

Escola Superior São Francisco de Assis
Curso de Graduação em Medicina Veterinária

Cíntia Trindade Corteletti
Nícolas Gouvêa dos Santos
Saul dos Santos Herculano

**PREVALÊNCIA DOS AGENTES CAUSADORES DE MASTITE EM
GRANJA LEITEIRA NO INTERIOR DO ESPÍRITO SANTO**

Santa Teresa
2022

Cíntia Trindade Corteletti

Nícolás Gouvêa dos Santos

Saul dos Santos Herculano

PREVALÊNCIA DOS AGENTES CAUSADORES DE MASTITE EM GRANJA LEITEIRA NO INTERIOR DO ESPÍRITO SANTO

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do curso de Medicina Veterinária da Escola Superior São Francisco de Assis, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Leonardo Campos Almeida

Santa Teresa

2022

Cíntia Trindade Corteletti
Nícolás Gouvêa dos Santos
Saul dos Santos Herculano

PREVALÊNCIA DOS AGENTES CAUSADORES DE MASTITE EM GRANJA LEITEIRA NO INTERIOR DO ESPÍRITO SANTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Medicina Veterinária da Escola Superior São Francisco de Assis como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovada em ___ de _____ de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Gabriel Henrique Taufner

Prof.

Escola Superior São Francisco de Assis

Leonardo Campos Almeida

Prof.

Escola Superior São Francisco de Assis

Pedro Carmanini de Mello

Médico Veterinário

EPÍGRAFE

“A compaixão para com os animais é das mais nobres virtudes da natureza humana.”

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecemos a Deus, por nos dar a sabedoria, calma, paciência e discernimento ao longo de toda graduação, nos sustentando e livrando de todo mal, sem Ele nada seria possível.

Agradecemos aos nossos pais e aos nossos familiares que tanto nos apoiaram e nos direcionaram palavras de motivação, cuidando de nós mesmo em momentos difíceis, longe ou perto, sempre cuidando de nós, através do amor familiar.

Agradecemos ao nosso orientador de trabalho de conclusão de curso, por ter dedicado parte do seu tempo, para estar nos orientando de forma cirúrgica.

A todos os nossos amigos de longa data que sempre nos incentivaram e aos amigos que surgiram ao longo de toda graduação, transferindo a nós palavras de sustendo e persistência.

A toda equipe de colaboradores da faculdade Escola Superior São Francisco de Assis, que sempre estiveram presentes em nossa graduação, conversando, apoiando-nos e incentivando-nos.

Aos colaboradores docentes que sempre estiveram conosco, nos direcionando, transmitindo parte de seu conhecimento, permitindo assim a construção de novos profissionais, preparados para enfrentar o mercado de trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Apresentação da quantidade de animais e quantidade de agentes diagnosticados individualmente.....	19
Figura 2 - Correlação dos agentes encontrados e quantidade de diagnósticos obtidos por agente.....	21
Figura 3 - Agentes etiológicos por lactação. As linhas representam agentes etiológicos e colunas as lactações, teste estatístico Two-way ANOVA.....	24
Figura 4 - Representação da distribuição entre número mensurado de CCS e quantidade de lactações, de acordo com o relatório individual dos animais, teste estatístico One-way ANOVA.	26

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Número total de animais avaliados, em comparativo com a quantidade de agentes positivos encontrados, seguido do respectivo percentual representativo do valor da quantidade de agentes positivos no “n” amostral... 18
- Tabela 2** - Animais com 0,1,2 ou 3 microrganismos, quantidade de animais respectivamente relacionado com a quantidade de agentes pelo mesmo, valor percentual referente a quantidade de animais com 0,1,2 ou 3 microrganismos.
*microrganismos..... 18
- Tabela 3** - Demonstração dos diagnósticos obtidos através do OnFarm®, seguido da quantidade encontrada de cada agente e o valor percentual representativo..... 20

LISTA DE SIGLAS

Ac – acurácia

APP – Aplicativo

CCS – Contagem de células somáticas

CS – Células somáticas

E. Coli – *Escherichia Coli*

MC - mastite clínica

MSC - mastite subclínica

S. aureus - *Staphylococcus aureus*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
3 ARTIGO CIENTÍFICO	12
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
5 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

A mastite se caracteriza por uma doença infecciosa de caráter crônico ou agudo do úbere, gerando impactos negativos voltados a qualidade e rendimento do leite e seus subprodutos, saúde e longevidade de produção dos animais. Além disso, é gerado impacto financeiro para o produtor, voltado aos gastos com tratamentos farmacológicos, descarte do leite, e a menor qualidade dos derivados lácteos à mesa do consumidor final (Fonseca et al., 2021).

Atualmente é uma das doenças de maior prevalência nos rebanhos leiteiros, e pode ser classificada de acordo com sua manifestação. Na forma clínica, os animais apresentam sintomatologia como dor, edema e sensibilidade do úbere (Fonseca et al., 2021). Já na forma subclínica, não há manifestação de sinais clínicos, e o prejuízo está associado a alteração da composição, e consequentemente a qualidade do leite, podendo ocasionar perdas de até 30% dentro de um rebanho (Langoni et al., 2017).

Por ser uma enfermidade multifatorial, causada por diversos microrganismos, pode ser classificada ainda de acordo com o agente causador, sendo ambiental, no qual os patógenos são encontrados no próprio ambiente, e contagiosa, em que os microrganismos normalmente são oportunistas, causando maior número de casos de mastite subclínica (Massote et al., 2019).

