

**FACULDADE PATOS DE MINAS  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**DARLAN DAENE DA SILVA**

**TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA REALIZADO NOS PRINCIPAIS  
AGENTES CAUSADORES DE MASTITE EM UMA FAZENDA NA REGIÃO DE  
PATOS DE MINAS – MG**

**PATOS DE MINAS  
2019**

**DARLAN DAENE DA SILVA**

**TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA REALIZADO NOS PRINCIPAIS  
AGENTES CAUSADORES DE MASTITE EM UMA FAZENDA NA REGIÃO DE  
PATOS DE MINAS – MG**

Trabalho apresentado à Faculdade Patos de Minas, como requisito parcial para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária.

Orientadora Professora Msc. Marcela Borges Nunes

**PATOS DE MINAS  
2019**

**FACULDADE PATOS DE MINAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**DARLAN DAENE DA SILVA,**

**TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA REALIZADO NOS PRINCIPAIS  
AGENTES CAUSADORES DE MASTITE EM UMA FAZENDA NA REGIÃO DE  
PATOS DE MINAS – MG .**

Banca Examinadora do Curso de Bacharelado em Medicina veterinária composta em 05 de dezembro de 2019:

Orientador(a)

Prof. M.a. Marcela Borges Nunes  
Faculdade Patos de Minas

Examinador(a) 1

Prof<sup>a</sup>. M.e. Cayque Emmanuel de Oliveira  
Faculdade Patos de Minas

Examinador(a) 2

Prof. M.a. Adriele Laurinda da Silva  
Faculdade Patos de Minas

Aprovado ( )

Reprovado ( )

## TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA REALIZADO NOS PRINCIPAIS AGENTES CAUSADORES DE MASTITE EM UMA FAZENDA NA REGIÃO DE PATOS DE MINAS – MG

### ANTIMICROBIAN SENSITIVITY TEST CARRIED OUT ON MAIN CAUSING AGENTS IN A FARM IN THE PATOS DE MINAS REGION – MG

Darlan Daene da Silva <sup>1</sup>

Msc. Marcela Borges Nunes<sup>2</sup>

#### RESUMO

A mastite, inflamação da glândula mamária, é uma das patologias mais preocupantes da área de clínica médica de grandes animais, na bovinocultura de leite, tendo o principal agente infeccioso bactérias do gênero *Staphylococcus spp.* Sendo que estes apresentam resistência aos antimicrobianos utilizados no tratamento rotineiro da mastite. Sendo assim, objetivou-se com esta pesquisa analisar o perfil de sensibilidade antimicrobiana de 53 amostras de leite de 13 vacas em lactação em uma fazenda situada na região de Patos de Minas-MG e identificar, através do exame laboratorial de TSA, analisado na Faculdade Patos de Minas- FPM, quais os melhores métodos de tratamento para tal patologia no rebanho. Após toda metodologia resultou-se em 77% (40/53) das amostras com crescimento bacteriano, e 23% (13/53) das amostras não obtiveram crescimento bacteriano, 28% (11/53) apresentaram menos de dez colônias crescidas, 57% (22/53) apresentaram crescimento de dez colônias, e 15% (6/53) apresentaram crescimento de mais de dez colônias Confirmou-se que de 100% delas são do tipo *Staphylococcus aureus*, sendo que 33% (3/6) são sensíveis ao antibiótico Penicilina; 56% (5/6) são sensíveis a Sulfametoxazol + Trimetoprim e 11% (1/6) foram resistentes a ambos os antibióticos. Conclui-se que o estudo contribui para o controle e o tratamento de agentes bacterianos, principalmente *Staphylococcus aureus*, no rebanho estudado.

**Palavras chave:** Mastite bovina, Bovinos, Teste de Sensibilidade Antimicrobiana.

#### ABSTRAC

Mastitis, inflammation of the mammary gland, is one of the most worrisome pathologies in the clinical area of large animal medicine in dairy cattle, with the main infectious agent bacteria of the genus *Staphylococcus spp.* they are resistant to antibiotics used in the routine treatment of mastitis. Thus, the objective of this research was to analyze the antimicrobial sensitivity profile of 53 milk samples from 13 lactating cows on a farm located in the region of Patos de Minas-MG and identify, through the TSA laboratory examination, analyzed at the Faculty. Patos de Minas-FPM, what are the best treatment methods for such pathology in the herd. After all methodology resulted in 77% (40/53) of the samples had bacterial growth, and

<sup>1</sup> Graduando em Medicina Veterinária, FPM, 2019. darlanonca@gmail.com

<sup>2</sup> Docente do curso de Medicina Veterinária da FPM, Médica Veterinária formada pela Universidade Federal de Lavras - UFLA (2007). Mestre em Ciências Veterinárias pela UFLA (2012). Especialista em Docência Universitária pela UninCor (2012 e-mail: marcela.nunes@faculdadepatosdeminas.edu.br

23% (13/53) of the samples had no bacterial growth, 28% (11/53) showed less than ten colonies grown, 57 % (22/53) showed growth of ten colonies, and 15% (6/53) showed growth of more than ten colonies, it was confirmed that 100% of them are *Staphylococcus aureus*, where 33% (3/6) are sensitive to the antibiotic Penicillin; 56% (5/6) are sensitive to Sulfamethoxazole + Trimetoprim and 11% (1/6) were resistant to both antibiotics. It is concluded that the study contributes to the control and treatment of bacterial agents, mainly *Staphylococcus aureus*, in the studied herd.

**Keywords:** Bovine Mastitis, Cattle, Antimicrobial Sensitivity Test.

## 1 INTRODUÇÃO

A Mastite bovina é conhecida como uma doença que causa prejuízos econômicos para pecuária leiteira, a alta prevalência nos rebanhos brasileiros tende a agravar mais a situação, a mastite pode ser causada por injúria microbiológica, química ou mecânica, sendo a primeira, a mais comum. A consequência dessa patologia é alteração na glândula mamária e na composição do leite (1). “A palavra mastite, derivada do grego *mastos*, ou mamite, do latim *mammae*, e designa uma doença de grande importância econômica, sobre a qual muito se tem investigado” (2, p. 01).

Normalmente a mastite é uma resposta a infecção intramamária, sobretudo de ordem bacteriana, mico plasmática fúngica ou ainda por protozoário acometendo as glândulas mamárias (3).

Devido a percepção dos prejuízos na diminuição da produção do leite, a mastite é uma das mais complicadas e de maior custo das doenças da indústria leiteira, pois existe uma alta prevalência na região de Patos de Minas. A Mastite causa um grande um risco potencial à saúde pública, pois existe uma eliminação de patógenos e toxinas através do leite (1; 2).

