

**ESCOLA TÉCNICA CENTRO PAULA SOUZA**

**FREI ARNALDO MARIA DE ITAPORANGA**

**Técnico Zootecnia**

**Emmily Carvalho de Lima**

**Kamilly Vitória Freire da Silveira Barbosa**

**Leonardo Henrique de Andrade**

**Wigor Pedro de Lima**

**DIAGNÓSTICO DE MASTITE NA PROPRIEDADE COM CULTURAS MICROBIOLÓGICAS**

**Votuporanga - SP**

**2021**

**Emmily Carvalho de Lima**

**Kamilly Vitória Freire da Silveira Barbosa**

**Leonardo Henrique de Andrade**

**Wigor Pedro de Lima**

## **DIAGNÓSTICO DE MASTITE NA PROPRIEDADE COM CULTURAS MICROBIOLÓGICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Técnico em Zootecnia da ETEC Frei Arnaldo Maria de Itaporanga, orientado pela Prof. Giane da Silva Conhalato e pela Prof. Kerly Franciele Belussi, como requisito parcial para obtenção do título de técnico em Zootecnia.

**Giane da Silva Conhalato**

**Kerly Franciele Belussi**

**Votuporanga - SP**

**2021**

## DEDICATÓRIAS

Com gratidão, dedico este trabalho a Deus. Devo a Ele tudo que sou e sem Ele nada seria possível, a Ele toda honra e glória.

Agradeço e dedico este trabalho a minha mãe Luciana, e ao meu pai, Jose Antonio. Este trabalho é a prova de que todas suas orientações e conselhos valeram a pena. Amo vocês.

Dedico este trabalho também ao meu irmão Eduardo, por toda motivação e humor incondicional que me ajudou até aqui. Amo você.

*Emmily Carvalho.*

Dedico primeiramente a Deus, autor e consumidor da minha fé, a ele toda honra e toda glória.

Dedico também este trabalho de pesquisa a minha mãe. Sua grande força foi à mola propulsora que permitiu o meu avanço, mesmo durante os momentos mais difíceis. Agradeço do fundo do meu coração.

*Kamilly Vitoria.*

Dedico este trabalho a Deus e aos meus colegas de curso; sem ele eu não teria capacidade para desenvolver este trabalho.

*Leonardo Henrique.*

De forma bastante sincera gostaria de eternizar meus agradecimentos a estes que tornaram possível a realização deste Trabalho de Conclusão de Curso e a Conclusão do curso de Técnico em Zootecnia.

Agradeço primeiramente à Deus, que em sua infinita sabedoria colocou força no meu coração para vencer essa etapa da minha vida. A fé no Senhor, sem dúvidas, me ajudou a lutar até o fim.

Aos meus pais, Jair e Gislaine, pelo apoio, força e amor incondicional. Sem vocês a realização desse sonho não seria possível.

GhiannyGabrielly, meu amor, sem o seu apoio e companheirismo esse TCC não seria possível. Obrigado por ser tão atenciosa e entender minha ausência em diferentes momentos, e a todos os amigos, especialmente Irruá Vieira, meu muito obrigado. Vocês foram fundamentais para minha formação, por isso merecem meu eterno agradecimento.

A professora e amiga Giane, pela amizade, pela orientação e pela significativa contribuição para o desenvolvimento acadêmico e profissional.

Enfim, a todas as pessoas que de algum modo contribuíram para a realização deste estudo.

*Wigor Pedro.*

A todos, Muito Obrigado!

## **AGRADECIMENTOS**

Queremos agradecer a Deus por ser nossa base.

Gratidão às professoras Giane da Silva Conhalato e Kerly Franciele Belussi Silva Lopes, que foram pessoas essenciais para a realização do presente trabalho e por todo o apoio que deram ao longo do percurso.

Agradecimento também ao Gilberto Fernando Vaneti que nos recebeu na fazenda, gerenciou nossa visita técnica e possibilitou a realização deste trabalho.

“Não importa o que aconteça, continue a nadar”

(WALTERS, GRAHAM; **PROCURANDO NEMO**, 2003.)

