



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
CURSO MEDICINA VETERINÁRIA

Samara Pires

**Principais agentes etiológicos de mastites clínicas diagnosticados na leiteira
da Granjas 4 Irmãos no período de 2019 a 2024**

Curitibanos

2024

Samara Pires

**Principais agentes etiológicos de mastites clínicas diagnosticadas na leiteira
da Granjas 4 Irmãos no período de 2019 a 2024**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Rurais, Campus Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Marcos Henrique Barreta, Dr.

Curitibanos

2024

Pires, Samara

Principais agentes etiológicos de mastites clínicas diagnosticados na leiteira da Granjas 4 Irmãos no período de 2019 a 2024 / Samara Pires ; orientador, Marcos Henrique Barreta, 2024.

41 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária, Curitibanos, 2024.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Mastite bovina. 3. Isolamento microbiológico. 4. Bovinocultura de leite. 5. Cultura microbiológica na fazenda. I. Barreta, Marcos Henrique . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

Samara Pires

**Principais agentes etiológicos de mastites clínicas diagnosticados na leiteira
da Granjas 4 Irmãos no período de 2019 a 2024**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Médica Veterinária e aprovado em sua forma final pelo Curso Medicina Veterinária.

Curitiba, 25 de junho de 2024.



Prof. Malcon Andrei Martinez Pereira, Dr.

Banca examinadora



Prof. Marcos Henrique Barreta, Dr.

Orientador



M.V. Ana Flávia Pereira de Souza

Membro externo



M.V. André Lucio Fontana Goetten, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina -UFSC

Curitiba, 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu saúde e perseverança para ir em busca dos meus sonhos.

Minha mãe Nair Vacari Pires que onde quer que esteja sempre esteve comigo e me enviou força para que apesar das dificuldades não desistisse desse sonho. A minha família de sangue e a que ganhei ao longo da vida que sempre me apoiaram, minha irmã, meus irmãos, tias, tios, primas, cunhadas e sogro.

Ao meu noivo Wagner Schineider Pinto Abê que nunca mediu esforços para contribuir com meu crescimento pessoal e profissional, que sempre me apoiou e me incentivou ao longo da graduação.

Agradeço a todos os amigos que fiz durante esse período em especial a Emili, minha dupla da faculdade, que me amparou nos trabalhos, aulas e nos dias difíceis da graduação. Natália, Letícia e Gabriela amigas queridas que andaram do meu lado sempre.

Agradeço a Samanta Nardes, profissional dedicada que compartilhou comigo um pouco de seu conhecimento, sanando dúvidas e com isso contribuindo para a construção deste trabalho.

RESUMO

A mastite é a inflamação da glândula mamária que ocorre devido a várias causas. Uma delas são os processos infecciosos onde vários agentes podem desencadear esse processo. A forma com que ocorre a transmissão pode variar dependendo do microrganismo envolvido. Os agentes contagiosos atuam de maneira silenciosa, causando na maioria das vezes quadros subclínicos. Dessa forma, ocorre uma disseminação do agente já que esse animal infectado, por não apresentar sintomas, irá permanecer no rebanho. Outro grupo de agentes são os ambientais, esses atuam de maneira diferente por não estarem adaptados a glândula mamária e na maioria das vezes irão desencadear uma resposta inflamatória na vaca, causando mastite clínica que será percebida por alterações no leite, úbere e através de sinais sistêmicos. Esses patógenos são encontrados no ambiente e dessa forma as infecções ocorrem com maior facilidade. O controle e prevenção de ambas devem ser realizados através de protocolos de higiene e desinfecção, identificação e segregação dos animais contaminados. Buscando identificação do estado microbiológico do rebanho da leitearia da Granjas 4 Irmãos foi realizado um estudo dos resultados de isolamentos de culturas de amostra de leite de animais com mastite clínica no período de 4 anos (2019-2024), onde identificou-se a prevalência de estafilococos não-aureus (33,9%) que são agentes secundários e causam quadros leves de mastite. Os casos de mastite também foram analisados quanto a sua gravidade, onde os quadros leves representaram 79,7% dos casos. Dos agentes contagiosos que acarretaram quadros clínicos os estreptococos sendo o *S. agalactiae* e *S. dysgalactiae* foram isolados em 23,9% das amostras com crescimento positivo, e do grupo dos agentes ambientais a *E. coli* foi a mais prevalente com 15%. A redução de casos de mastite é proporcionada com um conjunto de medidas de higiene, nutrição, imunidade e bem-estar que irão resultar em aumento da produção, lucratividade e com redução de custos ligados a essa enfermidade de grande relevância na pecuária leiteira.

Palavras-chave: mastite; cultura microbiológica; mastite ambiental; mastite contagiosa.

ABSTRACT

Mastitis is inflammation of the mammary gland that occurs due to various causes. One of them is infectious processes where several agents can trigger this process. The way in which transmission occurs may vary depending on the microorganism involved. Contagious agents act silently, most often causing subclinical conditions. In this way, the agent spreads as this infected animal, as it does not show symptoms, will remain in the herd. Another group of agents are environmental ones, these act differently because they are not adapted to the mammary gland and most of the time they will trigger an inflammatory response in the cow, causing clinical mastitis that will be noticed by changes in the milk, udder and through systemic signs. These pathogens are found in the environment and therefore infections occur more easily. Control and prevention of both must be carried out through hygiene and disinfection protocols, identification and segregation of contaminated animals. Seeking to identify the microbiological status of the Granjas 4 Irmãos dairy herd, a study was carried out on the results of culture isolations from milk samples from animals with clinical mastitis over a 4-year period (2019-2024), where the prevalence of non-aureus staphylococci (33.9%) which are secondary agents and cause mild mastitis. Cases of mastitis were also analyzed regarding their severity, where mild cases represented 79.7% of cases. Of the contagious agents that caused clinical conditions, streptococci, *S. agalactiae* and *S. dysgalactiae*, were isolated in 23.9% of samples with positive growth, and of the group of environmental agents, *E. coli* was the most prevalent with 15%. The reduction in mastitis cases is achieved through a set of hygiene, nutrition, immunity and well-being measures that will result in increased production, profitability and reduced costs linked to this disease of great importance in dairy farming.

Keywords: mastitis; microbiological culture; environmental mastitis; contagious mastitis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas da glândula mamária bovina	14
Figura 2 – A- Amostra coletada de animal com mastite clínica. B- Minilaboratório SmartLab. C- Placa durante inoculação de amostra.	32
Figura 3 – Resultado de leitura de cultura microbiológica na fazenda em aplicativo OnFram.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Gravidade de casos de mastite	34
Tabela 2- Microrganismos isolados em casos de mastite clínica na leitaria da Granjas 4 Irmãos no período de 2019-2024.	34
Tabela 3 - Agentes envolvidos e grau de acometimento em casos de mastite clínica na leitaria da Granjas 4 Irmãos.	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBT	Contagem bacteriana total
CCS	Contagem de células somáticas
CMT	California mastitis test
ENA	Estafilococos não-areus
IIM	Infecção intramamária
LPS	Lipopolissacarídeo
PCR	Reação em cadeia da Polimerase
WMT	Wisconsin Mastitis Test

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	ANATOMIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA.....	14
2.2	MASTITE	15
2.2.1	Mastite clínica	15
2.2.2	Mastite subclínica	16
2.2.3	Agentes contagiosos	17
2.2.3.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.2.3.2	<i>Streptococcus agalactiae</i>	18
2.2.3.3	<i>Mycoplasma spp.</i>	18
2.2.3.4	<i>Corynebacterium bovis</i>	19
2.2.4	Agentes ambientais	20
2.2.4.1	<i>Escherichia coli</i>	20
2.2.4.2	<i>Klebsiellas pp.</i>	21
2.2.4.3	<i>Serratia spp.</i>	21
2.2.4.4	<i>Streptococcus uberis</i>	22
2.2.4.5	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	23
2.2.4.6	<i>Streptococcus canis</i>	23
2.2.4.7	<i>Enterococcus spp.</i>	24
2.2.4.8	<i>Lactococcus spp.</i>	24
2.2.5	Outros microrganismos causadores de mastite	24
2.2.5.1	<i>Estafilococos não-aureus (ENA)</i>	24
2.2.5.2	<i>Nocardia spp.</i>	25
2.2.5.3	<i>Pseudomonas spp.</i>	26
2.2.5.4	<i>Prototheca spp.</i>	26
2.2.5.5	<i>Leveduras</i>	27
2.3	DIAGNÓSTICO DE MASTITE.....	27
2.3.1	California mastitis test (CMT)	27
2.3.2	Wisconsin Mastitis Test (WMT)	28
2.3.3	Contagem de células somáticas (CCS)	28
2.3.4	Teste de fundo preto	28
2.3.5	Cultura microbiológica	28

2.3.5.1	<i>Cultura microbiológica na fazenda</i>	29
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira está presente em todo território nacional sendo uma parte importante da tradição de algumas regiões e responsável pelo desenvolvimento das mesmas. A produção de leite é a fonte de renda para milhares de famílias rurais e também serve de matéria prima para inúmeros produtos na indústria, assim gerando empregos em diferentes setores (Leira *et al.*, 2018). A glândula mamária é responsável pela síntese e liberação do leite, e isso ocorre através de tecidos e células especializadas para essa finalidade, que quando saudáveis, ao final do processo produzem uma substância extremamente nutritiva e completa, a qual é alimento e matéria prima para diversos produtos derivados lácteos (Leira *et al.*, 2018).