A Mastite pode ser subdivida em 4 classes sendo elas: Mastite clínica, Mastite subclínica, Mastite contagiosa, Mastite Ambiental. Contudo a subclínica é a que traz mais prejuízos aos produtores, pois os animais não tem manifestação clínica.

Mastite clínica: É caracterizada pelo aparecimento de edemas, hipertermia, rigidez e dor na glândula mamária, pode aparece também grumos, pus ou quaisquer alterações das características do leite (4, p.27).

Partiu-se das seguintes hipóteses: acredita-se que a mastite seja uma doença com grande prevalência na região de Patos de Minas. Com o aumento da mastite

em rebanho leiteiro na região de Patos de Minas acredita-se que a patologia está relacionada ao mal manejo dos animais e no ambiente; Contudo acredita-se que a falta do *pré* e *pós-dipping* na linha de ordenha seja primordial para que os microrganismos se manifestem em grande escala.

Os problemas elencados englobam que os tratamentos de mastite não são mais eficazes como antigamente devido ao fato de os produtores usarem medicação sem a supervisão de um Médico Veterinário, o que colabora para o aparecimento precoce de resistência das bactérias aos medicamentos usados na rotina. Percebe-se que ao longo período de carência do resíduo da maioria dos antibióticos traz prejuízos econômicos na produção do leite. Observa-se que os resíduos deixados pelos fármacos nos tratamentos da mastite dificultam a implantação de protocolos devido à resistência apresentada pelos produtores, geralmente devido ao tempo total dispendido entre o tratamento (muitas vezes longo) acrescido do período de carência necessário é de sete a nove dias após o término do mesmo.

Sendo assim, o objetivo de tal pesquisa foi realizar o isolamento das bactérias causadoras de mastite bovina em uma fazenda situada na região de Patos de Minas-MG e identificar, através do exame laboratorial de teste de sensibilização antimicrobiana (TSA), analisado na Faculdade Patos de Minas- FPM, quais os melhores métodos de tratamento para tal patologia no rebanho. Especificamente: analisou-se através de exame físico, vacas leiteiras infectadas por mastite; Realizou-se coletas e identificou através de isolamento bacteriano, qual microrganismo foi cultivado, e por fim, identificou por exame laboratorial de teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA) realizado no laboratório de análises clínicas da Faculdade Patos de Minas – FPM, quais os melhores protocolos antibióticos para aquele rebanho leiteiro.

Tal estudo se justifica, pois, a mastite é um processo inflamatório da glândula mamária, podendo ser causada por microrganismos como bactérias, fungos e vírus, além de traumas físicos e agentes químicos irritantes. Na maioria dos casos, a inflamação ocorre devido à penetração de microrganismos patogênicos pelo canal do teto, ocorrendo uma instalação e multiplicação dos patógenos. A função da resposta inflamatória da glândula mamária é a eliminação do agente patogênico. A cidade de Patos de Minas, localizada na região do Alto Paranaíba no estado de Minas Gerais, é um polo de referência na bovinocultura leiteira estadual, trazendo

benefícios econômicos para a cidade. Justifica-se, dessa maneira, esta pesquisa pelo alto número de bovinos de leite localizados na região, fazendo com que haja facilidade na contaminação destes animais pela aglomeração nas fazendas especializadas em leite, muitas com alta tecnologia, outras com trabalho manual, sendo que, na maioria das vezes os proprietários realizam o tratamento com antibióticos de forma irregular nos animais fazendo com que haja uma resistência bacteriana dificultando o tratamento correto realizado pelo médico veterinário.

A fazenda utilizada para o presente estudo está localizada no município de Patos de Minas – MG, integra o Assentamento vitrine fazenda Santo Antônio. Tal assentamento é considerado agricultura familiar, pois no comando da fazenda está o proprietário e família, seu rebanho consiste de 50 vacas destas 13 em lactação a maioria são vacas mestiças derivadas de cruzamentos, a alimentação das vacas é pasto e silagem as mesmas são ordenhas duas vezes ao dia.

### **3 AGENTES CAUSADORES DE MASTITE**

A mastite subclínica é a fase assintomática da doença que tem características de não apresentar sinais visíveis que passam despercebido pelos proprietários e seus colaboradores, com isso a mastite subclínica pode se alastrar-se por todo o rebanho e infectar outras vacas que estão sadias causando surtos de mastite na propriedade (2).

Os principais microrganismos que causam Mastite bovina são divididos em grupos, cocos Gram-positivos, bactérias Gram-negativas, *Actinomyces*, *Corinebactérias*, *Mycoplasma* e outros. Entretanto os cocos Gram-positivos constituem no mais importante dos grupos responsáveis por cerca de 90% das ocorrências (7, p. 12).

**Mastite Contagiosa:** Os microrganismos que causam mastite contagiosa são grupos que já existem na flora intestinal, na pele, pelo e é transmitido principalmente na hora da ordenha pelas mãos dos ordenadores, panos, equipamentos que são utilizados, bem como o próprio bezerro. Sendo assim, basta uma oportunidade para que o microrganismo se estale para iniciar os sinais da doença. Na maioria das vezes, esse tipo de Mastite tem caráter evolutivo para infecções subclínicas, de longa duração (8).

Mastite Ambiental: O responsável nessa infecção é o próprio ambiente em que o rebanho vive, visto que os grupos de microrganismos patogênicos desse tipo de Mastite são constituídos por bactérias presentes em várias fontes do ambiente: fezes, água contaminada, cocho, solo, e diversos materiais orgânicos usados nas fazendas. Com caráter geralmente mais agudo e de evolução rápida com maior taxa no pós-parto e de maior concentração nos períodos mais chuvosos (9).

Controle e prevenção: O controle efetivo da Mastite se baseia no manejo sanitário bem feito, como diminuir a exposição dos tetos aos patógenos com o objetivo de diminuir a taxa de infecção. A atenção dos proprietários deve estar voltada para o correto manejo de ordenha, como não utilizar panos e esponjas em mais de uma vaca, oferecer treinamento para os ordenadores, fazer a desinfecção das tetos depois das ordenhas, bem como o *pré-dipping* e o *pós-dipping* para desinfecção dos tetos, que é a imersão dos tetos em solução desinfetante como o iodo. Contudo, a lavagem da sala da ordenha tem mostrado resultados favoráveis no controle de Mastite (2).

Os prejuízos são inúmeros devido ao mal manejo, da nutrição das vacas até o momento da ordenha, visto que os microrganismos estão em todos os lugares. A mastite bovina não só atinge o animal em si mas também a qualidade do leite. A mastite é enfermidade considerada como a principal responsável por prejuízos econômicos causados aos produtores de leite em todo o mundo (10, 11).