Diversos são os métodos de controle, muitos deles associado à criação dos animais e ordenha de forma higiênica. Além disso, a identificação dos agentes causadores de mastite possui grande relevância, tanto para o entendimento da dinâmica da enfermidade, bem como o direcionamento ao planejamento terapêutico para tratamento mais efetivo dos animais acometidos. Por fim, permite tracejar estratégias para adoção de medidas profiláticas aos agentes prevalentes em cada propriedade, de forma única e personalizada (Fonseca et al., 2021).

2 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Determinar os principais agentes causadores de mastite dentro de um rebanho leiteiro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Correlacionar os dados de contagem de células somáticas (CCS) com a quantidade de lactações de cada animal;
- Determinar a prevalência dos principais agentes causadores de mastite;
- Correlacionar dados de quantidade de lactações com a prevalência dos agentes causadores de mastite.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

PREVALÊNCIA DOS AGENTES CAUSADORES DE MASTITE EM GRANJA LEITEIRA NO INTERIOR DO ESPÍRITO SANTO

CORTELETTI, C.T¹; SANTOS, N.G¹; HERCULANO, S. S¹; ALMEIDA, L. C²;

¹Discentes Medicina Veterinária, Escola Superior São Francisco de Assis (ESFA), Santa Teresa, Brazil

²Docente do Curso de Medicina Veterinária, Escola Superior São Francisco de Assis (ESFA), Santa Teresa, Brazil

RESUMO

A mastite é uma enfermidade infecciosa de caráter crônico ou agudo do úbere, com impactos a saúde e longevidade de produção dos animais e impacto financeiro, podendo ter origem multifatorial, causada por diversos microrganismos. O estudo consiste em uma pesquisa experimental almejando obter a prevalência dos agentes causadores de mastite em uma granja leiteira no interior do Espírito Santo. Foram coletadas 304 amostras (98,06%) de leite total dos animais em lactação (310), sendo realizada de forma individual após assepsia prévia dos tetos lactantes em tubos estéreis identificados. Após a coleta, cada amostra foi armazenada sob refrigeração em caixa isotérmica para posterior semeadura em meios de cultura cromogênicos *SmartColor 2*, OnFarm®, Piracicaba, Brasil, e alojados em estufa. 24 horas após o procedimento, foi possível obter diagnóstico de cada animal, através dos aspectos visuais das colônias, identificadas pelo aplicativo utilizado. Destes, 172 animais (57%) foram positivos a presença de agente(s). O agente *Streptococcus Uberis* esteve presente 64/258 (24,81%), o mesmo encontrado para *Staphylococcus não aureus* 64/258 (24,81%), seguido por *Staphylococcus Aureus* 30/258 (11,63%), outros gram-negativos 27/258 (10,47%), *Streptococcus Agalactiae/Dysgalactiae* 26/258 (10,08%) e outros gram-positivos 14/258 (5,43%). Além disso, foi possível observar o crescente valor de contagem de células somáticas (CCS) com o avançar do número de lactações. Diante dos resultados encontrados, pontua-se que através do meio de cultura na fazenda é possível monitorar a prevalência dos agentes causadores de mastite, permitindo

estabelecer medidas de profilaxia e tratamento, promovendo saúde e bem estar aos animais produtores de leite.

Palavras-chave: Mastite, cultura, diagnóstico, agentes;

ABSTRACT

Mastitis is a chronic or acute infectious disease of the udder, with impacts on the health and longevity of animal production and financial impact, and may have a multifactorial origin, caused by several microorganisms. The study consists of an experimental research aiming to obtain the prevalence of the agents that cause mastitis in a dairy farm in the interior of Espírito Santo. 304 samples (98.06%) of total milk from lactating animals (310) were collected, being performed individually after previous asepsis of lactating teats in identified sterile tubes. After collection, each sample was stored under refrigeration in an isothermal box for subsequent sowing in chromogenic culture media SmartColor 2, OnFarm®, Piracicaba, Brazil, and housed in a greenhouse. 24 hours after the procedure, it was possible to obtain a diagnosis of each animal, through the visual aspects of the colonies, identified by the application used. Of these, 172 animals (57%) were positive for the presence of the agent(s). The agent *Streptococcus Uberis* was present in 64/258 (24.81%), the same found for non-aureus *Staphylococcus* 64/258 (24.81%), followed by *Staphylococcus Aureus* 30/258 (11.63%), other gram- negative 27/258 (10.47%), *Streptococcus Agalactiae/Dysgalactiae* 26/258 (10.08%) and other gram positives 14/258 (5.43%). In addition, it was possible to observe the increasing value of Somatic Cell Count (SCC) with the advancement of the number of lactations. In view of the results found, it is pointed out that through the culture medium on the farm it is possible to monitor the prevalence of mastitis-causing agents, allowing the establishment of prophylaxis and treatment measures, promoting health and well-being of milk-producing animals.

Keywords: Mastitis, culture, diagnosis, agents;

Introdução

A mastite bovina é uma enfermidade multifatorial que possui grande importância na bovinocultura leiteira, devido aos grandes impactos econômicos gerados (Massote, et.al, 2019). A realização do diagnóstico precoce auxilia na diminuição dos danos causados, tanto para o animal acometido, quanto para o produtor (Maiochi et al., 2019; Massote et al., 2019).