A mastite é uma das doenças de maior importância na pecuária leiteira, acarretando danos econômicos e sanitário aos rebanhos e causando prejuízos para o produtor. É caracterizada pela inflamação da glândula mamária, sendo essa uma resposta imunológica as agressões sofridas pelo tecido mamário. Ela pode ser classificada conforme o agente que iniciou o processo infeccioso em mastites contagiosas ou ambientais e também em virtude das demonstrações clínicas envolvidas como mastites clínicas, onde se observam sinais inflamatórios, sejam locais ou sistêmicos e mastites subclínicas, na qual o animal não demonstra sinais e para sua identificação é necessário lançar mão de testes e exames complementares (Santos; Fonseca, 2019)

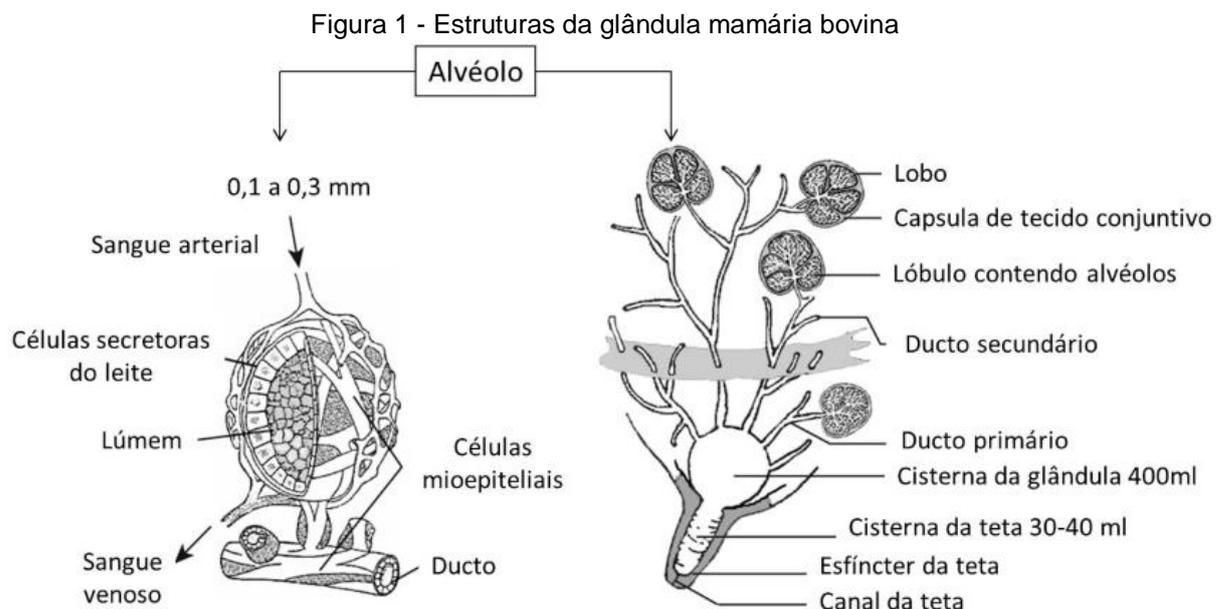
As propriedades leiteiras enfrentam desafios de mastite diariamente e se vê a necessidade de uma rápida resposta frente ao quadro infeccioso, que irá resultar em redução das perdas tanto econômicas como sanitárias. A identificação dos agentes causadores de mastite no rebanho se torna uma ferramenta para auxiliar o médico veterinário a definir o tratamento para cada quadro de mastite e assim construir um histórico do estado microbiológico da propriedade. Disponível hoje no mercado, a cultura microbiológica na fazenda vem auxiliando em um rápido diagnóstico do patógeno responsável pela mastite e com isso a implementação de medidas de prevenção e tratamentos, que juntos irão reduzir os danos dessa enfermidade, que causa intensas perdas a cadeia produtiva de leite (Santos; Fonseca, 2019).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A glândula mamária da vaca adulta é composta por quatro quartos mamários, que funcionam de maneira independente e sem fluxo de leite entre eles, sendo anatomicamente separados por tecido conjuntivo, configurando glândulas individuais. Sendo ela composta por dois tipos de tecidos: o parênquima glandular, o qual abriga os alvéolos que são a unidade funcional produtora da secreção láctea e o estroma, que é constituído por capilares sanguíneos, células mioepiteliais e fibras reticulares (Araujo *et al.*, 2015).

Os alvéolos são constituídos internamente por células alveolares ou secretórias, as quais são responsáveis pela síntese e liberação dos componentes do leite (fluido, lactose, caseína e lipídeos). Externamente os alvéolos são recobertos por uma camada de células mioepiteliais. O lóbulo é o conjunto de alvéolos, o qual é recoberto por tecido conjuntivo, e a união dos lóbulos forma os lobos mamários, essas estruturas podem ser observadas na figura 1 (Araujo *et al.*, 2015).



Fonte: Adaptado de Vivenza; Carvalho (2024).

O fluxo de produção e secreção do leite se inicia dentro do alvéolo, onde migra pelos ductos intralobulares, ductos secundários, ductos primários que se comunicam

com a cisterna da glândula, onde ocorre o armazenamento de parte do leite produzido, seguindo então para cisterna do teto, na qual permanece até que haja estímulo suficiente para relaxamento do esfíncter do teto (Andrews, 2007).

O esfíncter do teto é uma estrutura composta de musculatura lisa, responsável por promover o fechamento do canal do teto sendo o principal mecanismo de defesa da glândula mamária contra a entrada de agentes patogênicos, assim a manutenção da integridade dessa estrutura possibilita a prevenção da ocorrência de mastite (Andrews, 2007).

2.2 MASTITE

A mastite é a inflamação da glândula mamária decorrente de uma resposta do sistema imune perante a uma injúria. Dentre as causas podemos citar danos físicos, químicos e infecções, sendo que os patógenos mais observados em quadros infecciosos são bacterianos. Sua ocorrência está diretamente ligada a impactos econômicos visto que a produção de leite de um animal com mastite diminui expressivamente, advêm custos com tratamentos, descarte do leite, descarte do animal e perdas por óbitos (Da Fonseca, 2021; Santos; Fonseca, 2019). A ocorrência de quadros de mastite pode ser classificada em relação ao agente causador, em contágioso ou ambiental e a apresentação de sinais, podendo se apresentar como mastite clínica ou subclínica.

2.2.1 Mastite clínica

A mastite clínica é a forma mais diagnosticada nas propriedades leiteiras, porém é de menor incidência em relação a mastite subclínica. Isso ocorre devido a maior facilidade de identificação dos quadros clínicos, em virtude da observação de sinais que facilitam o diagnóstico. Os sinais inflamatórios incluem anormalidade no leite com presença de grumos, sangue, pus ou o leite aquoso. No úbere podemos observar edema, aumento de temperatura, rubor, endurecimento, aumento da sensibilidade e dor local. Em quadros graves a vaca pode apresentar sinais sistêmicos como febre, apatia, desidratação, inapetência e diminuição na produção de leite (Da Fonseca, 2021; Santos; Fonseca, 2019).

De acordo com Santos; Fonseca, (2019) o aparecimento e a intensidade dos sinais vai estar relacionado a gravidade da mastite. Animais que apresentam alterações apenas no leite enfrentam quadros leves (grau 1), já quando conjuntamente as alterações do leite hajam sinais no úbere indicam quadros moderados (grau 2) e a união destes sinais somado ao acometimento sistêmico caracteriza quadros graves (grau 3).