*Staphylococcus aureus*, é considerado como o agente mais prevalente em mastite bovina sendo de difícil tratamento devido à elevada resistência aos antibióticos. Em levantamentos epidemiológicos nacionais e internacionais, esta bactéria está presente em cerca de 50% das infecções em bovinos leiteiros (12).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi dividido em três fases: 1ª- caracterização da fazenda, das vacas e coleta do leite; 2ª- posteriormente as amostras foram encaminhadas ao laboratório de análises microbiológicas da FPM; 3ª- os resultados foram tabulados e analisados.

A fazenda situada na região de Patos de Minas disponibilizada para o estudo em questão possui 50 fêmeas bovinas em período reprodutivo, estando 13 em lactação (autorização – anexo 1).



Todos os animais em lactação passaram por avaliação clínica prévia para detecção de mastite clínica ou subclínica, guiando assim os resultados e tratamentos, sendo utilizados como auxílio para essa avaliação, utilizando luvas de procedimentos, foram realizados os testes da caneca de fundo escuro e o CMT - *California Mastitis Test* (5).

Foram coletadas 53 amostras de leite de 13 vacas em lactação, as amostras foram coletadas assepticamente em frascos estéreis e sequentemente realizada a assepsia dos tetos desprezando os três primeiros jatos (fotos, anexo 2).

Coletou-se uma quantidade aproximada de 2ml de cada teto e em seguida foi acondicionada, resfriada e levada ao laboratório de microbiologia da Faculdade Cidade Patos de Minas (FPM).

Após a avaliação citada, os animais foram classificados como: com mastite clínica, com mastite subclínica, ou sem mastite clínica evidente à avaliação.

Então, somente aqueles animais com mastite comprovada pelos testes citados foram avaliados através de coleta de leite de ambos os tetos em frascos separados, para ser realizada cultura bacteriana na placa de petri em meio ágar sangue.

Para padronização da coleta de leite de ambos os tetos, já que o animal pode ter somente um ou mais tetos afetados pela enfermidade, e o tratamento com intramamário deve ser guiado caso isso se faça necessário concomitantemente ao tratamento sistêmico, fixamos a denominação dos tetos da seguinte maneira: teto cranial esquerdo – teto 1, teto cranial direito – teto 2, teto caudal esquerdo – teto 3, teto caudal direito – teto 4.

Imediatamente após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa com gelo para manutenção de temperatura entre 4-8°C (graus *Celsius*) e levadas até o Laboratório de Microbiologia da Faculdade Patos de Minas, onde foram processadas, acondicionadas e então, passaram por inoculação com o inoculador e em seguida foi realizada a incubação em meios de cultura específicos (ágar sangue), para determinação dos agentes etiológicos que possam estar presentes nas mesmas.

Após período de incubação de 24 horas em estufa com temperatura controlada (37°C), foi feita leitura prévia, e nos casos onde não houveram nenhum crescimento bacteriano, a amostra foi considerada negativa. Nos casos com crescimento, esperou-se mais 24 horas e então, e o agente foi reinoculado em outra

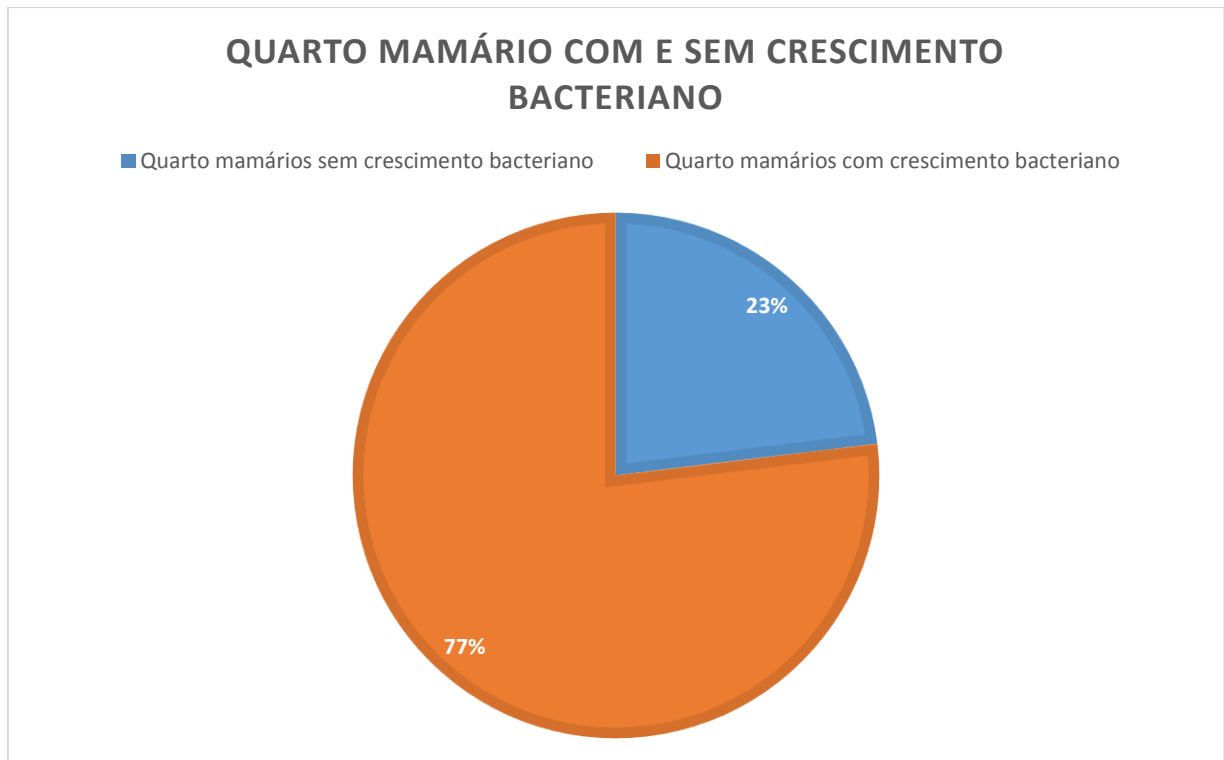
placa, desta vez, para a realização do TSA. Aguardou-se mais 24 horas e com auxílio de um paquímetro foi determinado o tamanho do elo do agente etiológico da amostra e qual seu tipo através do Teste de Catalase (6).

Com os resultados em mãos, foi proposto protocolo de tratamento individual, de acordo os resultados obtidos das amostras e as características clínicas da doença em cada animal.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSÃO

De acordo com a pesquisa realizada, podemos analisar que das 53 amostras analisadas, 77% (40/53) das amostras tiveram crescimento bacteriano, e 23% (13/53) das amostras não obtiveram crescimento bacteriano, como mostra o gráfico 1 abaixo.