A cultura microbiológica se torna grande aliado ao diagnóstico definitivo da enfermidade. Além disso, é possível através dela, isolar e identificar o patógeno responsável pela infecção. Entretanto, se associado ao antibiograma, há a possibilidade de avaliar a sensibilidade do agente frente aos mais diversos antibióticos (Fonseca et al., 2021).

Diante do exposto, o presente estudo busca monitorar e identificar a prevalência dos agentes causadores de mastite presente em um rebanho bovino, favorecendo a elaboração de estratégias no manejo do rebanho, bem como a implementação de protocolos de tratamento de forma mais efetiva.

Material e métodos

Coleta e processamento das amostras

O estudo consiste em uma pesquisa experimental cujo intuito é estabelecer a prevalência dos agentes causadores de mastite em uma granja leiteira no interior do Espírito Santo. A propriedade adota a produção em confinamento através do sistema *Free Stall* com camas individuais de areia. Além disso, são realizados protocolos nutricionais, sanitários e reprodutivos. Entretanto, os animais são ordenhados três vezes ao dia através de ordenha mecânica. No momento da pesquisa, encontravam-se 310 animais em estágio de lactação. Destes, 304 foram estudados por não possuírem tratamento ativo com antibiótico.

Realizou-se uma única coleta individual dos animais em um mesmo dia durante o fluxo normal de ordenha. As amostras foram obtidas por meio de ordenha dos tetos funcionais e acondicionadas em tubos estéreis, sendo posteriormente destinadas ao laboratório da fazenda para inoculação em placas de cultura microbiológica fornecidas por *SmartColor 2*, OnFarm®, Piracicaba, Brasil.

Quanto ao fluxograma, houve o posicionamento dos animais em sala de ordenha em fluxo normal de rotina, sendo realizado o *pré-dipping* com o produto DeLaval Prima™, e teste de caneca de fundo preto, com o objetivo de identificar casos clínicos de mastite. Foi realizado a assepsia dos tetos funcionais com lenço umedecido - álcool *swab* isopropílico 70%. Coletou-se a amostra individual de leite através de ordenha manual de cada teto, em volume total de 6ml por animal, acondicionadas em tubo estéril e identificado, sendo alocadas em caixa térmica com gelo gel reutilizável. O fluxo de ordenha se manteve de modo tradicional, sendo finalizada com a realização do *pós-dipping* dos tetos com o produto DeLaval Della Barrier™.

Cultivo e análise microbiológica

As amostras foram destinadas a cultivo microbiológico no mesmo dia da coleta. Foram inoculadas em três meios distintos de cultura seletivos: a) *Streptococcus spp.* (CHROMagar, França), b) *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus spp.* (CHROMagar, França) e c). Bactérias Gram-negativas e Levedura/*Prototheca spp.* (*Mastitis GN*, CHROMagar, França).

Com o aplicativo (APP) *SmartColor 2*, OnFarm®, Piracicaba, Brasil, foram cadastradas as placas através de seu *Qr Code*. Por haver divisões físicas, foi possível a semeadura de amostra de dois animais em uma única placa. Seguido a isso, foram cadastrados na placa através do APP a identificação do número dos animais que tiveram suas amostras semeadas.

Seguido a isso, as placas semeadas foram acondicionadas em estufa a 37°C por 24h. Após o tempo de cultivo, foi realizada a leitura das placas, baseadas no crescimento ou não, de colônias. Inicialmente, foi realizada a leitura do *Qr Code* de cada placa através do APP. Feita a leitura, o aplicativo fornece os dados referentes aos animais previamente cadastrados.

As placas, uma a uma, foram posicionados em plataforma própria fornecidas pela *SmartColor 2*, OnFarm®, Piracicaba, Brasil, sendo realizada a leitura através da câmera do telefone via aplicativo. Nesse momento, o APP realiza a identificação das características da colônia, trazendo assim, o (s) agente (s) presente (s). Os dados coletados foram compilados por meio de planilhas, sendo identificados com nome do animal, data de coleta, número de lactações por animal, número de CCS (Contagem de células somáticas), agente(s) encontrado(s), assim obtendo diagnóstico individualizado dos agentes.

O número de CCS foi compilado através do fornecimento dos mesmos pela própria granja leiteira, sendo que estes dados foram obtidos de forma oficial, minimizando possíveis erros de resultados. Com registro de todos os dados foi possível a realização da interpretação e correlação de dados, gerando assim resultados estatísticos de significância para este trabalho.

Análise estatística

Os dados foram analisados quando a normalidade utilizando o teste Shapiro-Wilk, e avaliados intergrupos utilizando o teste One-way ANOVA para dois ou mais grupos com variáveis únicas, e o teste Two-way ANOVA para dois ou mais grupos com variáveis duplas. Foi considerado diferença significativa valores de $p < 0,05$.

Resultados e discussão

A fazenda no qual se conduziu o estudo, possuía no ato da coleta 310 animais em estágio de lactação. Porém, com os critérios de exclusão, procedeu-se a coleta de amostras de 304 animais, o que representa 98,06% dos animais em estágio de lactação. Destes, 172 animais (57%) foram positivos a presença de agente(s). A análise em questão está evidenciada na tabela 1.

Tabela 1 – Número total de animais avaliados, em comparativo com a quantidade de agentes positivos encontrados, seguido do respectivo percentual representativo do valor da quantidade de agentes positivos no “n” amostral.

Animais Avaliados	Positivos a Agentes(s)	Percentual Positivado (%)
304	172	57%

Fonte: Corteletti, Santos, Herculano (2022).

