivência por longos períodos. Podem resistir a altas temperaturas, podendo estar presentes no leite após a pasteurização rápida (Murray; Rosenthal; Pfaller, 2009; Amato, 2023).

2.3.2 Bactérias Gram-negativas

Escherichia coli normalmente, está associada a mastite clínica nas primeiras semanas pós parto, podendo causar comprometimento sistêmico e consequente morte por toxemia. Podem permanecer em latência na glândula mamária durante o

período seco e, na próxima lactação, se manifestar clinicamente (Ribeiro *et al.*, 2006; Ferreira; Ribeiro, 2022).

Klebsiella spp. está presente no ambiente e no trato gastrointestinal dos animais. Possui capacidade de penetrar tecidos profundos da glândula mamária causando perdas produtivas e cronificação da doença (Ferreira; Ribeiro, 2022).

As *Pseudomonas* spp. são um grupo de bactérias que possuem capacidade de crescer em diversos ambientes e substratos. São bacilos não fermentadores de lactose, aeróbio e produzem pigmento verde com coloração uniforme. A mastite por essa bactéria geralmente se apresenta na forma clínica. A sua ocorrência é relativamente baixa, porém apresenta sério risco por ser um microrganismo psicotrófico e ser facilmente disseminado pela água, além da resistência a vários antimicrobianos dificultado o tratamento (Costa, 1996; Ferreira *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2022; Campos *et al.*, 2023).

2.3.3 Fungos e algas

Apesar de serem menos frequentes nos casos de mastite, a literatura, cada vez mais mostra a ocorrência de mastite por algas, fungos leveduriformes e filamentosos (Spanamberg, 2009).

Algas do gênero *Prototheca* spp. são consideradas emergentes nos casos de mastite subclínica, pode ser encontrada no solo, água e fezes. Possuem caráter zoonótico, resistência a penicilina, gentamicina e pasteurização (Yamamura, 2007; Spanamberg, 2009; Mendes; Silva; Araújo 2022).

Os fungos causam a enfermidade em casos de surtos clínicos de manifestação aguda de curta duração principalmente no pré e pós-parto. Pode ser desencadeada por falta de higiene e o uso prolongado de antimicrobianos via intramamária. Os principais fungos que estão envolvidos na mastite micótica são *Candida* spp., *Trichosporon* spp. e *Cryptococcus* spp. (Spanamberg, 2009; Oliveira, 2023).

2.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico das mastites é realizado por meio da inspeção minuciosa dos tetos, observando as características dos quartos mamários e do leite. A mastite clínica pode ser determinada a partir do exame físico do animal e a percepção da presença do processo inflamatório dos tetos e úbere com aumento da temperatura, edema,

alteração da coloração dos quartos ou dor a palpação, sinais sistêmicos como aumento da temperatura retal e alterações comportamentais como anorexia também podem ser percebidos. Para avaliar as características do leite é feito o teste da caneca de fundo escuro ou caneca telada onde é possível a visualização da existência de grumos, pus, aquosidade ou qualquer outra alteração física do leite (Massote *et al.*, 2019; Miaoichi; Rodrigues; Wosiacki, 2019).

A mastite subclínica é diagnosticada através de teste auxiliares por não apresentar sintomatologia que seja observada clinicamente. O *California Mastitis Test* (CMT) é um dos métodos indiretos mais utilizados para a detecção da doença a campo. O teste consiste em misturar uma amostra de leite com o reagente em bandeja apropriada, o que provoca a liberação do material nucleico das células somáticas presentes. Esse processo resulta em mudanças na coloração e viscosidade do leite devido à aglutinação das proteínas, indicando a presença de infecção (Coser; Lopes; Costa, 2012. Poll, 2012).

Outro método para identificação da mastite subclínica é o *Wiscosin Mastitis Test* (WMT) um aprimoramento do CMT, realizado em viscosímetro em tubo graduado. E ainda a Contagem de Células Somáticas (CCS), um teste qualitativo realizado em laboratório pelo sistema de citometria de fluxo ou no microscópio (Calimam; Gasparotto; Ribeiro, 2023)

Há ainda o diagnóstico microbiológico com isolamento e identificação dos agentes etiológicos em amostras de leite de vacas acometidas, sendo uma importante ferramenta, pois possibilita a identificação do perfil de agentes etiológicos envolvidos na ocorrência da mastite no rebanho, prevenção de novos casos e na decisão do tratamento. E, ainda, sobre o descarte de animais por mastite, em casos onde não seja possível o tratamento ou em baixas taxas de cura microbiológica (Brito, 2007; Miaoichi; Rodrigues; Wosiacki, 2019).

Além do isolamento, pode-se realizar também os testes de antibiograma, que visa apresentar padrão de sensibilidade dos microrganismos frente a diversos antimicrobianos, possibilitando a utilização desses resultados para uso adequado e maior eficiência nos tratamentos empregados, uma vez que os antimicrobianos não agem da mesma forma contra todos os microrganismos por fatores inerentes (Brito, 2007; Cades *et al.*, 2017).

2.5 TRATAMENTO, CONTROLE E PREVENÇÃO

O tratamento da mastite visa curar os casos clínicos, prevenir novos casos, melhorar o bem-estar animal, evitar a disseminação para outros animais e/ou quartos mamários saudáveis, a morte de animais e infecções no período seco (Langoni *et al.*, 2017).

O tratamento durante a lactação de vacas diagnosticadas com mastite clínica é indicado. Entretanto, estudos recentes mostram que nem todos os casos de mastite clínica necessitam de tratamento antimicrobiano. Por exemplo, mastites leves ou moderadas causadas por microrganismos Gram-negativos possuem uma alta taxa de cura espontânea, ou seja, é eliminado pelo próprio animal independente da administração de antimicrobianos, podendo ser tratado com anti-inflamatórios não esteroidais. Porém é necessário avaliar a evolução dos sintomas pelos próximos dias (Ruegg, 2021; Kurban *et al.*, 2022; Jong *et al.*, 2023).

Mastites clínicas com evolução grave devem ser tratadas imediatamente por meio de reidratação via oral ou sistêmica, antimicrobiano parenteral de amplo espectro por 3-5 dias, anti-inflamatórios não esteroidais e antimicrobiano intramamário (Pereira *et al.*, 2024).