**Figura 1** – Quarto mamário com e sem crescimento bacteriano.



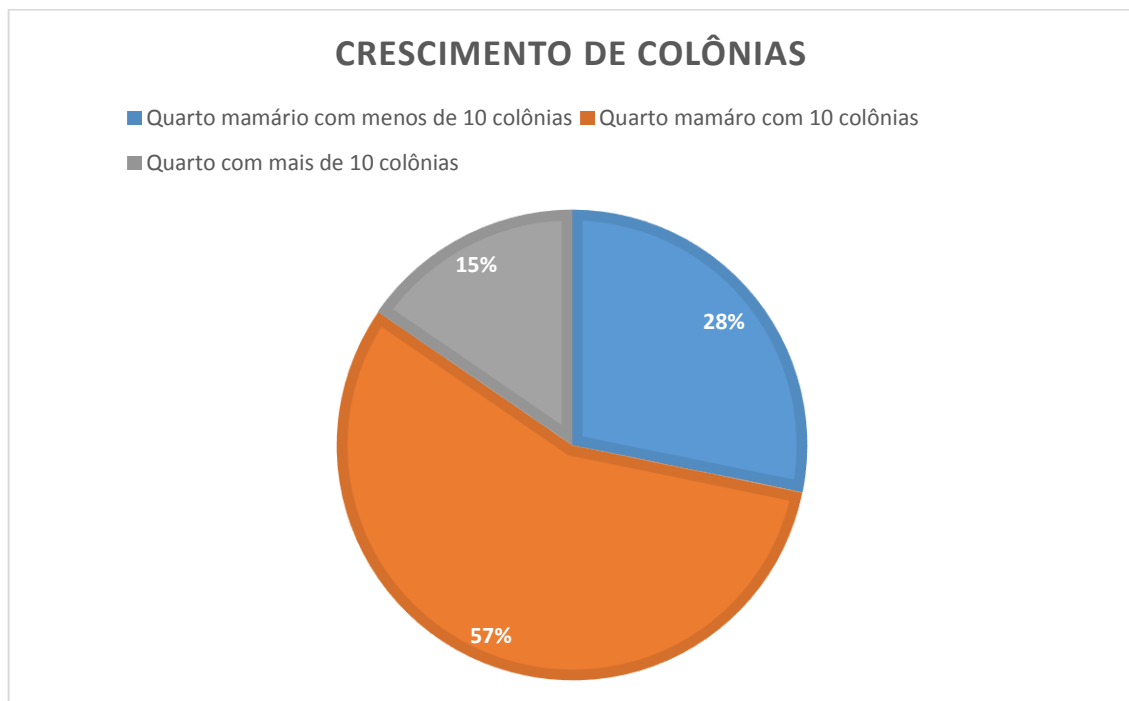
**Fonte:** dados da pesquisa (2019).

Sabendo que mesmo após a realização do teste *California Mastitis Test* – CMT, é necessária a realização do exame microbiológico e teste de sensibilidade antimicrobiana para melhor diagnosticar e tratar a mastite bovina, pode-se notar que,

em um mesmo animal, pode-se ter apenas um teto infectado, ou mais de um teto infectado, além de analisar que a porcentagem de tetos infectados foi maior do que a de tetos sem crescimento bacteriano. Concordando a presente pesquisa, um estudo de COSTA *et al.*, (1), avaliou a correlação entre o teste do CMT com o exame microbiológico, verificou-se que (63,3%) dos tetos confirmados com o CMT por mastite foram positivos ao exame microbiológico e 206 (36,7%) foram negativos. Os resultados positivos no CMT, mas negativos no exame microbiológico, podem indicar um processo inflamatório de etiologia não bacteriana, pois o CMT é um método auxiliar de boa correlação com o exame microbiológico, porém o processo inflamatório pode não ser de origem infecciosa.

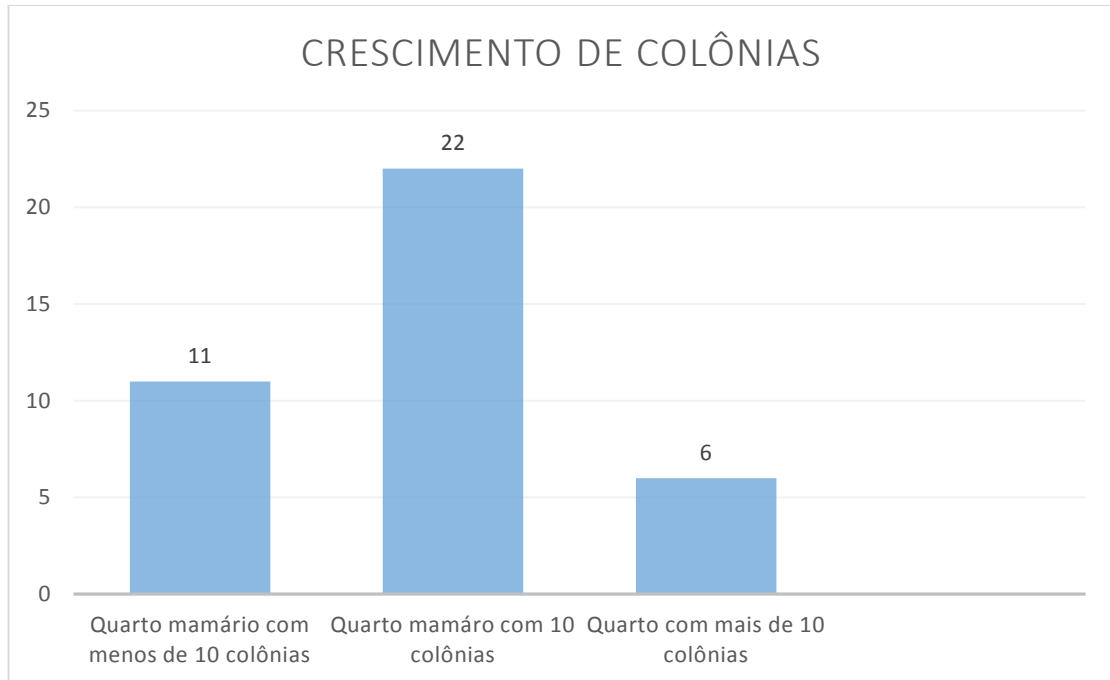
Diante a pesquisa realizada no presente trabalho podemos avaliar que das 53 amostras coletadas (53 tetos), 28% (11/53) apresentaram menos de dez colônias crescidas, 57% (22/53) apresentaram crescimento de dez colônias, e 15% (6/53) apresentaram crescimento de mais de dez colônias, como mostram os gráficos 2 e 3 abaixo.