O resultado em questão corrobora com a pesquisa realizada por Melo et.al (2020), onde que foram encontrados positividade a agentes potenciais causadores de mastite em 53,3% dos animais em sua pesquisa.

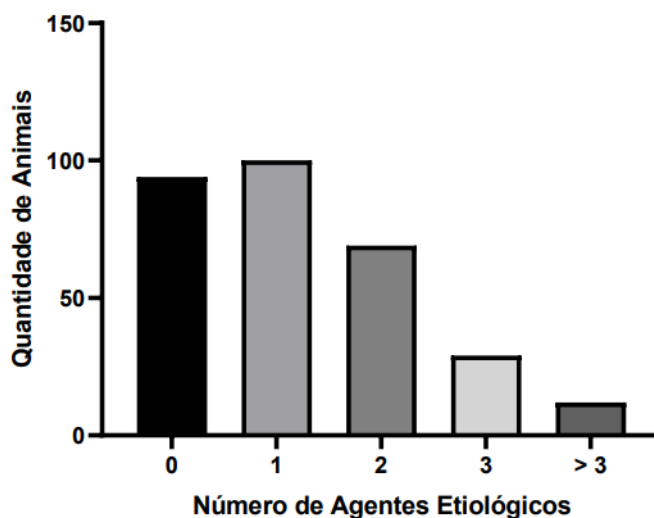
Por ser subdivida em três meios de cultura distintos, a placa de cultivo permite o isolamento e identificação de mais de um agente por animal, caso exista (Tabela 2 e figura 1).

Tabela 2 - Animais com 0,1,2 ou 3 microrganismos, quantidade de animais respectivamente relacionado com a quantidade de agentes pelo mesmo, valor percentual referente a quantidade de animais com 0,1,2 ou 3 microrganismos.

Descrição	Quantidade	Percentual
Nenhum microrganismo	94	30,92%
1 microrganismo	100	32,90%
2 microrganismos	69	22,70%
3 microrganismos	29	9,54%
Contaminação de amostras	12	3,94%
Total de animais	304	100%

Fonte: Corteletti, Santos e Herculano (2022).

Figura 1 – Apresentação da quantidade de animais e quantidade de agentes diagnosticados individualmente.



Fonte: Corteletti, Santos, Herculano (2022).

Em um estudo que buscava caracterizar agentes causadores de mastite, Souza e colaboradores (2009) apontam que do total de amostras observadas crescimento bacteriano, apenas 15,5% destas apresentavam infecção mista, ou seja, por mais de um agente, sendo então resultados próximos ao encontrado na presente pesquisa. Segundo Bettanin et.al (2019), obtiveram 37,85% de amostras com dois tipos de patógenos, 15,15% a mais do que o encontrado no presente estudo.

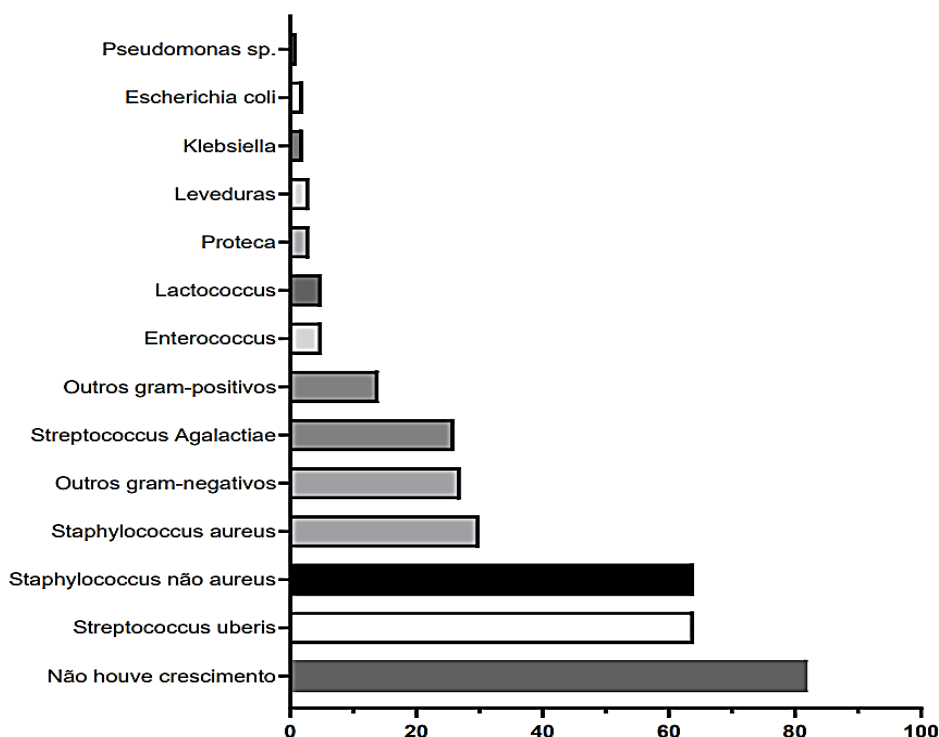
Constatou-se no estudo em questão, uma diversidade de microrganismos potenciais causadores de mastite identificados. Para melhor visualização, a distribuição dos agentes está presente na tabela 3 e na figura 2.

Tabela 3 - Demonstração dos diagnósticos obtidos através do OnFarm®, seguido da quantidade encontrada de cada agente e o valor percentual representativo.