A mastite clínica pode também ser classificada em hiperaguda, que é quando ocorre o desenvolvimento abrupto e com maior intensidade dos sinais sistêmicos, podendo apresentar septicemia e levar o animal ao óbito. A mastite aguda ocorre quando há presença dos sinais sistêmicos mais brandos e com uma evolução mais lenta. Subaguda quando se nota a presença de sinais no leite como grumos e com discreta presença dos demais sinais inflamatórios. A forma crônica caracterizada por inflação persistente da glândula mamária que pode apresentar cura clínica e sendo capaz de tornar-se quadros subclínicos, podendo perdurar por meses e causar perda da função do quarto afetado. O patógeno causador bem como a condição imunológica do animal tem relação com a gravidade do quadro (Da Fonseca, 2021; Santos; Fonseca, 2019).

2.2.2 Mastite subclínica

A ausência de alterações visíveis no leite ou no úbere caracteriza a mastite subclínica. Em virtude disso, os animais infectados permanecem por longos períodos no rebanho de maneira silenciosa, causando grandes impactos econômicos pela diminuição da produção, alteração na composição do leite (redução da caseína, lactose, cálcio e gordura) em decorrência das lesões causadas as células secretórias, comprometendo assim o seu correto funcionamento e síntese dos compostos da secreção láctea. Outro indicador rotineiramente observado em quadros subclínicos é o aumento significativo da contagem de células somáticas (CCS) (Caliman; Gasparotto; Ribeiro, 2023; Da Fonseca, 2021).

A mastite subclínica é 11,2 vezes mais prevalente que a mastite clínica e seu caráter silencioso agrava a situação da saúde do rebanho, visto que grande parte dos microrganismos causadores de mastite subclínica possuem caráter contagioso (Leira *et al.*, 2018).

2.2.3 Agentes contagiosos

Os agentes causadores de mastite são classificados de acordo com sua origem e modo de infecção. Os que possuem caráter contagioso são patógenos adaptados a glândula mamária, permanecendo na pele e no canal do teto por longos períodos e de maneira oportunista causam a doença nos animais. De modo geral a mastite causada por esse grupo de agentes é subclínica, pois estes patógenos não estimulam a resposta imune (Caliman; Gasparotto; Ribeiro, 2023; Santos; Fonseca, 2019). Um animal contaminado sem apresentar sinais clínicos pode transmitir a doença para animais saudáveis através da contaminação de teteiras, mãos dos ordenhadores e toalhas de uso múltiplo, sendo essas as formas de transmissão da doença (Caliman; Gasparotto; Ribeiro, 2023; Santos; Fonseca, 2019).

2.2.3.1 *Staphylococcus aureus*

É uma bactéria Gram-positiva, catalase e coagulase positiva formadora de aglomerados de cocos, sendo um dos principais agentes causadores de mastite contagiosa. É capaz de colonizar o canal do teto, a pele da glândula mamária, extremidade e principalmente lesões nos tetos. Em um mesmo rebanho pode ser isolado diferentes cepas de *S. aureus*, indicando que nem toda infecção é promovida pela mesma cepa bacteriana e que podem haver outras origens além do úbere como potenciais fontes de infecção (Santos; Fonseca, 2019).

O úbere de vacas em lactação é o principal reservatório de infecções intramamárias (IIM) por *S. aureus*. No entanto novilhas também podem ser fontes de infecções e notou-se uma prevalência de até 37% de infecções promovidas por esse agente no período pré-parto de vacas primíparas. Acredita-se que a infecção da glândula mamária ocorra durante o crescimento do animal e que permaneça latente até a primeira lactação (Santos; Fonseca, 2019).

O controle e erradicação do agente é complexo visto que ocorre dificuldade na identificação de animais infectados. Os resultados falsos negativos são comuns em virtude da reduzida sensibilidade do agente em culturas microbiológicas (75%) sendo necessário amostras seriadas para um diagnóstico mais preciso, o que propicia animais portadores dentro do rebanho. A antibioticoterapia não é efetiva, sendo

possível observar infecções de longa duração e potencial de cronicidade (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.3.2 *Streptococcus agalactiae*

É uma bactéria Gram-positiva, catalase negativa e formadora de aglomerados de cocos. É um agente obrigatório do úbere sendo observado no geral apenas uma cepa bacteriana causando a infecção no rebanho. Semelhante aos demais agentes de caráter contagioso o *Strep. agalactiae* promove uma elevada contagem de células somáticas com valores médios de 800.000 cels/ml, e resulta em mastites subclínicas. Outro indício da infecção é a redução acentuada da produção de leite. No Brasil apresenta uma elevada prevalência nos rebanhos, a qual pode atingir 70% dos animais, e com isso causar significativos impactos na qualidade do leite que além da elevada CCS pode apresentar valores de CBT de até 100 milhões de bactérias/ml (Santos; Fonseca, 2019).

A transmissão ocorre principalmente devido a deficiência de higiene do equipamento de ordenha e materiais de uso múltiplo como toalhas. O controle e erradicação no rebanho podem ser feitos através da identificação do agente em cultura microbiológica, a qual apresenta uma ótima sensibilidade (95%). É importante ressaltar as medidas de higiene a fim de reduzir o risco de infecção. O tratamento com antibióticos traz efeitos satisfatórios, com uma taxa de cura em torno de 90-95% o que promove uma rápida redução do número de animais infectados (Coser; Lopes; Da Costa, 2012; Santos; Fonseca, 2019).

2.2.3.3 *Mycoplasma* spp.

Espécie de bactéria Gram-negativa com crescimento sob baixíssimas concentrações de oxigênio. As principais espécies causadoras de mastite são *M. bovis*, *M. californicum* e *M. bovingenitalum*. São extremamente contagiosos e a transmissão ocorre por aerossóis, pelas mãos do ordenhador e conjunto de ordenha. A principal entrada do agente na propriedade ocorre devido a compra de animais infectados. Esses permanecem eliminando o agente por toda a vida produtiva, visto

que estes patógenos são resistentes ao tratamento com antibióticos (Santos; Fonseca, 2019).

O diagnóstico e identificação de animais infectados é trabalhoso por conta da necessidade de técnicas de diagnósticos específicos para isolamento microbiológico. O crescimento de *Mycoplasma* spp. ocorre apenas em meios de cultura específicos, sendo relatado crescimento diferente em meios de cultura distintos, com taxa de crescimento de 92% para o meio Chalquest e 66% em meio Hayflick. Outro ponto importante é a realização de teste moleculares como a PCR para fins diagnósticos. No entanto o isolamento bacteriano nem sempre é correlacionado positivamente com a PCR. A dificuldade da coleta, armazenamento e logística podem influenciar no resultado observado em testes moleculares positivos e crescimento microbiológico negativo em virtude de que o processo de congelamento das amostras, muitas vezes necessário para ser realizado o transporte até o laboratório, influencia na carga microbiana da amostra o que reflete em uma baixa taxa de crescimento durante o cultivo (Salina *et al.*, 2020; Santos; Fonseca, 2019).

Antes mesmo do aparecimento dos sintomas, já ocorre a eliminação do agente e um dos primeiros sinais é a redução abrupta da produção de leite, seguida ou não por alterações no leite e quartos mamários. Vacas infectadas devem ser ordenhadas separadas do restante do rebanho e recomenda-se realizar o descarte destes animais (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.3.4 *Corynebacterium bovis*

É uma bactéria bacilo Gram-positiva, tendo como principal local de colonização o canal do teto. É muito contagioso e na maior parte das vezes provoca quadros de mastite subclínica. É um patógeno secundário, diferente dos agentes citados anteriormente. O *C. bovis* tem baixa patogenicidade e promove moderada alteração na CCS e na produção de leite (Santos; Fonseca, 2019).

A alta prevalência de *C. bovis* na propriedade é indicativo que o protocolo de higiene não vem sendo adotado de maneira correta, visto que o agente coloniza o canal do teto e que medidas de desinfecção pós ordenha são efetivas no controle. Por se tratar de um agente de baixa patogenicidade o tratamento durante a lactação não é preconizado, sendo indicado uma intensificação nas medidas de higiene e

posteriormente ao fim da lactação um protocolo de secagem com terapia de vaca seca (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.4 Agentes ambientais

Os agentes causadores de mastites ambientais são encontrados no ambiente ao qual os animais estão expostos, sendo que os principais reservatórios são as fezes, urina, cama e matéria orgânica que os animais entram em contato. A erradicação é extremamente difícil, visto que os diferentes tipos de agentes estão disseminados em todos os locais. A conservação do ambiente limpo e seco, juntamente com uma boa capacidade imunológica dos animais vem sendo empregado na prevenção e controle desse tipo de mastite (Caliman; Gasparotto; Ribeiro, 2023; Santos; Fonseca, 2019). Infecções intramamárias causadas por agentes ambientais têm apresentações clínicas graves hiperaguda e agudas, promovem a diminuição abrupta de produção de leite e pode levar o animal a óbito. Os principais grupos de microrganismos são os coliformes e os estreptococos ambientais (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.4.1 *Escherichia coli*

Pertencente ao grupo dos coliformes é uma bactéria Gram-negativa em formato de bacilos e oportunista. Quadros de mastite por *E. coli* costumam ter sinais clínicos leves e de curta duração, mas uma pequena parte dos casos 5-10% pode apresentar sinais graves e até mesmo o óbito do animal. A gravidade do quadro está associada a cepa bacteriana e ao estado do animal (Santos; Fonseca, 2019).