O tratamento da vaca seca é instituído para vacas que foram diagnosticadas com mastite subclínica no final da lactação ou vacas que apresentaram mastite clínica repetidas vezes durante a lactação. Durante esse período a glândula mamária involui e há a renovação das células secretoras de leite. O tratamento consiste em aplicar antimicrobianos de longa ação e alta eficiência que mantêm níveis terapêuticos por 30-50 dias e não são diluídos pelo leite, como no período de lactação, aumentando as taxas de cura e diminuindo a prevalência de mastite clínica no início da próxima lactação. E, também, associação com selantes, como o subnitrato de bismuto, para atuar como barreira física análogo ao tampão de queratina do úbere (Coser; Lopes; Costa, 2012; Silva; Mota, 2019; Guimarães, 2022; Pereira *et al.*, 2024).

Animais com baixo CCS antecedente a secagem, podem receber o selante de tetos para evitar infecções intramamárias durante o período seco, podendo permanecer no teto por até 100 dias (Sales, 2021).

A busca por alternativas ao tratamento convencional tem levado ao desenvolvimento de abordagens naturais, como o uso de zeólitas e própolis, que podem auxiliar no controle da mastite sem a utilização de antibióticos. Além disso, em sistemas de produção orgânica, onde o uso de antimicrobianos é restrito, são

adotadas terapias alternativas como homeopatia, fitoterápicos e suplementos vitamínicos (Sharun *et al.*, 2021).

O controle e prevenção da mastite deve ser baseado em princípios de higiene e descarte de animais. É necessário, também, um programa de manejo higiênico-sanitário efetivo independentemente do tamanho do rebanho ou do tipo de método de ordenha. (Massote *et al.*, 2019; Matos, 2022).

A lavagem das mãos dos ordenhadores e antissepsia se faz importante por ser uma via importante de transmissão de bactérias. Deve ser realizada a retirada dos primeiros jatos de leite tanto para o diagnóstico da mastite clínica quanto subclínica e o descarte desses jatos pois contem maior carga microbiana (Tozzetti; Bataier; Almeida, 2008; Matos, 2022).

Devem ser instituídos o *pré-dipping* e *pós-dipping* diariamente, para prevenir a mastite ambiental e a mastite contagiosa respectivamente. Outra medida para auxiliar no controle da doença é a linha de ordenha que tem o objetivo de ordenhar primeiro as vacas sadias e posteriormente as vacas com mastite subclínica. Após a ordenha os animais devem receber alimentação para mantê-las de pé até que os tetos sequem e o canal do teto se feche completamente, evitando a contaminação ambiental (Silva; Nogueira *et al.*, 2016; Coser; Lopes; Costa, 2012; Massote, 2019).

O descarte de animais é necessário quando estes apresentam mastite crônica ou três casos clínicos na mesma lactação diminuindo as chances de animais sadios sejam contaminados. Em relação ao ambiente, este deve ser limpo constantemente evitando acúmulo de fezes, água parada ou lama principalmente nos locais de permanência dos animais (Coser; Lopes; Costa, 2012; Massote, 2019).

2.6 MECANISMOS DE AÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS

Existem duas categorias de antimicrobianos, os bactericidas e os bacteriostáticos. Atuam na eliminação e na inibição do crescimento dos microrganismos respectivamente. Cada antimicrobiano possui um mecanismo de ação, podendo agir na inibição da parede celular; inibição da síntese de proteínas; desestabilização da membrana da célula bacteriana; interferência na síntese de ácido nucleico; e inibição da síntese de folato (Nogueira *et al.*, 2016).

2.6.1 Inibição da síntese da parede celular

Os beta-lactâmicos são a principal classe de fármacos com este mecanismo de ação, apresentam um grupamento químico heterociclíco azetidionona denominado anel-betalactâmico que atam como bactericidas, interferindo na fase final da biossíntese do peptidoglicano que é responsável pela manutenção da parede celular bacteriana (Mota *et al.*, 2010; Azevedo, 2014; Nogueira *et al.*, 2016; Arruda *et al.*, 2019).

Esta classe é constituída por penicilinas, cefalosporinas, carbapênicos e monobactâmicos (Scherer; Botoni, Costa-Val, 2016).

2.6.2 Inibição da síntese de proteínas

Os fármacos que possuem esse mecanismo atuam sobre os ribossomos nas subunidades 50S e 30S, inibindo processos essenciais para síntese proteica. Como exemplos há as tetraciclinas, aminoglicosídeos e macrolídeos (Nogueira *et al.*, 2016; Scherer; Botoni, Costa-Val, 2016).

As tetraciclinas agem na subunidade 30S em uma ligação reversível, impedindo a ligação do aminoacil-t-RNA no sítio A do ribossomo e adição de aminoácidos para a formação das proteínas. Os aminoglicosídeos se ligam ao RNAr da subunidade 30S fazendo com que haja a leitura errada do RNAm, produzindo uma sequência errada de proteínas que interferem na permeabilidade da membrana, ocasionando desequilíbrio eletrolítico e lise da bactéria. E os macrolídeos atuam na subunidade 50S, se ligando ao RNAr 23S onde bloqueiam a biossíntese de proteínas pela interferência na transpeptidação e translocação (Nogueira *et al.*, 2016; Scherer; Botoni, Costa-Val, 2016).

2.6.3 Desestabilização da membrana da célula bacteriana

Os principais fármacos que atuam na desestabilização da membrana removem moléculas de cálcio e magnésio da membrana promovendo aumento da permeabilidade e liberação de componentes celulares causando a morte da célula. É o caso das polimixinas que competem por esses minerais atuando sobre os fungos e bactérias Gram-negativas (Mendes; Burdmann, 2009; Nogueira *et al.*, 2016).

2.6.4 Interferência na síntese de ácido nucleico

As quinolonas e fluoroquinolonas são fármacos que causam interferência na síntese dos ácidos nucleicos, inibindo a ação das enzimas DNA-girase e topoisomerase IV. DNA-girase que impede que a superespiralação que ocorre no momento da separação da fita dupla do DNA circular e a topoisomerase IV que, ao final da replicação, separa as fitas filhas para a formação dos novos microrganismos (Nogueira *et al.*, 2016, Medeiros, 2024).

2.6.5 Inibição da síntese de folato

As sulfonamidas e a trimetoprima atuam sobre a síntese do folato ambas como bacteriostático, ou seja, inibindo o crescimento bacteriano. As sulfonamidas competem com o ácido p-aminobenzóico pela enzima di-hidropteroatosintetase e a trimetoprima inibindo a catalise da reação de redução da enzima di-hidrofolatoredutase que converte ácido di-hidrofólico em ácido tetra-hidrofólico pela adição de um hidrogênio a cadeia (Nogueira *et al.*, 2016; Medeiros, 2024).