## RESUMO

A técnica de culturas microbiológicas utilizada para o diagnóstico de mastite bovina está em grande desenvolvimento, mesmo com a escassa adesão das propriedades pela prática para serem feitos estudos. Neste caso, a política da sanidade de produtos de origem animal e outros fatores serão discutidos ao longo desta revisão.

Podemos afirmar que a técnica das Culturas promove resultados favoráveis à evolução da produção de leite, juntamente com outras técnicas, as quais muitas vezes são utilizadas para aprimorar e facilitar o manejo sanitário e aumentar a produção, não mais necessitando do laboratório especializado em si e sim de novas técnicas mais ágeis e econômicas.

As bactérias contagiosas ou ambientais acometem o úbere – quando expostas ao mesmo – a uma infecção denominada mastite. Quando não tratada gera prejuízos econômicos, produtivos e sanitários na produção leiteira. Seguramente nas Culturas Microbiológicas, o método possibilita o rápido diagnóstico da bactéria causadora da enfermidade e logo, o rápido tratamento e recuperação da vaca.

**Palavras – chave:** culturas microbiológicas, mastite, leite, bactérias e manejo.

## Lista De ilustrações

- Figura 1** - Modelo geral de interpretação de resultado microbiológico em placas bi e tripartidas . . . . .  
. . . pag.23
- Figura 2** - Armazenamento de feno e pré secado . . . . .  
pag.24
- Figura 3** - Bezerreiros . . . . .  
pag.25
- Figura 4** - Bezerreiros . . . . .  
pag.25
- Figura 5** - Ventiladores da *FreeStall*. . . . .  
pag.26
- Figura 6** - Termômetro de ambiente . . . . .  
.pag.26
- Figura 7** – Sistema de Ordenha. . . . .  
pag.27
- Figura 8** - Produtos de limpeza e desinfecção na ordenha . . . . .  
pag.27
- Figura 9** - Solução de limpeza e higienização . . . . .  
pag.28
- Figura 10** - Colares de monitoramento . . . . .  
pag.28
- Figura 11** - Tubos de ensaio esterilizados . . . . .  
.pag.29
- Figura 12** - Lenços umedecidos de álcool . . . . .  
pag.29
- Figura 13** - Estufa . . . . .  
pag.29
- Figura 14** - Sistema de aquecimento e medida de temperatura da estufa. . . . .  
pag.30
- Figura 15** - *Escherichia coli* demonstrada na placa de culturas microbiológicas. . . . .  
pag.30
- Figura 16** - Tubos de ensaio com swab para realização do exame . . . . .  
.pag.31
- Figura 17** - *Staphylococcus aureus* demonstrada na placa de culturas microbiológicas... . . . .  
. . . . .  
.pag.31
- Figura 18** - Exemplos de amostras contaminando as placas (positivas) . . . . .  
pag.32

**Figura 19** - Exemplos de amostras não contaminadas nas placas (negativas). . . . .  
pag.32

**Figura 20** - Gerente da fazenda manipulando placa de três sessões . . . . .  
pag.33

**Figura 21** - Tabela de leitura das placas contaminadas com respectivas bactérias comuns da fazenda . . . . .  
pag.33

**Figura 22** - Mini estufa para amostras de leite . . . . .  
.pag.34

**Figura 23** - Leitura das amostras após saírem da estufa . . . . .  
.pag.34

## SUMÁRIO

1. <b>INTRODUÇÃO</b> .....	9
2. <b>JUSTIFICATIVA</b> .....	11
3. <b>OBJETIVOS</b> .....	12
3.1 <b>GERAL</b> .....	12
3.2 <b>ESPECÍFICOS</b> .....	12
4. <b>REVISÃO</b> .....	DE
<b>LITERATURA</b> .....	12
4.1 <b>BOVINOCULTURA DE LEITE</b> .....	13
4.2 <b>DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA</b> .....	13
4.3 <b>LEITE</b> .....	14
4.4 <b>HIGIENE DO AMBIENTE, NOS EQUIPAMENTOS E INSTALAÇÕES</b> .....	14
4.5 <b>CCS (CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS)</b> .....	14
4.6 <b>CBT (CONTAGEM BACTERIANA TOTAL)</b> .....	15
4.7 <b>MASTITE</b> .....	16
4.7.1 <b>MÉTODOS DE PREVENÇÃO E PROFILAXIA</b> .....	17
4.7.2 <b>PERDAS ECONÔMICAS E FATORES DE RISCO PARA A PRODUÇÃO</b> .....	20