Durante a infecção as cepas mais adaptadas conseguem se multiplicar rapidamente na glândula mamária o que resulta em uma alta liberação de Lipopolissacarídeo (LPS) que atua como toxina e vai mediar a resposta imune, de forma que ocorram os principais sinais sistêmicos como febre, depressão, taquicardia e hiporexia. A liberação de LPS na glândula mamária vai fazer com que ocorra uma migração de grande quantidade de neutrófilos o que vai promover sinais de inflamação no local como dor, endurecimento, edema e alterações no leite que pode ficar com aspecto aquoso. Quanto mais rápida e maior a liberação de LPS, maior a gravidade do quadro e intensidade dos sintomas (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.4.2 *Klebsiellas* spp.

É uma bactéria Gram-negativa, em formato de bacilo do grupo dos coliformes. As duas espécies mais comuns são *K. pneumoniae* e *K. oxytoca* que são encontradas no ambiente principalmente na cama e no solo, sendo que camas compostas a base de madeira como serragem e maravalha são fontes de *Klebsiella* spp. (Santos; Fonseca, 2019)..

As infecções intramamárias por *Klebsiella* spp. apresentam sinais clínicos de maior gravidade, menor resposta a terapia com antibióticos, uma redução mais acentuada da produção de leite e risco de bacteremia maior do que as observadas em casos de *E. coli* (Santos; Fonseca, 2019). Para ambos os agentes, como medidas de controle, é sugerido a adoção de ações que busquem a redução da contaminação dos tetos, como boas condições de higiene na cama e no processo de ordenha e medidas que proporcione aos animais uma otimização da resposta imune (nutrição adequada, imunização e bem-estar) (Coser; Lopes; Da Costa, 2012; Santos; Fonseca, 2019).

2.2.4.3 *Serratia* spp.

São bactérias Gram-negativas em formato de bastonete, pertencentes ao grupo dos coliformes. Algumas espécies deste gênero podem causar mastite, como *S. marcescens*, *S. rubidea* e *S. liquefaciens*, sendo que *S. marcescens* é a mais comum. No geral apresentam uma pequena prevalência em relação aos demais agentes causadores de mastite nos rebanhos 9-12%. O ambiente é fonte de infecção, no entanto o agente pode ser disseminado entre vacas através de equipamentos de ordenha contaminados. A identificação de animais infectados e adoção de medidas de controle são indispensáveis visto que cepas causando quadros de mastite em diversos animais demonstram o caráter contagioso (Milanov *et al.*, 2012).

As infecções por *Serratia* spp. ocorrem em diferentes estágios da vida produtiva dos animais, podendo ocorrer também no período seco, sendo que no período pós-parto as infecções intramamárias têm maior ocorrência. De modo geral as mastites são subclínicas leves e na maioria das vezes os casos clínicos não são acompanhados de sinais sistêmicos, sendo observado apenas alterações no leite como alteração na coloração, presença de grumos, redução da produção e elevação

da CCS. As infecções intramamárias causadas por *S. marcescens* podem apresentar caráter crônico e proliferação de tecido fibroso na glândula mamária (Milanov *et al.*, 2012).

S. marcescens demonstra sensibilidade *in vitro* a uma gama de antibióticos como gentamicina, cloranfenicol, cefalosporina, ciprofloxacina e resistência a penicilina, ampicilina, tetraciclina entre outros. Porém o tratamento da mastite não é satisfatório, sendo então recomendado a prevenção através de medidas de higiene e desinfecção, buscando uma redução da pressão de infecção (Milanov *et al.*, 2012).

2.2.4.4 *Streptococcus uberis*

É uma bactéria em formato de coco, Gram-positiva, oportunista e seu isolamento nos rebanhos vem aumentando nos últimos anos. A principal forma de infecção é do ambiente para o animal, porém por causar infecções persistentes algumas cepas vêm adquirindo capacidade de transmissão entre animais. Pode ser encontrado nas fezes, solo, trato urogenital, tonsilas, pele do animal e na matéria orgânica da cama. Acredita-se que a eliminação do agente nas fezes tem importância na manutenção do agente no rebanho (Ferreira; Ribeiro, 2022; Santos; Fonseca, 2019).

As diferentes cepas de *S. uberis* tem capacidade de promover mastites subclínicas ou clínicas, o que vai diferenciar é o grau de adaptação da cepa ao hospedeiro. Cepas mais adaptadas vão causar mastite subclínicas e possivelmente crônicas, isso em decorrência da aderência e internalização do microrganismo a células epiteliais da glândula mamária. Já as cepas não adaptadas irão desencadear uma intensa resposta imune da vaca causando os sinais clínicos. Há prevalência de novas infecções no período seco, seja logo após a secagem ou no periparto. Já durante a lactação o maior risco de infecção ocorre até os 75 dias de lactação (Ferreira; Ribeiro, 2022; Santos; Fonseca, 2019).

A elevada contagem bacteriana total é indicativa de infecção intramamária da qual pode se suspeitar de *S. uberis* e a identificação de vacas positivas no rebanho pode ser realizada através da confecção de culturas microbiológicas em animais com elevada CCS. Apesar deste agente apresentar fatores de virulência que incluem cápsula de ácido hialurônico (resistência a fagocitose) proteína SUAM (fuga do

sistema imune) dentre outros, ele apresenta sensibilidade a Beta-lactâmicos, Cloranfenicol e Lincomicina os quais, auxiliam no tratamento (Ferreira; Ribeiro, 2022).

2.2.4.5 *Streptococcus dysgalactiae*

Bactéria Gram-positiva, cocos, organizados em cadeia e pertence ao grupo dos estreptococos ambientais. Porém apresenta potencial contagioso, visto que, algumas cepas são predominantes em vários animais do mesmo rebanho, demonstrando assim o potencial de transmissão entre vacas. Geralmente ocasiona quadros de mastite clínicas agudas e graves. Contudo pode ser observada mastite subclínica com elevação da CCS que pode perdurar por toda lactação (Santos; Fonseca, 2019; Ulsenheimer *et al.*, 2020).

Semelhante aos demais agentes ambientais as fontes de infecção são: fezes, solo, cama e matéria orgânica. A disseminação da infecção ocorre principalmente no período seco. O *S. dysgalactiae* é associado a lesões na extremidade dos tetos. Para tratamento de casos clínicos recomenda-se o uso antibioticoterapia, visto que moléculas como Ciprofloxacina, Cefalotina e Enrofloxacina corriqueiramente usadas nas propriedades leiteiras apresentam eficácia perante esse patógeno. Como medidas de prevenção é preconizado uma boa higiene, boa desinfecção dos tetos, equipamentos de ordenhas regulados que reduzam o risco de lesões e utilização de protocolos de secagem com uso de selante intramamário (Santos; Fonseca, 2019; Ulsenheimer *et al.*, 2020).

2.2.4.6 *Streptococcus canis*

É isolado com frequência em cães e gatos e esporadicamente é causa de mastite bovina. As fontes de infecção podem ser cães, gatos e animais silvestres como ratos, raposas e coelhos. Casos de mastite por *S. canis* já foram identificadas em Israel, Alemanha, Estados Unidos e Brasil. Promove mastite subclínica com elevação acentuada da CCS. A prevenção e controle é através da redução de fontes de infecção, seja os animais ou pelo ambiente, através de condições de higiene e desinfecção adequadas (Santos *et al.*, 2018).

2.2.4.7 *Enterococcus* spp.