2.7 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA

A resistência bacteriana é um evento genético, associado à existência de genes que codificam diferentes mecanismos bioquímicos impedindo a ação dos antimicrobianos. Ela pode ser uma característica intrínseca, ou seja, uma característica fenotípica natural do microrganismo passada como herança genética para à prole. A principal forma de resistência intrínseca é a presença ou ausência de um alvo para a ação de uma droga. O tipo de parede celular dos microrganismos por sua composição pode conferir naturalmente resistência a alguns antimicrobianos como, por exemplo, as bactérias gram-positivas por possuírem uma membrana externa que contém lipopolissacarídeos dificulta a entrada de vancomicina e grande parte dos betalactâmicos (Fio; Filho; Groppo, 2000; Santana, 2017).

Há ainda, a adquirida, quando há o surgimento de resistência a uma droga anteriormente sensível, decorrente de alterações estruturais e/ou bioquímicas, através de mutações que ocorrem durante o processo de replicação celular resultando em erros de cópia na sequência de bases que formam o DNA cromossômico, por meio de obtenção genética exógena ou ainda por pressão seletiva pelo uso indiscriminado de antimicrobianos (Fio; Filho; Groppo, 2000; Nogueira *et al.*, 2016; Teixeira; Figueiredo; França, 2019).

Outrossim, também de forma adquirida, pode ser obtida por material genético exógeno presente em outros microrganismos passados através de transferência gênica horizontal de três formas: por transdução, quando a transferência é mediada por um bacteriófago onde este pode adquirir um seguimento do DNA de uma célula e passar para uma segunda célula; por conjugação, quando a transferência é diretamente entre duas células bacterianas, na qual a célula doadora com genes F+, passa um seguimento ou todo o seu plasmídeo ou DNA cromossômico para a célula receptora, a partir do contato físico. Seguintos móveis, chamados de transposons, podem se incorporar em plasmídeos ou cromossomos através de recombinações e serem transferidos para outras bactérias por esse tipo de transferência. E por transformação, quando a bactéria receptora engloba o material genético disperso no ambiente, de corrente da liberação do mesmo por lise de outra bactéria. (Riverón *et al.*, 2003; Santos, 2007; Lima; Benjamim; Santos, 2017; Teixeira; Figueiredo; França, 2019).

Os mecanismos de resistência são divididos de acordo com a forma de inativação ou de escape do antimicrobiano em: produção de enzimas que degradam ou modificam antimicrobianos, sistemas de efluxo hiperexpressos, alterações do sítio alvo de ligação do antimicrobiano e bloqueio ou proteção do sítio alvo do antimicrobiano (Andrade; Darini, 2020).

2.7.1 Produção de enzimas que degradam ou modificam antimicrobianos

Os microrganismos podem apresentar genes que produzem enzimas que degradam antimicrobianos inativando-o, como as beta-lactamases que atuam catalisando a hidrólise do anel beta-lactâmico levando a perda da ação antimicrobiana. Ou que modificam antimicrobianos por transferência de grupos químicos para a molécula do fármaco, como as enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, que alteram a estrutura química deste impedindo a sua ligação com subunidades do ribossomo (Andrade; Darini, 2020; Dalmolin, *et al.*, 2022).

2.7.2 Sistema de efluxo hiperexpresso

Mecanismo natural das bactérias que excreta substâncias tóxicas resultantes do metabolismo bacteriano, codificado por genes cromossômicos. As proteínas da membrana transportam o fármaco do meio intracelular para o meio extracelular

fazendo com que ele não alcance concentração ideal para a inibição do microrganismo (Teixeira; Figueiredo; França, 2019; Andrade; Darini, 2020; Dalmolin, *et al.*, 2022).

2.7.3 Alterações do sítio alvo de ligação do antimicrobiano

No geral os antimicrobianos se ligam a um sítio alvo na célula bacteriana para que haja interação entre fármaco e receptor. E por um processo genético essas estruturas são modificadas impedindo a droga de reconhecer o alvo (Scherer; Botoni; Costa-Val, 2016; Faria, 2021).

2.7.4 Bloqueio ou proteção do sítio alvo do antimicrobiano

Diferente da alteração do sítio alvo, esse mecanismo possibilita a célula bacteriana a produzir enzimas ou estruturas que bloqueiam a ligação do antimicrobiano com o sítio alvo (Dalmolin, *et al.*, 2022).

2.8 USO DE ANTIMICROBIANOS NA MEDICINA VETERINÁRIA

Os antimicrobianos são utilizados, na medicina veterinária, com diversas finalidades, sendo a terapêutica com propósito de controlar infecções existentes destruindo ou suprimindo o crescimento e o desenvolvimento de agentes patogênicos, assim como na medicina humana (Teixeira; Figueiredo; França, 2019; Vale, 2021).

Entretanto podem ser utilizados para outros fins, como o uso metafilático que tem o intuito de tratar os animais com apresentação clínica de alguma doença infectocontagiosa em um rebanho numeroso e prevenir que ela se manifeste nos animais sadios, diminuindo as taxas de mortalidade e morbidade; o uso profilático afim de prevenir uma possível infecção para um animal ou para um rebanho (Vale, 2021; Gottardo *et al.*, 2021).

Ainda, pode ser utilizado como promotor de crescimento melhorando o desempenho dos animais, diminuindo a mortalidade, acelerando o processo de crescimento e melhorando a conversão alimentar. É administrado via alimentação ou água em doses baixas e por longos períodos. (Vale, 2021; Gottardo *et al.*, 2021, Lopes, 2021).

A prática do uso de antimicrobianos com o intuito de prevenir, controlar, acelerar o ganho de peso e melhorar a eficiência alimentar dos animais com doses

terapêutica e subterapêuticas pode exercer pressão seletiva sobre os microrganismos e fazer com que eles se tornem resistentes, podendo causar problemas para a saúde pública pela possibilidade de veiculação de microrganismos resistentes e resíduos de antimicrobianos através dos produtos de origem animal. Esse fato pode desencadear maior taxa de morbidade, mortalidade e aumento da estadia de pacientes em hospitais pela infecção de microrganismos resistentes (Mota *et al.*, 2005; Nunes *et al.*, 2016; Gottardo *et al.*, 2021; Miranda; Vieira. Souza, 2022).

2.9 RISCOS DA MASTITE PARA A SAÚDE ÚNICA

A relação entre o homem e os animais ocorre desde os primórdios e, portanto, pode ocasionar na transmissão de doenças entre ambos. Essas doenças são chamadas de zoonoses e podem ser transmitidas de forma direta pelo contato entre pessoas e animais ou de forma indireta por vetores, pelo consumo de produtos de origem animal contaminados ou por resíduo de produções que podem contaminar água e solo (Miranda, 2018; Anjos, 2024).