Agente	Quantidade	%
<i>Streptococcus Uberis</i>	64	24,81%
<i>Staphylococcus Não-Aureus</i>	64	24,81%
<i>Staphylococcus Aureus</i>	30	11,63%
Outros gram-negativos	27	10,47%
<i>Streptococcus Agalactiae/Dysgalactiae</i>	26	10,08%
Outros gram-positivos	14	5,43%
Contaminação	12	4,65%
<i>Lactococcus</i>	5	1,94%
Proteca	3	1,16%
Levedura	3	1,16%
<i>Klebsiella spp.</i>	2	0,78%
<i>Escherichia Coli</i>	2	0,78%
<i>Pseudomonas spp.</i>	1	0,39%
Total	258	100,00%

Fonte: Corteletti, Santos, Herculano (2022).

Figura 2 - Correlação dos agentes encontrados e quantidade de diagnósticos obtidos por agente.



Fonte: Corteletti, Santos, Herculano (2022).

A contaminação de placas pode acontecer durante todo o processo de manuseio das amostras, porém, diversas são as técnicas adotadas para diminuição dos números de placas contaminadas. Ao se analisar os resultados encontrados, é notável que 4,65% das amostras tiveram contaminação identificada, resultado inferior ao encontrado por Souza et.al (2009), no qual obtiveram em sua pesquisa, a contaminação de 5,8% das amostras cultivadas. Além disso, o resultado é inferior ao pontuado por Bettanin et.al (2019), que encontraram 19,8% de suas amostras contaminadas.

Santos (2006) pontua que os principais microrganismos isolados em casos de mastite são *staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, bem como *Corynebacterium spp.* e *Escherichia coli*, achados esses, semelhantes ao encontrado na presente pesquisa.

As enterobactérias, microrganismos de caráter ambiental, representadas na pesquisa por *E.coli* e *Klebsiella spp*, somaram juntas, o total de 1,56% dos microrganismos encontrados. Valor esse, inferior ao encontrado por Costa et al. (2008), que obtiveram em sua pesquisa o total de 3,62% para as Enterobactérias. Santos (2006) pontua que

a infecção por *E. coli* normalmente acontece de forma grave, pois em muitos casos culmina em manifestação aguda da mastite clínica decorrente de toxinas circulantes.

Comumente, os casos de mastite por enterobactérias estão associados a infecções no próprio ambiente, sendo que as principais formas de contaminação são o contato com lama, umidade e fezes de animais (Santos, 2006). Na presente pesquisa, apenas dois animais foram positivos a *E.coli* e dois animais positivos a *Klebsiella spp*, indicando que o manejo realizado na manutenção das camas dos animais mostra-se eficiente contra infecções ambientais dos referidos microrganismos.

Os dados encontrados na presente pesquisa são inferiores ao encontrado por Salina et.al (2006) de forma expressiva, uma vez que obtiveram um total de 76,6% de amostras positivas a *E.coli*, um valor de 98,2% superior ao encontrado no presente estudo.

Staphylococcus não-aureus (SNA) também são conhecidos como *Staphylococcus* coagulase negativo, são patógenos de alta prevalência nos casos de mastite. Comumente habitam o canal do teto. São infecções de baixo impacto, alterando pouco a composição e qualidade do leite, podendo apresentar aumento de CCS. Normalmente acontecem no pré-parto, sendo necessário boa manutenção de higiene das instalações. Apresentam alta taxa de cura espontânea (Tomazi, et.al, 2015). No entanto, o presente estudo encontrou alta taxa de prevalência para SNA (24,81%), sendo um indicativo de falhas no manejo sanitário das instalações de pré-parto.

Brito et.al (2001) pontuam que a espécie *Staphylococcus aureus* é a mais prevalente nas infecções de vacas leiteiras. Animais portadores do microrganismo em questão podem constituir uma forma de infecção permanente, que pode persistir durante toda a lactação (Ferreira et.al, 2006). É pontuado ainda que *S. aureus* está presente em aproximadamente 50% das infecções mamárias em bovinos leiteiros.

Comumente, *S. aureus* está alojado na pele do úbere e nos tetos dos animais. Por este motivo, pode ser transmitido para os bocais de ordenhadeiras, o que favorece a sua disseminação no ato da ordenha (Santos, 2006). Tal fator ressalta a importância do bom manejo durante a ordenha, tanto para a higiene dos tetos, quanto a mão dos ordenhadores e com os equipamentos. Além disso, a bactéria possui a capacidade de produção de biofilme, o que favorece a sua colonização.

Na pesquisa feita por Bettanin e seus colaboradores (2019), *S. aureus* contribuiu com 16,42% do total de isolados, valor este, superior ao encontrado na presente pesquisa (11,63%). Costa et al (2008) trazem uma importante informação de que a variação da taxa de isolamento de *S. aureus* no Brasil é entre 8,3% e 49,23%. Ainda neste sentido, Andrade et al (2009) reforçam que a frequência de isolamento de *S. aureus* nos rebanhos é entre 17% e 20%. Conclui-se então, que as referências citadas são superiores ao encontrado na presente pesquisa (11,63%).

No estudo realizado por Almeida e colegas (2021), a prevalência de *Streptococcus Uberis* foi de 3,05%, valor expressamente inferior ao encontrado na atual pesquisa (24,81%). Os autores pontuam que, apesar da baixa representatividade, o microrganismo em questão possui grande importância nos processos infecciosos.