O gênero enterococcus abriga 22 espécies, as quais possuem capacidade de adaptação e desenvolvimento em diversos locais. São encontrados no solo, plantas, alimentos, animais e insetos. São agentes comensais e oportunistas e por estarem difundidos no ambiente, são capazes de colonizar a glândula mamária das vacas, e causar mastite subclínica. Dentre os agentes destaca-se o *E. faecalis* que pode ser encontrado nas tonsilas, intestino, pele e nas fezes. A espécie *Enterococcus gallinarum* foi isolada em quadros de mastite em bubalinos. Enterococos são bactérias isoladas em casos de mastites leves e agudas. Esses patógenos apresentam característica de resistência a antimicrobianos mais elevada em relação aos agentes do gênero *Streptococcus* (Rodrigues, 2019).

2.2.4.8 *Lactococcus* spp.

São patógenos oportunistas sendo isolados em humanos e animais, as espécies *L. garvieae*, *L. lactis sub sp. lactis* e *L. raffinolactis*, foram isoladas em amostras de leite de vacas com CCS alta, sendo que *L. garvieae*, *L. lactis* são as espécies descritas como causadoras de quadros de mastite. De modo geral as bactérias deste gênero se comportam semelhante ao *Streptococcus uberis*. Da mesma forma que o *S. uberis* é um agente ambiental e as medidas de controle e prevenção vão estar relacionadas a higiene do ambiente e lotação animal, a fim de evitar acúmulo de matéria orgânica (Rodrigues, 2019).

2.2.5 Outros microrganismos causadores de mastite

2.2.5.1 *Estafilococos não-aureus (ENA)*

São bactérias Gram-positivas formadoras de aglomerados de cocos, catalase positiva e coagulase negativa. A coagulase é um teste que diferencia espécies do gênero *Staphylococcus* sendo que o *S. aureus* é positivo e os ENA negativos. São patógenos oportunistas e secundários, de maneira que possuem baixa capacidade de redução na produção e alteração da composição do leite. No entanto, vacas que

enfrentam quadros subclínicos de mastite por ENA apresentam CCS 8 vezes maior no quarto afetado em relação aos quartos sadios, o que faz com que ocorra aumento da CCS do tanque e com isso, o produtor seja prejudicado em programas de bonificação da qualidade do leite (Santos; Fonseca, 2019).

O grupo do ENA compreende diversas espécies sendo que, o representante de maior prevalência encontrado em 75% dos isolamentos é o *S. chromogenes*. As demais espécies de importância são classificadas em relação a forma de transmissão sendo: associados a vaca o *S. chromogenes* e o *S. epidermitis*; oportunistas o *S. haemolyticus* e o *S. simulans*; ambientais o *S. equorum* e o *S. xylosum*. De modo geral as mãos dos ordenadores e a pele dos tetos são as principais fontes de infecção (Santos; Fonseca, 2019).

Infecções intramamárias causadas por ENA apresentam uma ótima taxa de cura espontânea e o tratamento com antimicrobianos é efetivo em até 90% dos casos. Como prevenção recomenda-se boa higiene e redução da umidade da cama na maternidade visto que as taxas de infecções no período pré-parto são elevadas com uma gradual redução durante a lactação (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.5.2 *Nocardia* spp.

São bactérias Gram-positivas em formato de bacilos, tendo como principal representante causador de mastite a *N. asteroides*. As fontes de infecção são a água, solo e pele do úbere, tendo como forma de transmissão cânulas para tratamento intramamário de uso múltiplo. O agente também pode ser transferido do ambiente para a vaca e entre vacas durante a ordenha (Santos; Fonseca, 2019).

Nocardia spp. promove mastites subclínica e clínicas, sendo que no quarto afetado pode ocorrer a formação de nódulos e áreas de fibrose. Pode ter secreção purulenta e dependendo do grau, pode ocasionar o surgimento de fistulas por onde essa secreção será drenada. Um dos sinais observados em vacas infectadas é a febre alta e o tratamento com antimicrobiano não é efetivo, sendo aconselhado a secagem do quarto mamário afetado e o descarte do animal de modo a eliminar a fonte de infecção do rebanho (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.5.3 *Pseudomonas* spp.

Os bebedouros são importantes fontes de infecção já que as *Pseudomonas* spp. são encontradas na água. Porém a transmissão ocorre também através do uso de aplicadores de desinfetante contaminados, frascos de antibióticos multidoses e cama visto que este agente se encontra difundido no ambiente. São bactérias Gram-negativas oportunistas e a infecção ocorre através do contato direto dos tetos com locais contaminados. A mastite é geralmente crônica e não responde ao tratamento, sendo aconselhado a secagem permanente do quarto afetado e o descarte do animal (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.5.4 *Prototheca* spp.

São microalgas unicelulares, oportunistas e capazes de desenvolver quadros de mastite subclínica e clínicas. As principais espécies são *P. zopfi*, *P. wickerhamii* e *P. blaschkeae*. A mastite causada por *Prototheca* spp. geralmente tem caráter crônico e sem sinais sistêmicos, redução abrupta da produção de leite e aumento acentuado da CCS. A maioria das espécies apresentam sensibilidade a antimicrobianos e antifúngicos. Porém o tratamento dos casos clínicos não é aconselhado, devido aos custos e a baixa chance de cura, visto que, o tratamento apenas reduz temporariamente os sinais clínicos mas não promove a eliminação do agente (Santos; Fonseca, 2019).

Em rebanhos com histórico de infecção por *Prototheca* spp. deve ser implementado estratégias de segregação de animais infectados em razão de que a transmissão pode ocorrer entre vacas durante a ordenha. Uma vez infectada a vaca se torna fonte permanente de infecção, seja para animais sadios ou causando a contaminação do ambiente (Santos; Fonseca, 2019).

Para controle e prevenção de mastites causadas por *Prototheca* spp. deve ser adotado as mesmas medidas realizadas para agentes ambientais de modo a reduzir a carga microbiológica no ambiente e promover uma boa desinfecção dos tetos pré e pós-ordenha, evitar que as vacas deitem logo após a ordenha, restringir o acesso dos animais a locais com acúmulo de água e matéria orgânica e por fim, se possível, realizar o descarte de vacas infectadas (Santos; Fonseca, 2019).

2.2.5.5 *Leveduras*

Tem como principais fontes o solo e matéria orgânica em decomposição. São fungos unicelulares e esporadicamente causam quadros de mastite oportunista. Na forma clínica pode apresentar edema no quarto mamário afetado, com redução da produção de leite e este pode conter grumos. O tratamento com antimicrobianos não é satisfatório e deste modo é fundamental a prevenção através de medidas de higiene e boa desinfecção dos tetos (Santos; Fonseca, 2019).

2.3 DIAGNÓSTICO DE MASTITE

O diagnóstico precoce de casos de mastite é capaz de auxiliar na redução de perdas, sejam econômicas ou de saúde dos animais. Pensando nas apresentações da mastite, a forma subclínica tem o diagnóstico um pouco mais complexo visto que, para sua detecção são necessários exames complementares e análises da composição do leite. Por outro lado, os casos de mastites clínicas são percebidos com alguns protocolos e manejos que podem ser implementados na rotina da fazenda. O teste da caneca do fundo preto permite identificar alterações macroscópicas no leite e a partir daí dar seguimento as investigações da presença de mastite clínica (Da Fonseca, 2021).

2.3.1 **California mastitis test (CMT)**

Quadros de mastite subclínicas nem sempre são percebidos pelo ordenhador, em virtude da maioria dos casos não apresentarem sinais visíveis e apenas alterações na composição do leite. De modo a auxiliar na identificação desses animais, algumas avaliações podem ser realizadas. O California mastitis test (CMT) é um dos principais testes aplicados na rotina da fazenda para triagem de casos de mastites subclínicas, o qual usa como base a contagem de células somáticas e o escore de viscosidade que é estabelecido a partir da formação de gel. Esse gel é formado pela reação do DNA das células somáticas com o reagente presente no detergente que é adicionado a amostra de leite. O grau de viscosidade da reação é correlacionado com a quantidade de células somáticas presentes na amostra (Da Fonseca, 2021).

2.3.2 Wisconsin Mastitis Test (WMT)

O Wisconsin Mastitis Test (WMT) é uma forma aprimorada do CMT, visto que no CMT há uma subjetividade em relação ao número e a contagem de células somáticas, por ser realizado de modo visual. Já no WMT é avaliado também a viscosidade da amostra após a reação, porém essa avaliação é realizada em tubo graduado e a adição dos componentes para o teste é realizada em proporções equivalentes (Da Fonseca, 2021).

2.3.3 Contagem de células somáticas (CCS)

Um dos principais medidores de mastite subclínica no rebanho é a contagem de células somáticas, que pode ser avaliada individual ou a contagem de células do tanque. Esse teste usa o princípio da contagem de células somáticas, as quais são compostas de células de descamação, epiteliais e leucócitos, que em condições normais estão presentes na corrente sanguínea, e com isso a presença elevada desse tipo celular no leite é indicativo de infecção intramamária (Da Fonseca, 2021).