Para definir essa relação indissociável o termo Saúde Única foi criado, reconhecendo a interconectividade entre a saúde humana, animal e o meio ambiente e que o ser humano não existe isolado, mas faz parte de um ecossistema vivo (Miranda, 2018; Pegoraro *et al.*, 2018).

Dentro desse contexto, a mastite bovina representa riscos para a saúde pública pela possibilidade de veicular microrganismos patogênicos por meio do leite e seus derivados que, estão entres os principais alimentos relacionados com a transmissão de doenças. Por conta das qualidades nutricionais do leite, este pode se tornar um ótimo meio de cultura, entretanto, processos térmicos do leite eliminam os principais microrganismos patogênicos (Melo, 2018; Fonseca *et al.*, 2021).

Os microrganismos presentes nos alimentos lácteos podem desencadear intoxicações alimentares, por conta das enterotoxinas produzidas por eles. Um exemplo fortemente associado a mastite são as causadas por *Staphylococcus* spp., produtoras de enterotoxinas estafilocócicas que por sua vez são resistentes ao calor podendo sobreviver aos tratamentos térmicos utilizados no leite, levando gastroenterites, geralmente, não letal, porém pode evoluir para quadros mais severos dependendo do indivíduo (Guimarães; Langoni, 2009; Anjos, 2024).

Além disso, o tratamento da mastite está relacionado com a ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite, sendo o uso indiscriminado e/ou desnecessário

possível causa de desenvolvimento de resistência nos agentes etiológicos em humanos e na pecuária leiteira. Também está relacionado com o surgimento de reações alérgicas e efeitos tóxicos para os consumidores (Santos, 2013; Nunes *et al.*, 2016; Gottardo, 2021).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado na região Sudoeste maranhense, localizado a oeste da Região Nordeste do Brasil. É composta por 22 municípios dentre os quais foram escolhidos dois para a realização da pesquisa, Imperatriz e São Francisco do Brejão consideradas de importância para a produção na região.

Foi realizado o antibiograma de 270 isolados bacterianos de vacas diagnosticadas com mastite clínica ou subclínica em rebanhos leiteiros dos municípios Imperatriz (94/270) e São Francisco do Brejão (176/270) adquiridos da coleção de bactérias armazenadas no Laboratório de Microbiologia e Imunologia Veterinária do CCA/UEMASUL. Os microrganismos testados foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* Coagulase Negativa (SCN), *Staphylococcus* Coagulase Positiva Não Aureus (SCP), *Bacillus* spp., *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. (Tabela 1).

Tabela 1 - Relação dos microrganismos isolados de vacas com mastite de rebanhos leiteiros pertencentes aos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão, estado do Maranhão.

Agentes etiológicos	Quantidade
<i>Staphylococcus aureus</i>	70
<i>Staphylococcus</i> Coagulase Negativa	90
<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva Não Aureus	67
<i>Bacillus</i> spp.	36
<i>Enterococcus</i> spp.	4
<i>Streptococcus</i> spp.	3
Total	270

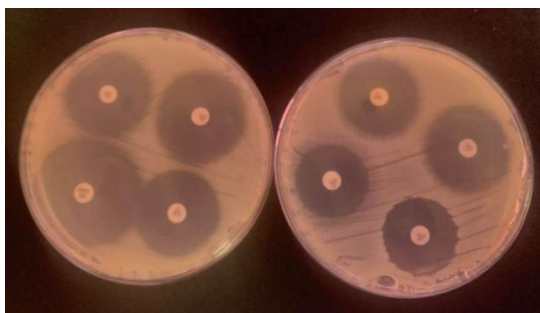
Fonte: A autora, 2024.

A determinação do perfil de sensibilidade dos microrganismos foi realizada pela técnica de disco-difusão em placas de ágar Muller-Hinton, conforme as diretrizes do

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2022) e *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCast, 2023), para os antimicrobianos cefoxitina (30 μ g), ciprofoxacino (5 μ g), eritromicina (15 μ g), gentamicina (10 μ g), sulfametaxazol + trimetoprima (1,25/23,75 μ g), penicilina (10 unidades) e tetraciclina (30 μ g). Esses princípios ativos pertencem, respectivamente, às classes: cefalosporinas, fluorquilonas, macrolídeos, aminoglicosídeos, antagonistas da via do folato, penicilinas e tetraciclina.

As cepas bacterianas foram repicadas em ágar sangue de equino a 5% e incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Após o crescimento *overnight*, os isolados foram colocados em suspensão em solução salina tamponada (PBS) na concentração 0,5 da escala McFarland, que equivale à concentração $1,5 \times 10^8$ células/mL. Em seguida os inóculos foram semeados uniformemente em placas de ágar Muller-Hinton com o auxílio de um *swab* estéril e logo em seguida os discos impregnados com antimicrobianos foram colocadas sobre o ágar, conforme o padrão de referência dos referidos manuais (Figura 1) e incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por $18 \pm 2\text{h}$. Passado o período de incubação os halos foram aferidos com auxílio de um paquímetro calibrado e os resultados tabulados. O padrão de sensibilidade dos *Enterococcus* spp. foi determinado conforme os critérios do CLSI (2022) e os *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Bacillus* spp. CLSI (2022) e BrCast (2023), categorizando os isolados como sensível (S), intermediário (I) quando o microrganismo é sensível porém a dose empregada precisa ser ajustada ou resistente (R). Isolados foram considerados multirresistentes quando apresentaram resistência a três ou mais classes de antimicrobianos.

Figura 1 - Placas de antibiograma com diferentes discos impregnados com antimicrobianos



Fonte: A autora, 2024.

Os resultados foram tabulados em planilha do Microsoft Excel 2019® e analisados pelo programa Jamovi® versão 4.1.14. Foi realizada análise descritiva dos dados e aplicados o teste do qui-quadrado para verificar associação significativa

($p < 0,05$) entre resultados dos testes de sensibilidade antimicrobiana e os municípios pesquisados verificando que não houve diferença significativa entre eles (Tabela).

Tabela 2 – Teste do qui-quadrado para verificação de associação significativa entre os testes de sensibilidade e os municípios pesquisados.

Testes χ^2			
	Valor	gl	p
χ^2	3.05	2	0.218
N	267		

Fonte: A autora, 2024.

4 RESULTADOS

Ao avaliar o perfil de resistências das cepas bacterianas aos sete antimicrobianos, observou-se elevada sensibilidade dos isolados, em especial as cepas de *Staphylococcus* spp., com exceção da penicilina e tetraciclina. Em contrapartida o gênero *Enterococcus* spp. foi 100% sensível. O gênero *Bacillus* spp. se apresentou intermediário a ciprofloxacino assim como os *Streptococcus* spp. a eritromicina (Tabela 2).