<b>4.8</b>	<b>CULTURA MICROBIOLÓGICA NO CONTROLE E PREVENÇÃO DAMASTITE.....</b>	<b>21</b>
<b>4.9</b>	<b>CULTURA MICROBIOLÓGICA NA FAZENDA.....</b>	<b>23</b>
<b>5.</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>23</b>
<b>5.1</b>	<b>MONOGRAFIA.....</b>	<b>23</b>
<b>5.2</b>	<b>RELATÓRIO TÉCNICO.....</b>	<b>24</b>
<b>5.2.1</b>	<b>MASTITE NA FAZENDA.....</b>	<b>27</b>
<b>5.2.2</b>	<b>CULTURA MICROBIOLÓGICA.....</b>	<b>28</b>
<b>6.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>34</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>36</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### **Produção de gado leiteiro mundial, e atual produção de leite no Brasil.**

Em 2008, a produção mundial de leite atingiu uma quantidade de 578 bilhões de litros. Segundo a organização das nações unidas para agricultura e alimentação, os estados unidos lideram o primeiro lugar de países mais produtores, seguido da Índia e China, o Brasil está em sexto lugar (ALVES et al., 2010, p.3). A produção de leite no Brasil vem mostrando grande aumento, em 2019/20 foi estimado uma produção de 37 bilhões de litros. Na produção por região, o Sudeste lidera com mais de 10 bilhões de litros, seguido pela região sul. (ALVES et al., 2010, p.4)

### **Principais estados produtores de leite no Brasil, a produção de leite no estado de São Paulo e a sanidade do produto.**

Nos últimos anos, a produção de São Paulo em relação à brasileira corresponde a aproximadamente 5% do total, com base nos dados da Pesquisa Pecuária Municipal (PPM) do IBGE. Os dados de 2016 indicam uma produção nacional de 33,6 bilhões de litros, enquanto a produção paulista naquele ano foi de 1,7 bilhão de litros de leite (NABIL, FERREIRA, OLIVEIRA, 2017, p.4)

É preciso destacar que toda a produção leiteira no Brasil possui exigências em questões de manejo sanitário do rebanho e qualidade nutricional do produto (OLIVEIRA, 2011). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), responsável pelas exigências para a produção leiteira e outras, dita práticas que impõe sanidade e qualidade; das práticas sanitárias podemos destacar a prevenção e o controle de doenças e parasitoses, limpeza e desinfecção dos animais (tetos principalmente), das instalações e dos utensílios utilizados, higiene do ordenhador e a conservação do leite em baixas temperaturas. (DÜRR, João. 2005; pág.11 - 13).

Quanto as práticas de qualidade o MAPA exige testes de mastite periodicamente, pois essa doença altera a qualidade do leite, causando prejuízo para todos, desde o produtor rural até o consumidor. O Plano Nacional de Controle de Resíduos (PNCR) monitora a presença de medicamentos veterinários e outros contaminantes no leite, o produto com resíduos de medicamentos veterinários não deve ser comercializado. Também o PNCR exige cadastramento de produtores com fins comerciais, analisa por meio de laboratórios a Contagem Bacteriana Total (CBT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) das quais variam de acordo com a região e os teores dos nutrientes, sendo os principais gordura, proteína e sólidos não gordurosos, com

valores recomendados de 3,0%, 2,9% e 8,4% respectivamente. (DÜRR, João. 2005; pág.16;20;26;29;33;37).