2.3.4 Teste de fundo preto

Casos de mastite clínica na maioria das vezes são identificadas na linha de ordenha na realização do teste de fundo preto, onde a ocorrência de grumos, ou até sangue no leite é indicativo de infecção intramamária. O teste deve ser realizado nos 4 quartos mamários e a partir dele efetua-se outros exames complementares como a confecção de placa para cultura microbiológica a fim de esclarecer qual agente está envolvido no quadro de mastite (Da Fonseca, 2021).

2.3.5 Cultura microbiológica

A cultura microbiológica, dentre os testes já citados, é o que apresenta maior relevância, visto que através dele ocorre a identificação do patógeno envolvido na infecção e com isso um melhor direcionamento para estabelecer medidas de controle e tratamento dos casos de mastites do rebanho. Além de que a realização de culturas microbiológicas auxilia no diagnóstico de mastite clínicas e subclínicas de modo a

conhecer o estado microbiológico, agentes e nível de infecção do rebanho (Brito, 2009; Da Fonseca, 2021).

2.3.5.1 *Cultura microbiológica na fazenda*

A cultura microbiológica na fazenda vem sendo adotada para o auxílio no diagnóstico de mastite clínica, de forma simplificada e rápida promove a identificação do patógeno envolvido na infecção. Com a instalação de um pequeno laboratório e a utilização de meios de cultura pré-fabricados é possível realizar a confecção da placa e identificação do agente em curto período 18-24h, possibilitando uma rápida resposta e estabelecimento do tratamento (Brito, 2009).

A utilização de meios de cultura cromogênicos permite uma identificação presuntiva do microrganismo presente na amostra. Os meios de cultura cromogênicos possuem em sua formulação substratos que após sofrerem clivagem por ação de enzimas bacterianas ou fúngicas por exemplo, exibem diferentes cores. A partir destes meios são produzidas as placas que serão utilizadas nas culturas microbiológicas na fazenda, em vista que após o crescimento bacteriano a leitura desta placa pode ser realizada por funcionários capacitados da fazenda (Brito, 2009; Renylab, 2020).

O meio de cultura Smartcolor¹ é um dos mais utilizados atualmente nas propriedades leiteiras, no qual é empregue em uma placa de Petri com três seções de crescimento. Em cada etapa é utilizado meio de cultura seletivo para crescimento de grupos de microrganismos. Com o crescimento positivo, o agente isolado será observado em colônias das seguintes cores: azul escuro *Streptococcus uberis* e *Enterococcus spp.*; azul turquesa *Streptococcus agalactiae* e *dysgalactiae*; rosa *Staphylococcus aureus*; vermelha *E. coli*; azul metálica *Klebsiella*, *Enterobacter spp.* e *Serratia spp.*; creme e translúcida *Pseudomonas spp.*; branca e pequena *Cândida spp.* e *Prototheca spp.*, entre outras. É importante salientar que os microrganismos devem crescer na seção com o meio designado para seu crescimento e caso ocorra crescimento em outra seção é considerado contaminado (Brito, 2009; OnFarm, 2024; Santos; Fonseca, 2019).

As placas são divididas em lado A e B, assim possibilitando a análise de duas amostras em uma única placa. A realização do estriamento para inoculação da placa

¹OnFarm - Rumina

deve ser realizada respeitando os limites dessa divisão, evitando assim a união das duas culturas (OnFarm, 2024).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados relatórios de placas de culturas microbiológicas confeccionadas para isolamento de patógenos, com base em amostras obtidas de animais da raça Holstein Frísia que se encontravam entre a 1^a e a 7^a lactação, com média geral de 4 lactações. Todos os animais eram acomodados em sistema de confinamento *Compost barn*, e as amostras coletadas de indivíduos que apresentavam sintomatologia de mastite clínica na leitaria da Granjas 4 Irmãos no decorrer de 4 anos e 9 meses.

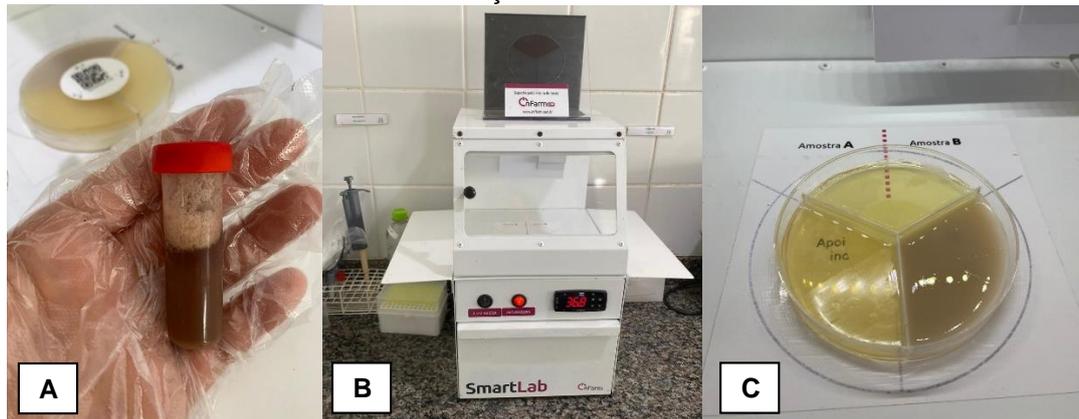
As culturas microbiológicas foram realizadas através da confecção de placas com meio cromogênico, a partir de amostras de leite de animais que apresentaram quadros clínicos de mastite, os quais eram classificados conforme a gravidade do quadro em leve, moderado e grave. Nos quadros leves eram observados apenas alterações no leite, através do teste de fundo preto. Já nos quadros moderados era possível observar alterações também em quartos mamários e úbere e nos casos graves os animais apresentam acometimento sistêmico.

As amostras de leite eram coletadas após a antisepsia do teto com lenço embebido em álcool isopropílico 70% em um frasco plástico estéril. A inoculação da amostra de leite era realizada em placa com meio cromogênico, utilizando Swab estéril. Primeiramente era realizada a homogeneização da amostra invertendo o frasco várias vezes. Após um Swab era mergulhado dez vezes na amostra em movimentos de cruz e então retirado o excesso de leite na borda do frasco e realizado o esgotamento por estriamento simples no meio.

As placas OnFarm possuem lado A e B possibilitando a inoculação de duas amostras distintas em uma única placa de Petri, respeitando um limite durante a inoculação entre as amostras. A placa é tripartida em 3 etapas, sendo que na etapa número 1 o meio possui uma coloração leitosa para se distinguir das demais etapas e auxiliar na realização do plaqueamento. Dessa forma, a inoculação iniciava-se pela etapa 1 (leitosa), seguida pela 2 e 3. Todo esse processo era realizado na área de inoculação do minilaboratório SmartLab², o qual pode ser observado na figura 2, que possuía também uma estufa para incubação, nesta as placas permaneciam por 24h a uma temperatura de 36-37°C.

² OnFarm - Rumina

Figura 2 – A- Amostra coletada de animal com mastite clínica. B- Minilaboratório SmartLab. C- Placa durante inoculação de amostra.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Decorrido o tempo de incubação era realizada a leitura da placa utilizando aplicativo o OnFarm, no qual era tirado uma foto da placa e o aplicativo avaliava a presença e coloração das colônias e de modo sugestivo, indicava qual era o agente microbiológico presente, resultado de leitura exemplificado na figura 3.

Figura 3 – Resultado de leitura de cultura microbiológica na fazenda em aplicativo OnFram.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Em cada uma das três etapas poderia ocorrer o crescimento de determinados agentes microbiológicos onde a diferenciação ocorria através da forma e coloração das colônias. Na etapa número 1, *Streptococcus agalactiae*, *dysgalactiae* e *uberis*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e Outros Gram negativos. Na etapa 2 *Klebsiella* spp., *E. Coli*, *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., Outros Gram positivos, *Prototheca* e

Leveduras e na etapa 3 *Staphylococcus não aureus* e *Staphylococcus aureus*. O crescimento de mais de 3 patógenos em uma amostra era classificado como contaminado.