Em contrapartida, Sommerhäuser e colaboradores (2003) trazem a informação de que infecções causadas por *S.uberis* é de 20% a 33% dos casos de mastite pelo mundo, corroborando ao encontrado no presente estudo (24,81%). É acrescentado ainda pelos autores que o patógeno em questão possui capacidade de sobreviver fora da glândula mamária, contaminando as camas e o ambiente de ordenha, podendo ser isolado ainda no úbere, tetos, vagina, narinas dentre outras partes mais.

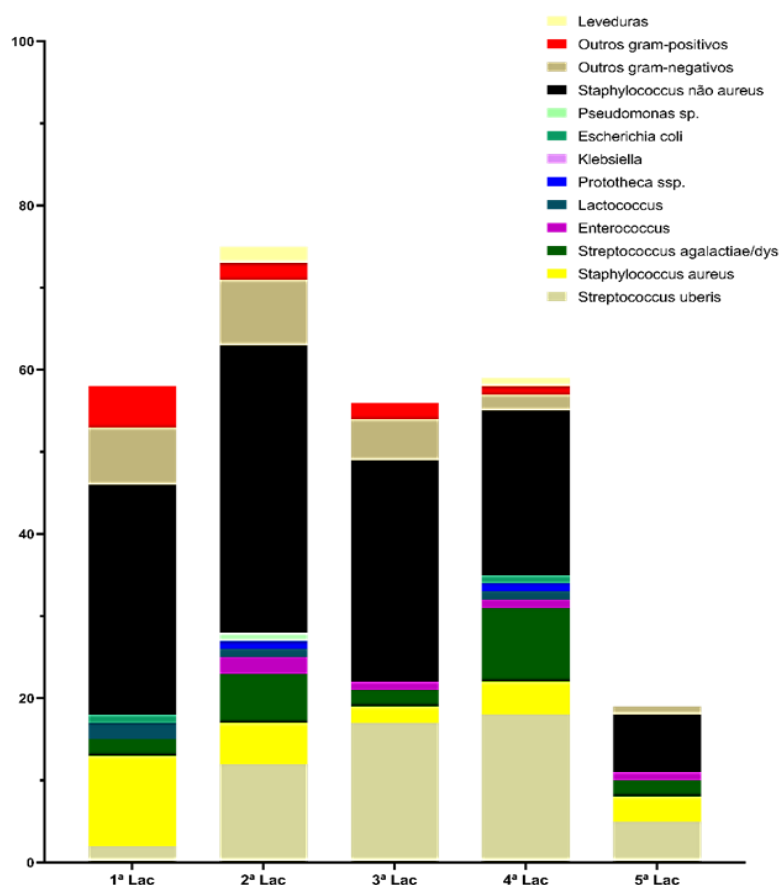
A frequência de isolamento de leveduras na presente pesquisa foi de 1,16%, valor inferior ao encontrado por Costa et al. (2008), onde obtiveram isolamento de 3,4% para leveduras, em um estudo realizado com 1.710 amostras. Ainda, os autores pontuam que Leveduras normalmente são encontradas em equipamentos de ordenha epitélio dos tetos, e também no ambiente de ordenha. A baixa porcentagem de animais acometidos no presente trabalho é um indicativo de um efetivo manejo de ordenha na propriedade em questão.

Granja (2020) realizou um estudo para avaliar a acurácia (Ac) do desempenho de diagnóstico de biplaca e triplaca de meios de cultura cromogênicos (mesma placa utilizada no presente estudo). A acuraria de avaliação visual foi de >87%, tanto para mastite clínica, quanto para subclínica.

O uso da triplaca *Smartcolor 2* permite com que seja realizada de forma rápida, a identificação dos agentes causadores de mastite, obtendo Ac para mastite clínica e subclínica de 97% e 96% para *S. aureus*, 98% e 98% para *S. uberis*, 95% e 92% para *S. Agalactiae/Dysgalactiae*, 97% e 97% *Enterococcus spp.*, 95% e 99% para *E. coli*, 98% e 98% para *Klebsiella spp./Enterobacter spp.* e 99% e 100% Levedura e *Prototheca spp.* (Granja, 2020)

Além disso, foi possível com o estudo, obter a distribuição dos agentes encontrados, correlacionados com o número de lactações. Os dados encontram-se expostos na figura 3.

Figura 3 - Agentes etiológicos por lactação. As linhas representam agentes etiológicos e colunas as lactações, teste estatístico Two-way ANOVA



Fonte: Corteletti, Santos, Herculano (2022).

O teste estatístico afirma que existe diferença significativa entre os grupos de lactação analisados, com p valor de <0.0001 para linhas (agentes etiológicos) e p valor de

0.0183 para colunas (lactação). Em resumo, a estatística afirma que existe correlação entre lactação e agentes etiológicos. Os números comprovam que há variação estatisticamente significativa entre agentes etiológicos por lactação.