**Figura 2-** Dados sobre o número de crescimento de colônias bacterianas.



**Fonte:** dados da pesquisa (2019).

**Figura 3 -** Dados sobre o número de crescimento de colônias bacterianas.

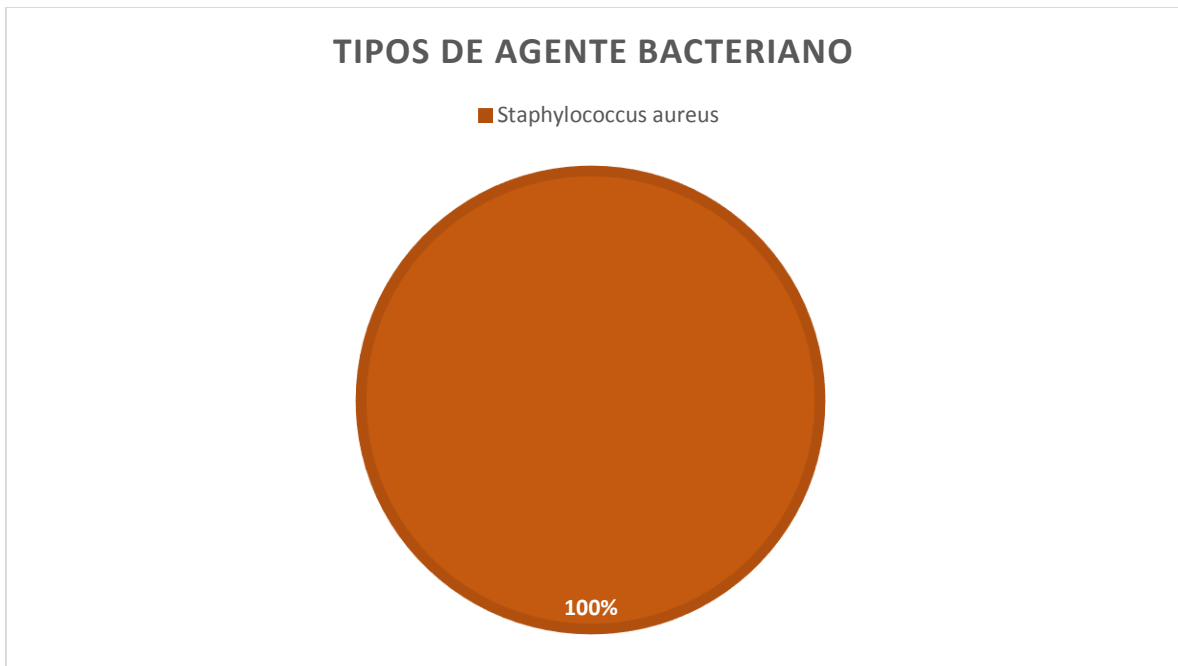


**Fonte:** dados da pesquisa (2019).

Os resultados obtidos nesta pesquisa, notaram-se o grau de crescimento bacteriano se sobressaiu em tetos com crescimento de 10 colônias bacterianas, seguido de tetos com mais de 10 colônias e tetos com menos de 10 colônias, ressaltando então a importância da realização da cultura bacteriana. De acordo com (13), o melhor modo de se conhecer o estado microbiológico do rebanho é realizando a cultura de todos os quartos mamários das vacas em lactação, isto permite a identificação dos agentes e do nível de infecção do rebanho.

Através do TSA, analisando os tetos com crescimento de mais de dez colônias, foi confirmado que de 100% delas são do tipo *Staphylococcus aureus*, como mostra o gráfico 4, a seguir.

**Figura 4 -** Tipos de agente bacteriano confirmado através do TSA.

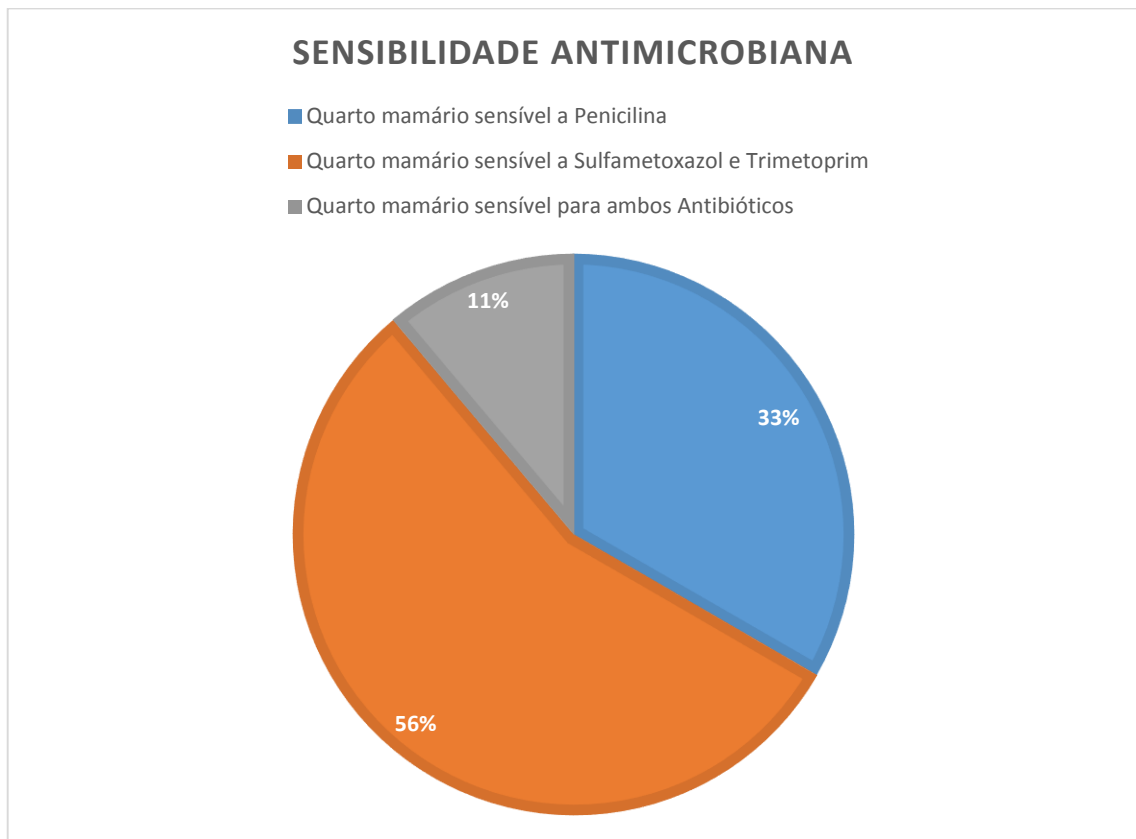


**Fonte:** dados da pesquisa (2019).

Sabendo que o número de agentes bacterianos causadores de mastite podem ser diversos, no presente trabalho notamos que bactérias do tipo *Staphylococcus aureus* prevaleceram em totalidade dos quarto mamário infectados, não havendo em tais quartos mamário outros tipos de microrganismos. Concorda-se com COSTA *et al.*, (15), quando em uma pesquisa, o mesmo observou que o agente etiológico mais prevalente nos casos de mastite bovina em propriedades nos Estados de São Paulo e Minas Gerais foi *Staphylococcus spp.*