Os dados com os agentes isolados foram obtidos através de relatório produzido pelo aplicativo, sendo resultados de isolamentos de 04/07/2019 a 05/04/2024. Os dados foram organizados em planilha do Excel em relação ao percentual e número de casos positivos, negativos em razão da totalidade de amostras cultivadas, gravidade do quadro de mastite dentro dos resultados positivos e patógenos prevalentes nos diferentes graus.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 1582 amostras. Destas 965 (61%) apresentaram crescimento microbiológico e 617 (39%) tiveram resultado negativo. Das 965 amostras com crescimento positivo, 132 (8,3%) delas foram classificadas como contaminadas, resultado do crescimento de mais de três agentes na mesma amostra. A gravidade dos quadros clínicos pode ser observada na tabela 1, na qual nota-se uma predominância de quadros leves verificado em 79,7% dos casos com crescimento microbiológico positivo.

Tabela 1 - Gravidade de casos de mastite

Gravidade de casos de mastite	N.º	%
Leve	769	79,7%
Moderado	181	18,8%
Grave	15	1,6%
Total	965	100%

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Em relação aos agentes etiológicos envolvidos nas IIM, em grande parte delas notou-se coparticipação de agentes podendo ser em decorrência da existência de mastites subclínicas no rebanho, os agentes identificados neste estudo podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2- Microrganismos isolados em casos de mastite clínica na leitaria da Granjas 4 Irmãos no período de 2019-2024.

Agentes infecção 2019-2024	N.º	%
Estafilococos não-aureus (ENA)	327	33,9%
Outros Gram -	273	28,3%
<i>Strep. Agalactiae e Dysgalactiae</i>	231	23,9%
Outros Gram +	159	16,5%
<i>E. coli</i>	145	15,0%
<i>Klebsiella e Enterobacter</i>	119	12,3%
<i>Strep. Uberis</i>	100	10,4%
<i>Prothoteca e Leveduras</i>	66	6,8%
<i>Pseudomonas spp.</i>	46	4,8%
<i>Serratia spp.</i>	44	4,6%
<i>Lactococcus</i>	40	4,1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	1,9%
<i>Enterococcus spp.</i>	15	1,6%

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Dentre os microrganismos isolados destaca-se a prevalência de *Estafilococos* não-aureus (coagulase negativa), o qual representou 33,9% do total de casos positivos. O mesmo foi observado em estudo realizado por Oliveira *et al.* (2011) onde se observou o agente em 25% dos casos de mastite clínica e 32,3% dos casos subclínicos. O autor ainda cita que *Staphylococcus* spp. coagulase negativo regularmente são isolados em IIM clínica de caráter leve, uma vez que são agentes secundários, reiterando o que foi observado na tabela 1, onde a gravidade dos quadros era predominantemente leve.

A prevalência de caso de mastites por ENA ocorre desde o período seco e com decréscimo durante a lactação, nesse sentido é importante salientar a adoção de manejos de higiene nas instalações do pré-parto e maternidade, para redução da carga microbiológica, de modo a diminuir as infecções no período seco e assim reduzir os casos de mastite durante a lactação. Outra medida a ser reforçada é a desinfecção adequada dos tetos visto que o agente habita o canal do teto e é oportunista (Santos; Fonseca, 2019).

Microrganismos Gram-negativos e Gram-positivo foram isolados em 28,3% e 16,5% das amostras respectivamente. Esses agentes não são identificados de maneira específica a nível de espécie ou gênero pela amplitude de representantes e pela sensibilidade reduzida do meio de cultura.

O gênero *Streptococcus* representados pelas espécies *S. agalactiae* e *S. dysgalactiae* foram identificados em 23,9% dos casos clínicos, de modo que o isolamento destes agentes é considerado positivo, porém não se tem sensibilidade a nível de qual espécie está presente na infecção. Em estudos do perfil de patógenos envolvidos em mastite na Etiópia Tora; Bekele; Suresh (2022) tiveram resultados semelhantes sendo que o gênero estreptococos apresentou uma prevalência de 10,6% do casos, do qual *S. agalactiae* esteve presente em 5,7% e *S. dysgalactiae* 3,1%.

Importante salientar o potencial contagioso de ambos os agentes, no entanto *S. agalactiae* é patógeno obrigatório do úbere e possuem caráter extremamente contagioso, de modo que medidas de prevenção e controle devem ser adotadas em animais positivos para evitar a disseminação do agente para animais saudáveis, essa transmissão ocorre no uso de materiais de uso múltiplo, ordenha de animais sadio após animais contaminados, desse modo é importante conhecer os animais positivos

e segrega-los. Já o *S. dysgalactiae* não é tão contagioso, porém é um agente ambiental e os animais podem se contaminar de ambas as formas e em diferentes locais da propriedade, visto a gama de locais onde o agente pode ser encontrado. A busca pela erradicação dos agentes deve ser feita através de programas de higiene e desinfecção rigorosos, identificação, segregação e tratamento dos animais positivos (Santos; Fonseca, 2019).

S. uberis esteve presente em 2,7% das IIM no estudo de Tora; Bekele; Suresh (2022), o que também pode ser observado neste estudo, onde esse mesmo patógeno foi identificado em 10,4% dos casos. Vem sendo observado um crescente aumento nos isolamentos desse agente nos últimos anos. Por ser um agente ambiental os animais podem se infectar em diversos locais dificultando assim a prevenção, no entanto se observou uma prevalência de infecções logo após a secagem e duas semanas anteriores o parto, dessa forma se vê a importância de um protocolo de secagem com antibióticos de longa duração e selante, assim reduzindo a possibilidade de novas infecções nesses períodos (Santos; Fonseca, 2019).

Dentro do grupo dos coliformes os agentes isolados foram *E. coli* com 15% do casos e *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. 12,3%, a mesma relação decrescente foi observado no estudo de Tora; Bekele; Suresh, (2022) onde *E. coli* esteve presente em 3,1%, *Klebsiella* spp. 2,3% e *Enterobacter* spp. 0,7%. Hoque *et al.* (2020) observou a mesma relação destes agentes em quadros de mastite clínica no qual *E. coli* teve a maior prevalência com 8,62% seguida de *Klebsiella* spp. 0,66% e *Enterobacter* spp. 0,50%. Os coliformes são agentes ambientais e de forma a prevenir quadros de mastites causadas por eles é importante reforçar as medidas de higiene, bem como um bom manejo de ordenha. Uma particularidade que a *Klebsiella* tem uma capacidade de multiplicação em derivados de madeiras como serragem e maravalha, materiais utilizados nas camas do *Compost barn* por isso um bom manejo das camas é imprescindível. Os demais agentes isolados neste estudo tiveram contribuições inferiores a 10% nos casos de mastite..

Segundo Brito (2009) isolamentos microbiológicos negativos podem ser observados em 15-40% de amostras de casos de mastite clínicas, o que também foi evidenciado neste estudo, no qual 39% (617) das amostras não obtiveram crescimento após período de incubação indicado (18-24 horas). Podendo ser em razão da eliminação espontânea do agente, localização do patógeno que pode ser intracelular, baixa concentração do microrganismo no leite, tempo de incubação, a

exemplo o *Corynebacterium bovis* que apresenta crescimento bacterianos após 40-48 horas de incubação ou agentes que demandam de meios de culturas e condições especiais como o *Mycoplasma* (Brito, 2009; Santos; Fonseca, 2019).

A gravidade do quadro tem influência do estado do animal e do ou dos agentes envolvidos na infecção. Mastites causadas por agentes ambientais podem ter apresentações clínicas graves hiperagudas e agudas, que causam no animal sinais inflamatórios intensos que podem levar a decúbito e até o óbito rapidamente. Por outro lado, mastites com envolvimento de agentes contagiosos tem presença de sinais de inflamação, mas com menor gravidade. Na tabela 3 pode ser observado o grau de acometimento dos animais com sintomatologia de mastite clínica, bem como a participação dos agentes em cada grau.

Tabela 3 - Agentes envolvidos e grau de acometimento em casos de mastite clínica na leitaria da Granjas 4 Irmãos.

	Leve	Moderado	Grave
Estafilococos não-aureus (ENA)	269	51	7
Outros Gram -	214	59	0
<i>S. agalactiae</i> e <i>S. dysgalactiae</i>	187	41	3
<i>E. coli</i>	111	28	6
<i>Klebsiellaspp.</i> e <i>Enterobacter spp.</i>	93	25	1
Outros gram +	134	25	0
<i>S. uberis</i>	71	27	2
<i>Prothoteca</i> e Leveduras	53	11	2
<i>Pseudomonas spp.</i>	44	2	0
<i>Serratia spp.</i>	32	10	2
<i>Lactococcuspp.</i>	32	7	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	2	0
<i>Enterococcus spp.</i>	12	2	1

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Como observado, os ENA manifestaram em sua maioria quadros leves de mastite. Isso pode ser em virtude deste grupo de patógenos apresentarem altas taxas de cura espontânea. Seguido dos *S. agalactiae* e *S. dysgalactiae*, ambos também promoveram quadros leves podendo ser em virtude do modo de infecção, um sendo contagioso e outro considerado contagioso e ambiental, assim tendem a se adaptar a glândula e desenvolverem estratégias para que ocorra uma menor resposta imune e conseqüentemente um quadro inflamatório mais brando (Santos; Fonseca, 2019).