Tabela 3 - Perfil de sensibilidade de bactérias isoladas de vacas com mastite pertencentes aos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão, estado do Maranhão, frente aos sete antimicrobianos testados.

Antimicrobiano		<i>S. aureus</i> n (%)	SCN n (%)	SCP n (%)	<i>Bacillus</i> spp. n (%)	<i>Enterococcus</i> spp. n (%)	<i>Streptococcus</i> spp. n (%)
CFO	S	69 (98,57)	88 (97,8)	66 (98,50)	-	-	-
	R	1(1,43)	2 (2,2)	1 (1,50)	-	-	-
CIP	S	70 (100)	90 (100)	67 (100)	0 (0)	3 (75)	-
	I	0 (0)	0 (0)	0 (0)	35 (97,22)	1 (25)	-
	R	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2,78)	0 (0)	-

ERI	S	69 (98,57)	81 (90)	66 (98,50)	33 (91,67)	4 (100)	0 (0)
	I	0 (0%)	5 (5,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (66,67)
	R	1 (1,43)	4 (4,5)	1 (1,50)	3 (8,33)	0 (0)	1 (33,33)
GEN	S	70 (100)	90 (100)	67 (100)	-	-	-
PEN	S	38 (54,28)	44 (48,88)	38 (56,72)	-	4 (100)	0 (0)
	R	32 (45,72)	46 (51,12)	29 (43,28)	-	0 (0)	3 (100)
SUT	S	70 (100)	87 (96,68)	67 (100)	-	-	2 (66,67)
	I	0 (0)	1 (1,12)	0 (0)	-	-	1 (33,33)
	R	0 (0)	2 (2,2)	0 (0)	-	-	0 (0)
TET	S	62 (88,57)	86 (95,55)	46 (68,65)	-	0 (0)	2 (66,67)
	I	0 (0)	4 (4,45)	1 (1,50)	-	0 (0)	0 (0)
	R	8 (11,43)	0 (0)	20 (29,85)	-	4 (100)	1 (33,33)

Legenda: Legenda: CFO – cefoxitina; CIP – ciprofloxacino; ERI – eritromicina; GEN – gentamicina; PEN – penicilina; SUT- sulfametoxazol + trimetoprima; n – quantidade; % - porcentagem; SCN – *Staphylococcus coagulase negativa*; SCP – *Staphylococcus coagulase positiva*; - sem informação nos manuais.

Fonte: A autora, 2024.

O perfil de multirresistência foi identificado em três cepas, de gêneros bacterianos distintos: *Streptococcus* spp., *S. aureus* e SCN (Tabela 3).

Tabela 4 – Resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de vacas com mastite de rebanhos pertencentes aos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão, estado do Maranhão.

Agente etiológico	Sensível n (%)	Resistente n (%)	Multirresistente n (%)	Total n (%)
SCN	44 (48,89)	45 (50)	1 (1,11)	90
<i>S. aureus</i>	38 (54,29)	31(44,29)	1 (1,42)	70
SCP	28 (41,80)	39 (58,20)	0 (0)	67
<i>Bacillus</i> spp.	32 (88,89)	4 (11,1)	0 (0)	36
<i>Enterococcus</i> spp.	0 (0)	4 (100)	0 (0)	4
<i>Streptococcus</i> spp.	0 (0)	2 (66,67)	1 (33,33)	3

Legenda: Sensível: sensível a todos os antimicrobianos testados para o gênero;

Resistente: resistente a um ou dois antimicrobianos testado para o gênero;
 Multirresistente: resistente a três ou mais antimicrobianos testados para o gênero.

Fonte: A autora, 2024.

Também foi observado similaridade entre os perfis multirresistentes, onde *S. aureus* e SCN mostram um padrão de resistência idêntico, ambos da mesma propriedade (Tabela 4).

Tabela 5 - Perfil dos isolados multirresistentes.

Microrganismos	CFO	ERI	PEN	TET
<i>Streptococcus</i> spp.	-	R	R	R
<i>S. aureus</i>	R	R	R	R
SCN	R	R	R	R

Legenda: R – resistente; CFO – cefoxitina; ERI – eritromicina; PEN – penicilina; TET - tetraciclina.

Fonte: A autora, 2024.

Os microrganismos isolados de ambos municípios apresentaram elevada taxa de resistência aos antimicrobianos, sendo Imperatriz com maior percentual de resistência (Tabela 5).

Tabela 6 – Perfil de sensibilidade dos 270 isolados de amostras pertencentes a rebanhos dos municípios de Imperatriz e São Francisco do Brejão, estado do Maranhão.

Município	Sensível n (%)	Resistente n (%)	Multirresistente n (%)	Total n (%)
Imperatriz	45 (47,87)	49 (52,13)	0 (0)	94 (100)
São Francisco do Brejão	87 (49,44)	86 (48,86)	3 (1,70)	176 (100)

Legenda: n – quantidade; % - porcentagem.

Fonte: A autora, 2024.

5 DISCUSSÃO

A elevada resistência à penicilina observada nas cepas de *Staphylococcus* spp. (>40%) e *Streptococcus* spp. (100%) sugere que esse antimicrobiano tem sido amplamente utilizado na rotina das propriedades ao que se refere ao tratamento das mastites ou outras enfermidades infecciosas, ao longo do tempo. Este dado ressalta a necessidade de reconsiderar seu uso, promovendo a restrição ou substituição por alternativas mais eficazes, a fim de prevenir o agravamento da resistência bacteriana ao fármaco e garantir o tratamento efetivo, promovendo a cura bacteriológica dos animais afetados.

Resultados semelhantes foram encontrados por Zimermann e Araújo (2017), que, ao avaliar o perfil de sensibilidade de amostras de *Staphylococcus* spp., observou uma taxa de resistência de 47,82% à penicilina. Esse fenômeno é atribuído à produção de betalactamases, enzimas que rompem o anel betalactâmico e inativam o antimicrobiano, representando um mecanismo clássico de resistência (Zimermann e Araújo 2017).

A presença de multirresistência entre as cepas bacterianas é um achado preocupante, pois reduz as opções terapêuticas e torna o tratamento das infecções mais complexo. Ainda, é essencial que haja o monitoramento desse perfil de resistência afim de contribuir com políticas de saúde única, criando estratégias para proteger a saúde animal e prevenir perdas econômicas para os produtores. Além de elevar os custos, o uso ineficaz de antimicrobianos coloca em risco a saúde animal e humana, especialmente devido a presença de resíduos de medicamentos no leite.