Sendo o antibiograma um teste que propõe como resultado padrões de resistência ou sensibilidade de uma amostra bacteriana específica a vários antibióticos, e seus resultados são interpretados e usados para tomar decisões sobre tratamento, tal procedimento foi realizado, tendo como resultado os seguintes dados: dos 6 quarto mamário confirmados com *Staphylococcus aureus*, 33% (3/6) são sensíveis ao antibiótico Penicilina; 56% (5/6) são sensíveis a Sulfametoxazol + Trimetoprim e 11% (1/6) foi resistente a ambos os antibióticos, ressaltando que, alguns animais possuíram sensibilidade por ambos os antibióticos, enquanto outros possuíram sensibilidade por apenas um dos antibióticos, como mostra o gráfico 5 a seguir:

**Figura 5** - Comparação da sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* por antibióticos penicilina e sulfametoxazol + trimetoprim.



**Fonte:** dados da pesquisa (2019).

Observa-se que a quantidade de *Staphylococcus* sensíveis ao antibiótico Sulfametoxazol + trimetoprim é maior que a sensibilidade ao antibiótico penicilina, e em menor número ouve a resistência para ambos antibióticos, (14; 15; 16) através de testes de sensibilidade *in vitro*, é possível detectar cepas de sensíveis e sugerir a utilização da penicilina no tratamento *in vivo*, ao invés, de *Staphylococcus* sp um medicamento de última geração exemplo ciprofloxacina. Devendo lembrar que muitas vezes um antibiótico apresenta-se sensível no teste *in vitro*, mas não tem boa eficácia *in vivo*, ainda assim, contrapondo os presentes resultados (17), a alta resistência para a sulfa+trimetoprim pode estar associada ao uso deste quimioterápico para tratar mastites, uma vez que as sulfas são principalmente utilizadas no tratamento preventivo de septicemias em animais com mastites por coliformes, ou ainda pelo uso de sulfa no tratamento de parasitoses como a coccidiose bovina.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos na presente pesquisa oferecem aos criadores e médicos veterinários da cidade de Patos de Minas, informações quanto ao perfil de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos relacionados a mastite bovina, contribuindo assim para o controle e o tratamento de agentes bacterianos, principalmente *Staphylococcus aureus*, no rebanho estudado. A presença dos agentes bacterianos é de suma preocupação para a clínica veterinária de grandes animais, sobretudo, para a saúde pública, pois o leite sendo fonte de alimentação humana e renda para criadores pode abalar a economia nacional caso venha a ter uma resistência a todos antimicrobianos disponíveis.

## REFERÊNCIAS


- 1- COSTA, E. O. importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista da Educação Continua do CRMV-SP**. v. 1, n 1, p. 3 - 9, 1998.
- 2- DIAS, R.V.C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró, v.1, n.1, p.23-27, 2007. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/download/255/95>. Acesso em: 27 de maio de 2019
- 3- RADOSTITS, O. M., Blood D.C. & Gay, C.C. **Clínica Veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1737 p. 2002.
- 4- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos, 2001. 175p.
- 5- MULLER, E. E. **Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite**. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2., 2002, Maringá. Anais... Maringá, 2002. p.206- 217.
- 6- JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A.; CARROLL, K. C.; FUNKE, G.; LANDRY, M. L.; RICHTER, S. S.; WARNOCK, D. W.- **Manual of Clinical Microbiology**. 11th Ed. ASM Press, Washington, DC, 2015.
- 7- SEARS, P. M. *et al.*, Procedures for mastitis diagnosis and control. The vet. clin. of North America: food anim. **Pract.**, Philadelphia , v. 9, n. 3, p. 445-468, 1993.
- 8- BRESSAN, M. (Ed.). **Práticas de manejo sanitario em bovinos de leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite/Area de Comunicacao Empresarial, 2000. 65p.


- 9- SANTOS, M. C. **Curso sobre manejo de ordenha e qualidade do leite**. Vila Velha: UVV, 2001. 57p.
- 10- FREITAS, M. F. L. *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.171- 177, 2005.
- 11- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por Staphylococcus aureus e suas implicações em Saúde Pública. **Revista Ciência Rural**, v.34, n.4, p. 1315-1320, 2004
- 12- SILVA, D. M. **Isolamento, caracterização e genômica comparativa de patógenos de mastite bovina**. 2016. 89p. Tese (Doutorado em Bioquímica Aplicada) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2016.
- 13- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; SOUZA, H. M. *et al.*, Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina. **Pesq. Vet. Bras.**, v.18, p.39-44, 1998.
- 14- ANDRADE, M. A.; DIAS FILHO, F. C.; MESQUISTA, A. J.; ROCHA, P. T. Sensibilidade “in vitro” de Staphylococcus aureus isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n.1, p.53-57, 2000.
- 15- COSTA, E. O.; BENITES, N. R.; GUERRA, J. L; MELVILLE, P. A. Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus spp. Isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine Bulletin**, v.47, p.99-103, 2000.
- 16- BYARUGABA, D. K. A view on antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. **International Journal Antimicrobial Agents**, v.24, p.105- 110, 2004.
- 17- OLIVEIRA, A. P., WATTS, J. L., SALMON, S. A., AARESTRUP, F. M. Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis I Europe and the United States. **J. Dairy Sci.**, v.83, p.855-863, 2000.



## Anexo 1

## Autorização do proprietário da fazenda.


**FACULDADE PATOS DE MINAS**  
 Avenida Juscelino Kubitschek de Oliveira, 1220,  
 Cristo Redentor - Patos de Minas MG -  
 CEP: 38700-156 (34) 3818-2300  
**CEUA/FPM**  
 Comissão de Ética no Uso de Animais  
 Associação de Educacional Patos de Minas



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE PESQUISA EM PRONTUÁRIOS E DOCUMENTOS**

A Fazenda Santo Antônio, na pessoa de seu representante Celso Quintino Ribeiro, autoriza a pesquisador(a) Darlan Duarte da Silva, portadora do RG nº MG-14.693.352 e do CPF nº 070.090.096-91, a realizar pesquisa com prontuários do departamento/setor dados primários da Fazenda Santo Antônio, com a finalidade de realizar sua pesquisa intitulada: "Teste de Sensibilidade Microbiana em Bovinos", realizada na instituição de ensino Faculdade Cidade Patos de Minas- FPM.