### **Definição de mastite e pontuação de gravidade.**

Segundo BELOTI et al., 2015, mastite trata-se de uma reposta do tecido glandular do úbere, seja elas: agressões físicas, mau manejo, reações alérgicas, metabólicas, presença de agentes infecciosos, falta de higienização das ordenhas ou mãos do profissional ativo, que podem atingir esse local por diferentes vias, gerando uma inflamação na glândula mamária. Lembrando que, existem dois tipos de mastite:

Mastite clínica e subclínica:  
 - Pode-se diagnosticar a mastite subclínica por meio de exames baseados no conteúdo celular do leite.  
 - Para detectar vacas com mastite clínica, os programas de monitoramento de saúde incluem a avaliação das características do leite, sinais de inflamação do úbere e sistêmicos da doença.

De acordo com Langoni et al. (2013), uma vez que o microrganismo tenha se instalado na glândula mamária, ele se nutre dos nutrientes contidos no leite, assim, multiplicando e atingindo números elevados. É uma enfermidade multifatorial, de múltipla etiologia, incluindo micro-organismos como bactérias, vírus, fungos, leveduras e algas.

Ressalta-se que a mastite bovina é, ainda, a doença que mais traz prejuízos econômicos ao produtor de leite atualmente, sendo de suma importância a utilização, na rotina da propriedade, de métodos que sejam capazes de identificar o início de uma contaminação ou confirmar a existência de uma infecção já instalada no animal.

### **Diagnósticos e Tratamentos Comuns utilizados atualmente.**

De acordo com Langoni et al. (2017), o impacto que a mastite causa sobre a qualidade do leite é reconhecido mundialmente e os programas para o seu controle devem ser entendidos como pilares de sustentação dos programas nacionais de qualidade do leite que devem ser pautados em medidas preventivas e na identificação e tratamento adequados dos animais infectados, sendo este um fator limitante e que apresenta maior dificuldade para ser atingido, devido à complexidade da etiologia das mastites, ao momento em que se diagnostica cada caso e aos aspectos de resistência microbiana (BARKEMA et al., 2006).

### **Identificação Microbiológica de Amostras de Leite na Propriedade.**

Segundo Vasconcelos (s/d, p.6), o exame microbiológico do leite de casos clínicos de mastite na própria fazenda, tem sido adotado em alguns países, em rebanhos grandes de vacas em lactação e de pessoal qualificado. Pequenos laboratórios são estabelecidos, e a cultura emprega métodos simplificados e meios de cultura pré-fabricados, de modo a se obter uma indicação do agente da mastite de 18 a 24 horas após a detecção do quadro clínico. O principal objetivo do uso deste sistema é estabelecer protocolos para tratamento dos casos clínicos e monitoramento de programas de controle de mastite.

### **Importância econômica do diagnóstico e tratamento imediato de mastite e o objetivo da técnica de culturas microbiológicas na propriedade.**

O impacto da mastite no rebanho leiteiro é dispendiosa e de grande discrepância, porém, é possível estimar-se a perda econômica considerando diversos fatores, tais como as quedas de produção, descarte do leite provocado pelas alterações em sua composição, perda funcional das glândulas mamárias podendo chegar a perda do animal (óbito), o gasto com medidas preventivas (antibiograma, vacinações e higiene), mais o gasto com tratamentos curativos e por último – e de maior relevância para a execução deste trabalho – o gasto com análises laboratoriais para diagnóstico e tempo para iniciar possíveis tratamentos (VASCONCELOS, p.6).

Diante toda a produção leiteira no Brasil, todos os requisitos de sanidade e qualidade apresentados é necessário tecnologias e práticas que facilitem a rotina do produtor. A técnica Cultura Microbiológica objetiva realizar a prevenção, o diagnóstico e o tratamento da mastite de forma quantitativa, eficaz e econômica. O produtor realiza a cultura microbiológica na própria propriedade, diagnostica a mastite, detecta o agente causador da doença e inicia o protocolo de tratamento, tendo seus custos e tempo investidos diminuídos.

Portanto o objetivo do nosso trabalho é descrever a técnica de controle microbiológico realizado na propriedade rural para diagnóstico preventivo da mastite subclínica e clínica através de um relatório técnico realizado na Fazenda Adriana no município de Valentim Gentil/SP.