Outro aspecto crucial a ser considerado sobre as cepas multirresistentes é o risco de transmissão de genes de resistência entre bactérias, seja da mesma espécie ou de espécies diferentes. Essas cepas podem ser transmitidas vaca a vaca durante o momento da ordenha podendo elevar o número de bactérias multirresistentes e ainda, entre espécies de animais diferentes, carregada através ordenhador pelo ambiente. Além disso, entre os seres humanos, onde é relatado na literatura a transmissão de *S. aureus* resistentes para humanos a partir do leite bovino (Mota *et al.*, 2005; Zafalon *et al.*, 2008; Zafalon *et al.*, 2009).

A gravidade do problema aumenta do ponto de vista da saúde pública, particularmente quando o leite é consumido sem pasteurização. Nessa situação, bactérias resistentes podem infectar humanos, transferindo genes de resistência para a microbiota existente, agravando o desafio do tratamento de infecções e contribuindo para a disseminação da resistência, fazendo com que pacientes acometidos por essas bactérias passem mais tempo internado pelo prolongamento da doença e o aumento da mortalidade e morbidade da população (Mota *et al.*, 2005; Miranda; Vieira. Souza, 2022).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, cerca de 700 mil pessoas vêm a óbito decorrente de microrganismos multirresistentes por ano em todo mundo e, no Brasil, cerca de 20 mil. Apesar de não ser tão elucidada a contribuição do uso de antimicrobianos na pecuária leiteira com os microrganismos multirresistentes nos ambientes da saúde humana, é crescente a pressão para diminuir o uso desses

fármacos previsto pelos diversos órgãos tanto de saúde humana, quanto da saúde animal (Jong *et al.*, 2023; Ribeiro, 2023)

Os resultados deste estudo revelam que pelo menos uma cepa de cada gênero isolado apresentou resistência a pelo menos um antimicrobiano testado, evidenciando a circulação de genes de resistência nos rebanhos leiteiros. Estes achados destacam a importância do monitoramento contínuo e da realização de testes de sensibilidade para orientar tratamentos eficazes, prevenindo o uso indiscriminado de medicamentos.

Apesar dos achados relacionados a resistência, observa-se que a grande maioria das cepas analisadas demonstrou sensibilidade aos antimicrobianos, com ênfase para *Staphylococcus* spp., gênero mais frequentemente isolado e de maior relevância na epidemiologia da mastite bovina. Considerando que os estafilococos geralmente causam a mastite subclínica sendo a apresentação mais prevalente nos rebanhos brasileiros, caracterizada pela disseminação silenciosa e sem alterações perceptíveis e, o diagnóstico pouco conhecido (Freitas *et al.*, 2005; Silva, 2021; Lima *et al.*, 2023).

Sabe-se que o perfil de resistência aos antimicrobianos são, normalmente específicos da região devido aos microrganismos circulantes e antimicrobianos comumente utilizados. Dessa forma, pode-se sugerir que a terapia antimicrobiana com esses princípios ativos tem sido pouco utilizada para o tratamento da enfermidade entre os rebanhos estudados.

A partir da semelhança entre os perfis dos microrganismos multirresistentes, pode-se sugerir uma possível transmissão gênica horizontal entre as espécies isoladas do rebanho como é descrita na literatura (Riverón *et al.*, 2003; Santos, 2007; Lima; Benjamim; Santos, 2017; Teixeira; Figueiredo; França, 2019), porém há a necessidade de biologia molecular testes para confirmação da hipótese.

A porcentagem de isolados foi de 48,86% para o município de São Francisco do Brejão e de 52,13% para imperatriz, sugerindo um potencial problema de resistência antimicrobiana que pode comprometer tratamentos clínicos se não forem tomadas medidas de controle e prevenção, bem como, ameaça à saúde pública.

Apesar dos resultados satisfatórios *in vitro*, sabe-se que a ação dos antimicrobianos pode ser diferente *in vivo* por produções de enzimas, presença de restos celulares e alteração do pH no local. Ainda assim, é uma prática aconselhável por poder guiar as práticas terapêuticas (Langoni *et al.*, 2017).

6 CONCLUSÕES

Com base no exposto, observou-se os diferentes perfis de resistência dos microrganismos frente aos sete antimicrobianos testados, sendo a penicilina o princípio ativo com menor eficácia aos *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp., sugerindo que o uso frequente do mesmo pode estar contribuindo para a seleção de bactérias resistentes ao fármaco. Entretanto, foi possível notar a diversidade do perfil de resistência entre os isolados bacterianos, sendo um fator considerável, pois o potencial de transmissibilidade de genes de resistência entre bactérias pode mudar o perfil de sensibilidade encontrado neste estudo ao longo dos anos. Sendo assim, é importante implementar a identificação etiológica e o antibiograma dos casos de mastite, como ferramenta útil na identificação de antimicrobianos eficazes *in vitro* e melhor sucesso na escolha do tratamento empregado, para contribuir com administração de fármacos com maior potencial de promover a cura bacteriológica, além do uso adequado do antimicrobiano e monitoramento do perfil de resistência dos microrganismos patogênicos.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, A. C. *et al.* Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 7, p. 565- 573, 2016.
- ALVES, A. V. N. *et al.* Avaliação do controle leiteiro e agentes causadores de mastite em vacas Holandesas. **Brazilian Journal of Animal Environmental Research**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 145-157, 2024.
- ANDRADE, L. N.; DARINI, A. L. C. Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, 2020.
- ANJOS, J. M. **Importância do manejo sanitário no controle da mastite com ênfase na saúde única.** (Trabalho de conclusão de curso) Universidade do Estado da Bahia, Barreiras, Bahia, 2024.
- ARRUDA, C. J. M. *et al.* Revisão de antibióticos beta-lactâmicos. **Revista Saúde em Foco**, n. 11, p. 982-995, 2019.
- AZEVEDO, S. M. M. **Farmacologia dos antibióticos beta-lactâmicos.** (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Frenando Pessoa, Porto, 2014.
- BANDOCH, P.; MELO, L. S. Prevalência de mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: uma revisão bibliográfica. **Publicatio: UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 17, n. 1, p. 47-51, 2010.
- BESSA, V. C.; LARANJEIRA, B. J. Mecanismos de resistência em coco gram positivos. **Revista Científica UNIFAGOC – Caderno Saúde**, v. 1, p. 40-48, 2020.
- Leite - Pesquisadora**, p.01-13, 2007.
- BRITO, M. A. V. P. Diagnóstico Microbiológico da Mastite Bovina. **Embrapa Gado de Leite - Pesquisadora**, p.01-13, 2007.
- BRITO, M. A. V. P. *et al.* Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, p. 129-135, 1999.
- BROWN, D. R.; MAY, M.; BRADBURY, J. M. Genus I. Mycoplasma Nowak 1929. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, v. 4, p. 515-550, 2011.
- CADES, M. *et al.* Perfil de resistência antimicrobiana de mastite bovina em propriedade leiteira no município de Monte Negro/RO. **RBCA**. v. 6, n. 1, p. 1-62, 2017.
- CALIMAN, MF.; GASPAROTTO, P. H. G.; RIBEIRO, L. F. Principais impactos da mastite bovina: revisão de literatura. **Getec**, v. 12, n. 37, p. 91-102, 2023.