A autorização está restrita à obtenção dos seguintes dados:  
Coleta de 2ml de leite para teste microbiano

Para tanto, o pesquisador em epígrafe, foi identificado de que:

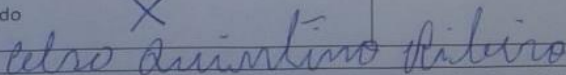
I - Deve realizar a pesquisa nos termos do determinado no parecer ético emitido pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade Patos de Minas, assim como das Resoluções do CONCEA;

II - Que a Fazenda Santo Antônio, está ciente de suas co-responsabilidades, na condição de co-participante da pesquisa, assim como dispõe de infraestrutura necessária ao compromisso assumido, no sentido de resguardar o sigilo das informações, garantindo a segurança e bem-estar dos sujeitos participantes da pesquisa.

Por ser a expressão da verdade, firmo o presente em duas vias.

Patos de Minas, 17 de junho de 2019

Darlan Duarte da Silva, graduanda em Medicina Veterinária FPM 20  
Solicitante / Função

Deferido <input checked="" type="checkbox"/>	Indeferido <input type="checkbox"/>
 <b>Celso Quintino Ribeiro</b> CEUA / FPM - Avenida Juscelino Kubitschek de Oliveira, 1220, Cristo Redentor Patos de Minas MG - CEP: 38700-156 (34) 3818-2300	

## Anexo 2

Figura 1- Análise do leite com auxílio do teste de CMT.