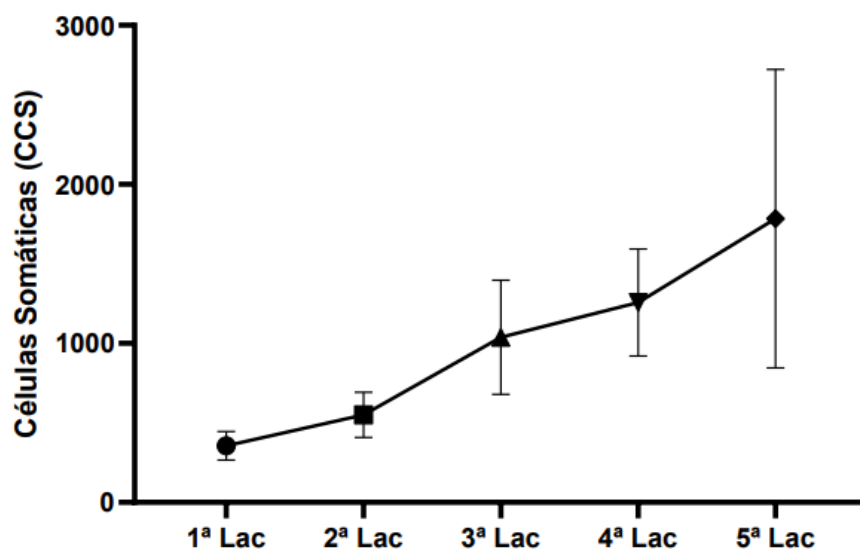
É observado que, a maior prevalência de *S. aureus* foi em animais de primeira lactação. Tal informação corrobora com o que foi encontrado por Wage e colaboradores (1999) em um estudo com animais de primeira lactação, onde foi constatado que o microrganismo mais isolado foi *S. aureus*.

A mastite subclínica se caracteriza pela ausência de alterações visíveis no leite e na glândula mamária, porém, com alteração na contagem de células somáticas (CCS). A CCS é representada pelas células de defesa do organismo, e também células de descamação epitelial, sendo assim, indicadores de inflamação da glândula mamária (Barbosa et al., 2002). A CCS então, se torna um fator de grande importância para a identificação de mastite subclínica, sendo usado como referência 200.000 células somáticas/ mL (CS/mL), sendo que, valores acima do supracitado, pode ser considerado como mastite subclínica.

Em contrapartida, Texeira e colaboradores (2019) informam que o início da vida produtiva das vacas primíparas (vaca com seu primeiro parto) é marcado por acentuada descamação epitelial, o que pode favorecer também o aumento da CCS. É pontuado ainda que, à medida que o número de lactações aumenta, a CCS pode também estar acompanhando o crescimento, devido a prevalência de infecções mamárias anteriores, bem como a resposta celular a grande diversidade de patógenos (Venturini et al., 2007).

Os dados supracitados corroboram com os achados no presente estudo, onde foi avaliado também a relação entre o número de lactações, associados ao número de CCS. Os dados obtidos encontram-se disponíveis na Figura 4.

Figura 4 - Representação da distribuição entre número mensurado de CCS e quantidade de lactações, de acordo com o relatório individual dos animais, teste estatístico One-way ANOVA.



Fonte: Corteletti, Santos, Herculano (2022).

O teste estatístico afirma que existe diferença significativa entre os grupos de lactação analisados, com p valor de 0.0002, ou seja, $p < 0.05$. Em resumo, a estatística afirma que existe correlação entre lactação e células somáticas. Os números comprovam que quanto mais lactações o animal possuir, maior serão os números de células somáticas.

É notável que, com o avançar da idade das vacas estudadas, identificado pelo número de lactações, que os valores de CCS são crescentes, corroborando com Magalhães, et al., (2009) que em seu estudo observou-se que a CCS demonstra menor valor para animais primíparas, devido o menor contato destes com os patógenos. Portanto, a medida que as lactações se repetem, coincide com aumento da CSS e aumento da idade dos animais.

Conclusão

Neste presente trabalho, observou-se como resultados que os agentes causadores de mastite podem estar difundidos em frações variáveis do rebanho de vacas leiteiras. Sendo assim os agentes de maior prevalência deste estudo foram, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus não aureus*, bem como *Streptococcus Agalactiae*/*Streptococcus Dysgalactiae*.

Os valores de CCS correlacionados a quantidade de lactações, demonstrou-se que, com o avançar da idade das vacas estudadas, identificado pelo número de lactações, que os valores de CCS são crescentes. Portanto o valor de CCS do animal, poderá fazer inferência a sua quantidade de lactações.

A quantidade de lactações relacionada a prevalência de agentes causadores de mastite, observou-se que o *Staphylococcus aureus*, possuiu maior prevalência quanto aos animais em primeira lactação, quando comparada aos demais agentes e demais quantidade de lactações.

A detecção dos agentes através dos meios de cultura utilizado, é uma real opção para todos os tipos de propriedade. É possível através dela monitorar a prevalência dos agentes causadores de mastite, o que permite estabelecer medidas de tratamento para agentes específicos, e ainda, trabalhando opções estratégicas de profilaxia.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M; PIAIA, N; BALDO, W.G; FAVERO, J.F. **Principais agentes causadores de mastite clínica e subclínica em vacas leiteiras da região Oeste de Santa Catarina.** PUBVET v.15, n.11, a959, p.1-9, 2021.

ALMEIDA, T. V. **Fatores de risco para mastite bovina e avaliação fenotípica de resistência antimicrobiana.** 2020. 81 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.

ANDRADE, U.V.C; HARTMANN, W.; MASSON, M.L. **Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite.** ARS Veterinária, v.25, n.3, p.129-135, 2009.

BARBOSA, C. P. et al. **Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “California Mastitis Test” (CMT), no diagnóstico de mastite bovina.** Biosci J., v.18, n. 1, p.93-102, 2002.

BETTANIN, J; et al. **Frequência de Isolamentos dos Agentes Etiológicos da Mastite Bovina no Sudoeste Paranaense.** Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal (v.13, n.4) p. 440 – 451, 2019.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J. R. F.; SILVA, M. A. S.; CARMO, R. A. **Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina.** Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia, Juiz de Fora, v. 53, n.5, p.531-537, 2001.