- CAMPOS, J. V. F. *et al.* Aspectos relacionados com a etiologia da mastite bovina: uma revisão de literatura. **Revista Ciência**, v. 18, n. 3, p. 71-88, 2023.
- CASTRO, V. **Perfil microbiológico e de resistência antimicrobiana da mastite bovina em assentamento do noroeste de SP, Brasil**. Tese (Doutorado e Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) Instituto Biológico, São Paulo, 2023.
- COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M. Mastite bovina: controle e prevenção. **Editora UFLA**, N. 93, P. 1-30, 2012.
- COSTA, E. O. *et al.* Mastite bovina por agentes ambientais: *Pseudomonas* sp.; *Plesiomonas* sp.; *Prototheca* sp. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 17, n. 1, p. 22-25, 1996.
- DALMOLIN, J. *et al.* Mecanismos de expressão de resistência aos antibióticos e saúde pública. **Arquivos de Ciência da Saúde UNIPAR**. Umuarama, v. 26, n. 3, p. 681-692, 2022.
- DAMASCENO, V. S. *et al.* Análise do perfil microbiológico de agentes causadores de mastite bovina e sua relação com a qualidade do leite em uma fazenda do Sul de Minas Gerais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 91409-91421, 2020.
- FARIA, L. F.; GODOI, L. B. F.; ROMANO, L. H. Principais mecanismos de resistência bacteriana relacionados ao uso indiscriminado de antibióticos. **Revista Saúde em Foco**, Edição nº 13, p. 576-587, 2021.
- FERREIRA, B. H. A.; RIBEIRO, L. F. Mastites causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Streptococcus uberis* relacionadas ao sistema de produção Compost Barn e o impacto na qualidade do leite. **GETEC**, v. 11, n. 35, p. 1-18, 2022.
- FERREIRA, E. P. B. *et al.* Diversidade de *Pseudomonas* fluorescentes em diferentes sistemas de manejo do solo e rotação de culturas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p. 140-148, 2009.
- FIO, F. S. D.; FILHO, T. R. M.; GROppo, F. C. Resistência bacteriana. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 57, n. 10, p. 1129-1140, 2000.
- FONSECA, M. E. B. *et al.* Mastite bovina: revisão. **Pubvet**, v. 15, n. 02, p. 1-18, 2021.
- FREITAS, M.F.I. *et al.* 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. 173-179, 2005.

- GOTTARDO, A. *et al.* Uso indiscriminado de antimicrobianos na medicina veterinária e risco para saúde pública. **Getec**, v. 10, n. 26, p. 110-118, 2021.
- GUIMARÃES, F. F.; LANGONI, H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 1, p. 38-51, 2009.
- GUIMARÃES, N. M. Formas farmacêuticas convencionais e inovadoras destinadas à administração intramamária para o tratamento da mastite bovina. **Tópicos especiais em ciência animal XI – 1º Edição**, p. 392-412, 2022.
- JONG, E. *et al.* Invited review: Selective treatment of clinical mastitis in dairy cattle. **Journal of dairy Science**, v. 106, n. 6, p. 3761-3778, 2023.
- JUNQUEIRA, N. B. ***Mycoplasma bovis* como agente causal de mastite clínica bovina**. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.
- KURBAN, D. *et al.* Diagnosis intramamary infection: Meta-Analysis and Mapping Review on Frequency and Udder Health Relevance of Microorganism Species Isolated from Bovine Milk Samples. **Animals**, v. 12, n. 3288, p. 1-16, 2022.
- LANGONI, H. *et al.* Considerações sobre o tratamento das mastites. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1261-1269, 2017.
- LIMA, C. C.; BENJAMIM, S. C. C.; SANTOS, R. F. S. Mecanismos de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão. **Cuidarte Enfermagem**, v. 11, n. 1, p. 105-113, 2017.
- LIMA, E. S. *et al.* Perfil microbiológico da mastite bovina no Agreste e Brejo Paraibano. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 16, n. 2, p. 121-127, 2022.
- LIMA, T. V. S. *et al.* Caracterização da bovinocultura de leite urbana no município de João Pessoa-PB. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v. 21, n. 2, p. 572-588, 2023.
- LOPES, B. C. **Diferenciação de espécies de *Mycoplasma* spp. isoladas de vacas com mastite clínica, e de tanques de expansão**. Dissertação (Mestrado em Higiene e Saúde Pública). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020.
- LOPES, G. A. P. **O papel do médico veterinário na prevenção da resistência bacteriana aos antimicrobianos – uma perspectiva de saúde única**. (Trabalho de conclusão de curso) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, São Paulo, 2021.
- MAIOCHI, R.; RODRIGUES, R.; WOSIACKI, S. Principais métodos de detecção de mastites clínicas e subclínicas de bovinos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, 2019.

- MARTINS, R. P. *et al.* Prevalência e etiologia infecciosa de mastite bovina na microrregião de Cuiabá-MT. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.
- MASSOTE, V. P. *et al.* Diagnóstico e controle de mastite bovina: uma revisão. **Revista Agroveterinária do Sul de Minas**, v. 1, n. 1, p. 41-54, 2019.
- MATOS, G. D. C. **Manejo de ordenha e prevenção a mastite bovina.** (Trabalho de Conclusão de Curso) UNIC Beira rio, Cuiabá, 2022.
- MEDEIROS, J. L. **Avaliação in sílico das propriedades farmacocinéticas e do potencial antibacteriano de componentes da *Cannabis sativa Linnaeus*.** (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade Federal de Campina Grande, 2024.
- MELO, E. S. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão. **Pubvet**, v. 12, n. 10, p. 1-9, 2018.
- MENDES., C. A. C.; BURDMANN, E. A. Polimixinas – revisão com ênfase na sua nefrotoxicidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, n. 6, p. 752-761, 2009.
- MENDES, S. H.; SILVA, R. N.; ARAÚJO, F. F. Mastite clínica em bovino causada por prototheca zopfii. **Revista de trabalhos acadêmicos–universo belo horizonte**, v. 1, n. 7, 2022.
- MESQUITA, A. A. **Impactos da mastite bovina por *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*.** Tese (Doutorado em Produção e Sanidade Animal) Universidade Federal de Lavras, 2017.
- MIRANDA, I. C.S. VIEIRA, R. M. S.; SOUZA, T. F. M. P. Consequências do uso inadequado de antibióticos: uma revisão de literatura. **Research Society and Development**, v11., n. 7, p. 1-7, 2022.
- MIRANDA, M. A contribuição do médico veterinário a saúde única – one health. **Psicologia e Saúde em Debate**, v. 4, n. 1, p. 34, 2018.
- MOTA, L. M. *et al.* Uso racional de antimicrobianos. **Simpósio: Condutas em enfermarias de clínica médica de hospital de média complexidade – parte 1, capítulo VII**, v. 43, n. 2, p. 164-172, 2010.
- MOTA, R.A. *et al.* Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição à multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.
- MONTILLA, M. S. ***Bacillus* spp. en aplicaciones agrícolas.** (Trabalho de conclusão de curso) Universidad de Jaén, Jaén, 2023.

- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S. PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica - 6ª Edição**. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2009.
- NETO, F. F. F. **Ovinos morada nova branca: caracterização de manejo, infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* e ocorrência de mastite**. Dissertação (Pós-graduação em Ciência Animal). Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2022.
- NOGUEIRA, H. S. *et al.* Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. **Revista Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 18, n. 2, p. 96-108, 2016.
- NUNES, E. R. C. *et al.* Resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* na microrregião de Garanhuns, Pernambuco. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38, n. 2, p. 157-162, 2016.
- OLIVEIRA, R. P. **Identificação de leveduras isoladas de leite de vacas com mastite por meio de técnicas espectroscópicas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2023.
- PEGORARO, L. M. C. *et al.* Biossegurança e saúde única. **EMBRAPA**, p. 35-45, 2018.
- PENHA, D. A. **Mastite bovina na ilha de São Luiz, MA: Frequência, etiologia e perfil de sensibilidade de bactérias aos antimicrobianos**. 2008.81. (Tese de Mestrado em Ciências Veterinárias), São Luiz, Maranhão, 2009.
- PEREIRA, M. P. M. *et al.* Mastite em vacas leiteiras: uma abordagem narrativa sobre controle, tratamento e boas práticas de manejo. **Revista Delos**, Curitiba, v. 17, n. 59, p.1-23, 2024.
- POLL, P. S. E. M. **Qualidade do leite, mastite e sensibilidade a antimicrobianos em unidades de produção de leite com altas contagens de células somáticas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Clínicas) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2012.
- RAMOS, F. S. *et al.* Importância do diagnóstico da mastite subclínica e seus impactos econômicos em propriedades leiteiras – revisão de literatura, **Revista Coleta**, v. 1, n. 1, p. 17-25, 2017.
- RAZIN, S.; YOGEV, D.; NOAT, Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 4, p.1094-1156, 1998.

- REVIELLO, J. Fundamentos da microbiologia veterinária. **Freitas Bastos Editora**, 2024.
- RUEGG, P. L. What is success? A narrative review of research used for treatment of clinical mastitis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, n. 639641, p. 1-14, 2021.
- RIBEIRO, E. C. B *et al.* Sistema agroindustrial do leite no Maranhão: uma análise prototípica **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 60, n. 4, 2021.
- RIBEIRO, M. G. *et al.* Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 724-731, 2006.
- RISSETI, R. M. **Genes associados à virulência e multirresistência aos antimicrobianos em linhagens de *Trueperella pyogenes* isoladas de mastite e outras afecções em animais domésticos**. Dissertação (Pós graduação em medicina veterinária) Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2015.
- RIVERÓN, F. F. *et al.* Resistencia bacteriana. **Revista Cubana de Medicina Militar**, v. 8, n. 1, 2003.
- SANTANA, R. C. Antibióticos beta-lactâmicos. **Curso Básico de Antimicrobianos Divisão de MI-CM-FMRP-USP**, 2017.
- SANTOS, F. C. H. **A relação evolutiva dos genes associados à fixação de nitrogênio**. Dissertação (Pós graduação em biotecnologia) - Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, 2007.
- SANTOS, N. A F. **Pesquisa de mastite clínica e subclínica, contagem de células somáticas, susceptibilidade a antimicrobianos e resíduos de antibiótico em amostras de leite de búfalas (*Bubalus bubalus*) da baixada maranhense**. Dissertação (Mestrado em ciência animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2013.
- SILVA, A. T. F.; MOTA, R. A. Mastite: perguntas e respostas. **Editora da Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife, 2019
- SILVA, C. P. **Perfil de resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus spp* isolados de mastite em bovinos leiteiros no agreste paraibano**. Dissertação (Pós graduação em ciência animal) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.
- SCHERER, C. B; BOTONI, L. S.; COSTA-VAL, A. P. Mecanismos de ação de antimicrobianos e resistência bacteriana. **Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária**, v. 4, n. 13, p. 12-20, 2016.

- SOARES, D. M. *et al.* Isolamento e identificação molecular de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos com linfadenite. **Ciência Animal**, v. 34, n. 1, p. 71-80, 2024.
- SPANAMBERG, A. *et al.* Mastite micótica em ruminantes causa por leveduras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 282-290, 2009.
- TEIXEIRA, A. R.; FIGUEIREDO, A. F. C.; FRANÇA, R. F. Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. **Revista Saúde em Foco**, Edição nº 11, p. 853-875, 2019.
- TENÓRIO, K. B. O. **Diagnóstico e controle de mastite em vacas leiteiras**. (Trabalho de conclusão de curso). Curso de Medicina Veterinária, Faculdade Anhanguera, Anapólis, 2022.
- TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 5., n. 10, p. 1-7, 2008.
- VALE, V. R. **Resistência aos antimicrobianos na Medicina Veterinária**. (Trabalho de Conclusão de Curso). Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, Distrito Federal, 2021.
- YAMAMURA, A. A. M. *et al.* Isolamento de *Prototheca* spp. de vacas com mastite, de leite de tanques de expansão e do ambiente dos animais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n.1, p. 105-114, 2007.
- ZAFALON, L. F. *et al.* Investigação de perfis de resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados na ordenha de vacas em lactação. **Revista Intituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 2, p. 118-125, 2008.
- ZAFALON, L. F. *et al.* Staphylococcus aureus portadores de genes de toxinas isolados em amostras de diferentes fontes de transmissão durante a ordenha. **Revista Intituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 2, p. 269-277, 2009.
- ZIMERMANN, K. F.; ARAÚJO, M. E. M. Mastite bovina: agentes etiológicos susceptibilidade a antimicrobianos. **Revista Campo Digital**, v. 12, n. 1, 2017.