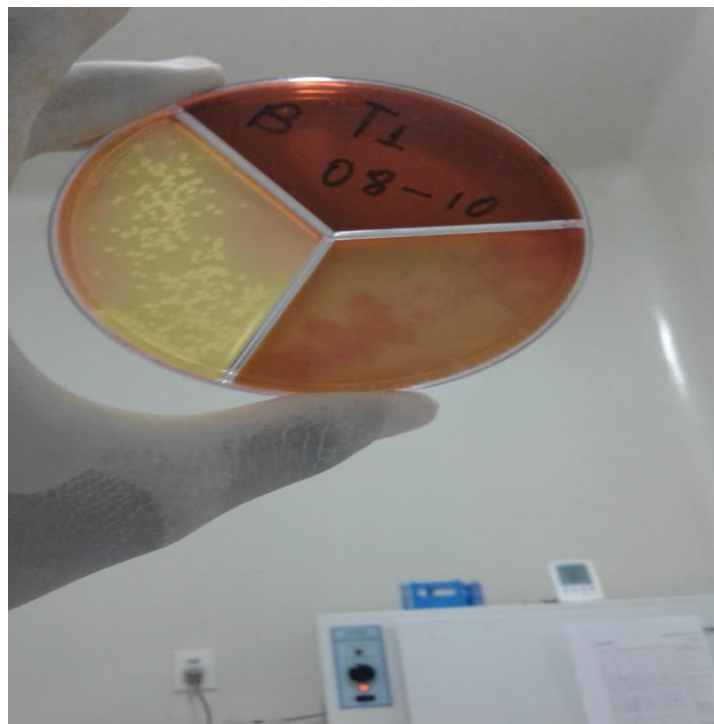
Fonte: pesquisa 2019

**Figura 2- Material coletado (leite), e placas de petri para cultura microbiana**



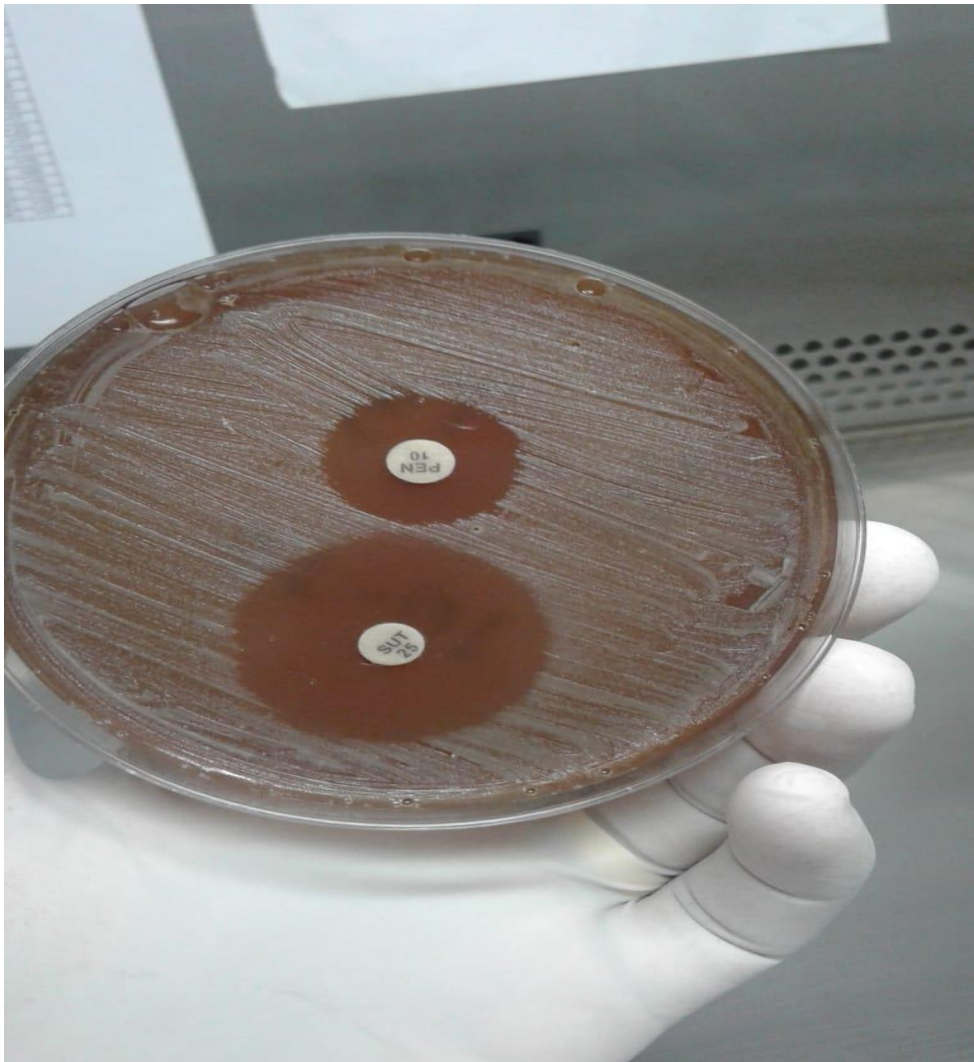
**Fonte: dados da pesquisa (2019).**

**Figura 3: colônia crescendo de microrganismos em placa de petri**



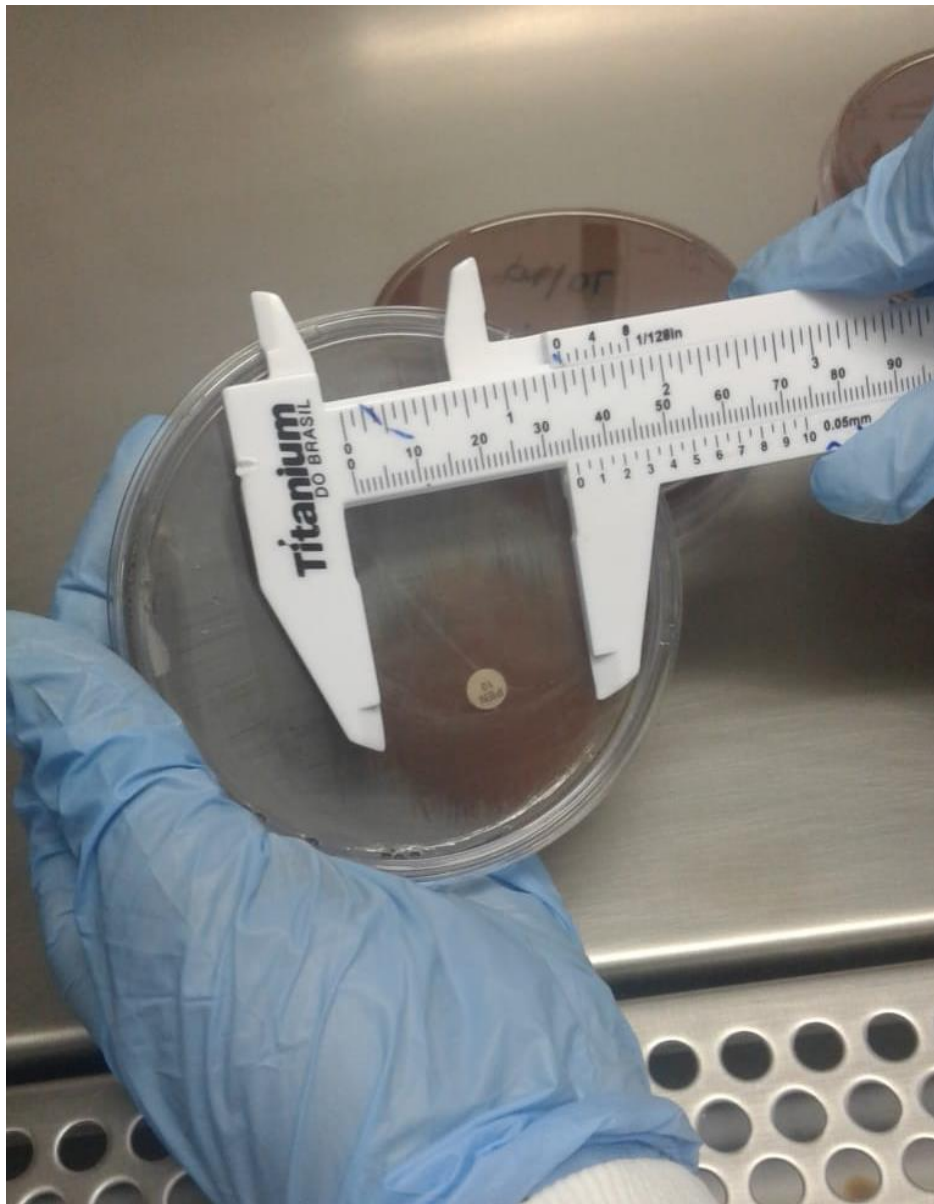
**Fonte: dados da pesquisa (2019).**

**Figura 4- teste de sensibilidade antimicrobiana com discos de antibióticos**



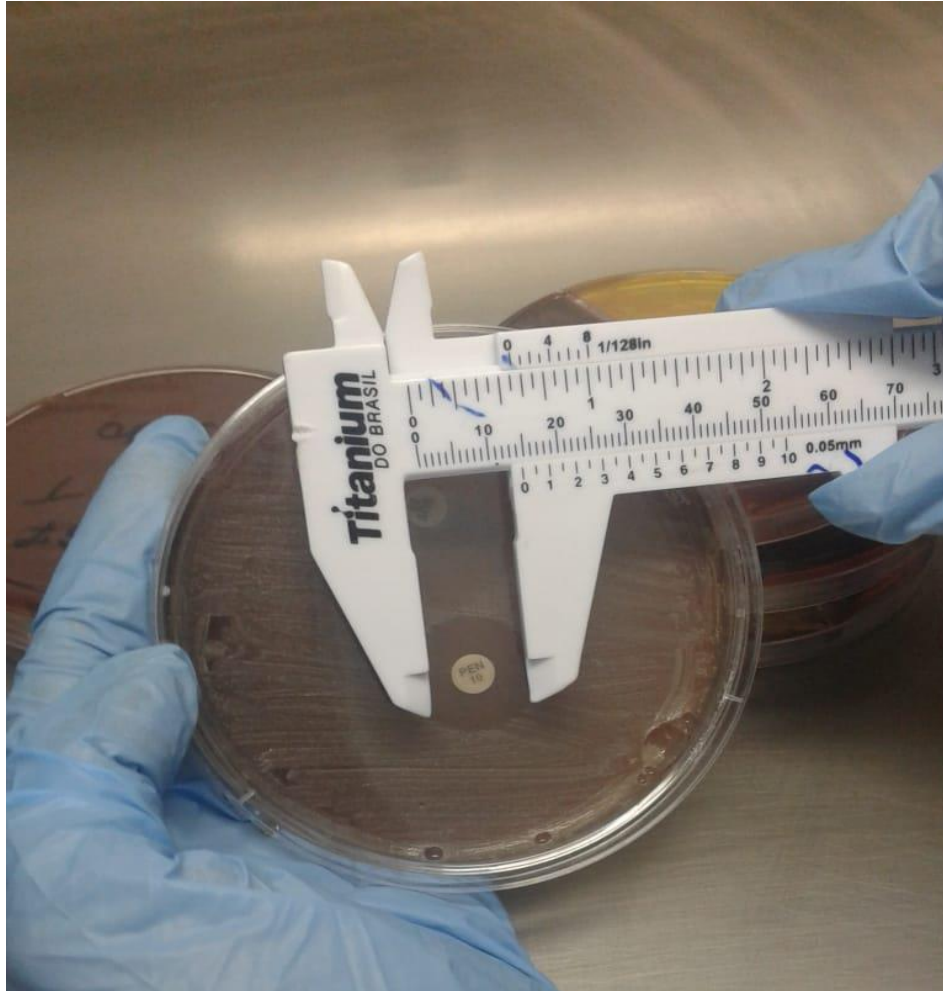
**Fonte: dados da pesquisa (2019).**

**Figura 5- mensuração do halo maior de inibição com auxílio de um paquímetro.**



**Fonte: dados da pesquisa (2019).**

**Figura 6- mensuração do halo menor de inibição com auxílio de um paquímetro.**



**Fonte: dados da pesquisa (2019).**