COSTA, G.M.; SILVA, N.; ROSA, C.A.; FIQUEIREDO, H.C.P. PEREIRA, U.P. **Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil.** Ciência Rural, v.38, n.7, p.1938-1942, 2008.

FERREIRA, L. M.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, E de; ZAFALON. L. F.; SOUZA, V de. **Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina.** Ciência Rural, Santa Maria, v.36, n.4, p-1228-1234, 2006.

FONSECA, M. E. B. et al. **Mastite bovina: revisão.** Editora MV Valero. Pubvet, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 1-18, 2021.

GRANJA, B. M. **Avaliação de meios de cultura cromogênicos para identificação rápida de microrganismos causadores de mastite bovina. [Evaluation of chromogenic culture media for rapid identification of bovine mastitis-causing microorganisms]**. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

LANGONI, H; et al. **Considerações sobre o tratamento das mastites**. FapUNIFESP (SciELO). Pesquisa Veterinária Brasileira, [S.L.], v. 37, n. 11, p. 1261-1269, 2017.

MAGALHÃES, H. R. et al. **Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça holandesa**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.2, p.415-421, 2006.

MAIOCHI, R.R.; RODRIGUES, R.G.A.; WOSIACKI, S.R. **Principais métodos de detecção de mastites clínicas e subclínicas de bovinos**. Enciclop. Biosfera, v.16, n.29, p.1237-1251, 2019. doi: 10.18677/EnciBio_2019A104

MASSOTE, V. P. et al. **Diagnóstico e controle de mastite bovina: uma revisão de literatura**. Revista Agroveterinária Do Sul de Minas, 1(1), 41–54, 2019.

MELO, A.P; et.al. **Isolamento e identificação de microrganismos causadores de mastite clínica utilizando a placa AccuMast®**. PUBVET v.14, n.10, a676, p.1-10, 2020.

SALINA, A; et.al. Participação de Enterobactérias na etiologia de mastites bovinas em rebanhos de estados do Sul, Sudeste e Centro-oeste do Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 14, n. 3, p. 88-88, 21, 2016.

SANTOS, C. D. M. **Staphylococcus sp. e Enterobactérias isoladas de mastite recorrente em oito rebanhos da Região de Uberlândia – MG: perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos**. 2006. 54 f. Dissertação (mestrado em produção animal). Universidade federal de Uberlândia. Uberlândia – MG, 2006.

SOMMERHÄUSER J, KLOPPERT B, WOLTER W, ZSCHÖCK M, SOBIRAJ A, FAILING K. **The epidemiology of Staphylococcus aureus infections from**

subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. Vet Microbiol.;96(1):91-102, 2003. doi: 10.1016/s0378-1135(03)00204-9.

SOUZA, G.N; BRITO, J.R.F; MOREIRA, E.C; BRITO, M.A.V.P; SILVA, M.V.G.B. **Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.61, n.5, p.1015-1020, 2009.

TEIXEIRA, R.D.S; et.al. **Relação do número de lactações com a produção e qualidade do leite.** EMPOS - XXI Encontro de pós graduação. 5ª semana integrada. UFPEL, 2019. Disponível em <https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2019/CA_02885.pdf>. [Acesso em 21/10/2022].

TOMAZI, T; et.al. Bovine subclinical intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci increases somatic cell count but has no effect on milk yield or composition. **Journal of dairy Science**, v. 98, p. 3071-3078, 2015.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. da. **Características do leite.** Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo/Pró-Reitoria de Extensão, Programa Institucional de Extensão, 2007.

WAAGE, S. et al. **Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers.** Journal of Dairy Science, v.82, n.4, p.712-719, 1999.

5 PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente trabalho visa elucidar sobre os agentes causadores de mastite e suas respectivas correlações com dados de Contagem de Células Somáticas e números de lactações. Os dados sobre o diagnóstico de agentes causadores de mastite, foram obtidos através de um recente método diagnóstico de cultura na fazenda, denominado OnFarm®. Este aplicativo recém lançado no mercado, carece de estudos referentes a sua utilização, sendo que o presente trabalho buscou fomentar novas informações sobre utilização deste método diagnóstico na literatura.

Com este estudo, espera-se contribuir com novos trabalhos a serem realizados, afim de auxiliar com este novo método diagnóstico, OnFarm®, podendo facilitar o dia-a-dia do campo, visando o bem-estar animal, minimizar impactos financeiros aos pequenos, médios e grandes produtores. Além disso, busca reduzir quanto a utilização indiscriminada de fármacos no tratamento de mastites, como principalmente antibióticos e anti-inflamatórios.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi realizada com apoio de uma fazenda no interior do Espírito Santo, havendo a participação ativa de seus colaboradores. Além disso, contou com o auxílio da OnFarm Piracicaba, Brasil fornecendo dados e apoio operacional durante todas as etapas de confecção das placas, até a identificação dos agentes.

Além disso, o apoio da instituição de ensino a Escola Superior São Francisco de Assis, cedendo equipamentos e estrutura para o estudo e ao Prof. Me. Gabriel Henrique Taufner no desenvolvimento estatístico do presente trabalho. Por fim, agradecemos ao Prof. Me. Leonardo Campos, Pedro Carmanini, Marcos Corteletti e Eduardo Shalders pelo apoio na condução da pesquisa.