Dentro do número total de casos promovidos pelos patógenos com relação a gravidade do quadro, nos casos graves a presença de *E. coli* foi superior aos ENA com 4,13% de casos graves e 2,14%, respectivamente. No geral, quadros de mastites causadas por coliformes, em especial a *E. coli*, apresentam sintomatologia leve. No entanto entre 5-10% dos casos podem possuir sinais graves e até a morte do animal (Santos; Fonseca, 2019).

A maior parte dos agentes encontrados no estudo possuem origem ambiental, demonstrando fragilidades no manejo e na higiene dos ambientes e equipamentos que os animais estavam expostos. O sistema de confinamento aderido na propriedade é do modelo *Compost barn*, no qual os animais ficam dispostos em uma cama de casca de arroz, tendo contato direto dos tetos com a cama e matéria orgânica presente nela. O correto manejo da cama é uma etapa imprescindível para a redução da carga microbiana do ambiente e a necessidade do revolvimento da cama pelo menos 2 vezes durante o dia não era atendida, possibilitando o crescimento de microrganismos patogênicos e predispondo os animais a quadros de mastite. Outro fator que auxilia na manutenção da qualidade da cama é a ventilação do ambiente como uso de ventiladores, que além de promover bem-estar aos animais auxiliam no controle umidade, questões deficientes na propriedade.

Outro ponto é crítico é o equipamento de ordenha, que quando mal regulado pode gerar lesões nos tetos e nessas, ocorre a colonização de agentes patogênicos. Além disso o mau funcionamento dos equipamentos irá desencadear hiperqueratose, congestão e lesões de esfíncter e desse modo, propiciando a entrada de microrganismos no canal do teto. O equipamento de ordenha também era fonte de contaminação, visto que apresentava higienização deficiente e permanecia por tempo prolongado nos animais devido a insuficiência de estímulo realizado pelos ordenhadores durante a rotina de ordenha.

Outro ponto de deficiência de manejo que foi refletido na prevalência dos agentes isolados é a desinfecção dos tetos, antes e após a ordenha, visto que uma correta desinfecção reduz o risco de infecções, revelando que procedimentos básicos não vêm sendo executados de maneira correta.

5 CONCLUSÃO

A mastite é uma enfermidade de grande importância nas propriedades leiteiras. A busca pela redução dos casos se torna imprescindível e para que isso ocorra um conjunto de medidas devem ser adotadas. A identificação dos agentes que promovem infecções no rebanho de modo que quando ocorra quadros infecciosos, seja realizada a correta identificação e tratamento, assim reduzindo os danos à saúde do animal e prejuízos com tratamentos não efetivos e descarte do leite. A higiene e desinfecção dos tetos e instalações é um dos pilares do processo e através daí a carga de microrganismos que o animal está exposto reduzirá significativamente. Outro ponto importante é proporcionar ao sistema imune do animal condições para lutar contra as infecções, com nutrição adequada, imunização, bem-estar entre outros.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, A. H. **Medicina Bovina: Doenças E Criação De Bovinos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2007.

ARAUJO, Guilherme Dias *et al.* Aspectos morfológicos e fisiológicos de glândulas mamárias de fêmeas bovinas – revisão de literatura. **Pubvet**, v. 6, n. 36, 2015. Disponível em: <http://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1916>. Acesso em: 10 maio 2024.

BRITO, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DA MASTITE BOVINA. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, [s. l.], 2009. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/7670>. Acesso em: 7 abr. 2024.

CALIMAN, Mecilene de Freitas; GASPAROTTO, Paulo Henrique Gilio; RIBEIRO, Larissa Freitas. PRINCIPAIS IMPACTOS DA MASTITE BOVINA: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista GeTeC**, v. 12, n. 37, 2023. Disponível em: <https://revistas.fucamp.edu.br/index.php/getec/article/view/2963>. Acesso em: 10 maio 2024.

COSER, Sorhaia Morandi; LOPES, Marcos Aurélio; DA COSTA, Geraldo Márcio. Mastite bovina: controle e prevenção. v. 93, p. 30, 2012.

DA FONSECA, Maria Eduarda. Mastite bovina: Revisão. **Pubvet**, v. 15, n. 02, 2021. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/566>. Acesso em: 10 maio 2024.

FERREIRA, Barbara Helena Alves; RIBEIRO, Laryssa Freitas. Mastites causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* e *Streptococcus uberis* relacionadas ao sistema de produção Compost Barn e o impacto na qualidade do leite. **Revista GeTeC**, v. 11, n. 35, 2022. Disponível em: <https://revistas.fucamp.edu.br/index.php/getec/article/view/2708>. Acesso em: 15 maio 2024.

HOQUE, M. Nazmul *et al.* Microbiome dynamics and genomic determinants of bovine mastitis. **Genomics**, v. 112, n. 6, p. 5188–5203, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0888754320310296>. Acesso em: 20 maio 2024.

LEIRA, Matheus *et al.* Fatores que alteram a produção e a qualidade do leite: Revisão. **Pubvet**, v. 12, n. 05, 2018. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1124>. Acesso em: 7 abr. 2024.

MILANOV, Dubravka *et al.* LESS COMMON AETIOLOGICAL AGENT OF BOVINE MASTITIS: - *Serratia marcescens* –. **Archives of Veterinary Medicine**, v. 5, n. 1, p. 3–17, 2012. Disponível em: <https://niv.ns.ac.rs/e-avm/index.php/e-avm/article/view/157>. Acesso em: 16 maio 2024.

OLIVEIRA, Carlos Magno C. *et al.* Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31,

p. 104–110, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/JT4Y54pzCQNrTDhQvwjV35F/>. Acesso em: 20 maio 2024.

ONFARM. **Guia de Diagnostico OnFarm.pdf**. 2024. Disponível em: https://rumina.com.br/solucoes/wp-content/uploads/2024/04/Guia-de-Diagnostico-Digital_OnFarm.pdf. Acesso em: 19 maio 2024.

RENYLAB. **Meios de Cultura Cromogênicos - % Renylab -**. 2020. Disponível em: <https://www.renylab.ind.br/meios-de-cultura-cromogenicos/>. Acesso em: 19 maio 2024.

RODRIGUES, Dayane de Souza. **Caracterização fenotípica, genotípica e estudo de mecanismos de virulência de Enterococcus spp.** 2019. 69 f. - Universidade do estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://www.bdttd.uerj.br:8443/bitstream/1/17650/2/Disserta%c3%a7%c3%a3o%20-%20Dayane%20de%20Souza%20Rodrigues%20-%202019%20-%20Completa.pdf>. Acesso em: 16 maio 2024.

SALINA, Anelise *et al.* Microbiological and molecular detection of Mycoplasma bovis in milk samples from bovine clinical mastitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 2, p. 82–87, 2020. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2020000200082&tlng=en. Acesso em: 15 maio 2024.

SANTOS, Emilia *et al.* Streptococcus e gêneros relacionados como agentes etiológicos de mastite bovina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 1, p. 17, 2018. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/15805>. Acesso em: 16 maio 2024.

SANTOS, Marcos Veiga Dos; FONSECA, Luís Fernando Laranja Da. **Controle de mastite e qualidade do leite: desafios e soluções**. 1. ed. Pirassununga-SP: Marcos Veiga dos Santos, 2019.

TORA, Ephrem Toma; BEKELE, Nahom Belay; SURESH, Kumar R. S. Bacterial profile of bovine mastitis in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. **PeerJ**, v. 10, p. e13253, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9083533/>. Acesso em: 20 maio 2024.

ULSENHEIMER, Bruna *et al.* Perfil de sensibilidade e casuística do Streptococcus dysgalactiae em mastites na região Noroeste do Estado do RS. **Pubvet**, v. 14, p. 1–6, 2020.

VIVENZA, Paolo Antônio; CARVALHO, Pedro Henrique de Araújo. **Anatomia dos tetos mamários de vacas leiteiras**. Disponível em: <https://www.vetprofissional.com.br/artigos/anatomia-dos-tetos-mamarios-de-vacas-leiteiras>. Acesso em: 17 jun. 2024.