## **2. JUSTIFICATIVA**

A mastite é considerada um dos principais fatores de risco para o sistema de produção leiteira, sendo responsável por perdas econômicas expressivas em países desenvolvidos, apesar das diversas pesquisas e medidas preventivas já estabelecidas, por isso, optamos pela Utilização de Culturas Microbiológicas na Propriedade. Além dos impactos negativos na indústria, a mastite causa perdas econômicas aos produtores de leite, redução da produção, piora da qualidade do leite, que gera penalidade no preço pago por litro de leite e descarte de leite com resíduos de antibióticos, em outros casos mais graves, ocorre o descarte de animais ou até mesmo o seu óbito. A mastite não está relacionada somente às perdas econômicas, mas também está associada com a saúde pública, devido à presença de agentes que podem transmitir doenças aos seres humanos, resíduos de antibióticos no leite, e à presença de bactérias resistentes que podem ser propagadas na comunidade.

A função primária da cultura microbiológica na fazenda é o diagnóstico da mastite clínica, que quando aplicada rotineiramente na fazenda permite a detecção do tipo de bactéria (principal agente causador) e sua classificação com precisão.

A técnica da cultura microbiológica na fazenda apresenta vantagens como à aplicação de um tratamento específico para cada vaca e a avaliação de eficiência da mesma, a diminuição da quantidade de leite descartado, leite que apresentam alta CCS (Contagem de Células Somáticas) e CBT (Contagem Bacteriana total) e também direciona um protocolo de tratamento com antibióticos específicos para a bactéria identificada na cultura de forma eficaz e econômica.

Em último plano, podemos esperar que o resultado a ser alcançado com a implantação da cultura microbiológica na fazenda, seja, a redução total ou parcial da mastite nas fazendas com o uso das culturas microbiológicas, pois a cada caso uma medida preventiva pode ser acrescentada à propriedade.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 GERAL**

Descrever o uso da Técnica de Culturas Microbiológicas na Fazenda Adriana, Valentim Gentil- SP, para Controle e Prevenção da Mastite Bovina.

#### **3.2 ESPECÍFICOS**

- Agendar a visita técnica na propriedade;
- Descrever o que são as Culturas Microbiológicas e as bactérias específicas;
- Listar os materiais utilizados para a coleta de amostras e para a cultura;
- Observar o manejo sanitário da ordenha antes, durante e após a coleta do leite;
- Notar a infraestrutura, os equipamentos exigidos para a instalação desta técnica, o percurso das amostras e por quem será realizada a cultura microbiológica;
- Descrever as medidas tomadas pela propriedade após os resultados de possíveis diagnósticos positivos da mastite e reconhecer os possíveis tratamentos, tanto para com mastite clínica quanto subclínica.

### **4. REVISÃO DE LITERATURA (DESCRIÇÃO TÉCNICA)**

#### 4.1 BOVINOCULTURA DE LEITE

Segundo Buarque et al. (2010, p 13), bovinocultura de leite é uma atividade zootécnica tradicional praticada há bastante tempo mundialmente e também em nosso país. Época em que o leite era retirado dos bovinos de forma arcaica (conhecido como tirar na mão) e não tinha um comércio com marketing, não tinha tecnologia, e nenhum laboratório no qual transmitisse segurança, e valores nutricionais daquele produto.

Segundo Buarque et al. (2010, p 14), os maiores produtores de leite bovino no mundo são os seguintes países:

(1º lugar) Estados Unidos da América; (2º lugar) Índia; (3º lugar) China; (4º lugar) Rússia; (5º lugar) Alemanha; (6º lugar) Brasil; (7º lugar) Nova Zelândia.

Somando a produção dos acima citados, totalizam 48% do leite mundial; E calculando a produção dos 20 países mais produtivos, acabam totalizando 74% do leite mundial. O comércio leiteiro mundial é denominado pela Comunidade Europeia e pelo EUA. (BUARQUE, et. al. p.14, 2010)

Segundo Buarque et al. (2010, p 15), o Brasil é o sexto produtor mundial de leite, com 1,3 milhões de produtores de leite e produção de 27,5 bilhões de litros/ano, movimentando R\$ 64 bilhões/ano. O leite fica entre os seis produtos mais importantes para a agropecuária, ficando à frente do café e arroz. Mesmo o Brasil estando em uma ótima colocação entre os produtores de leite, a pecuária não pode ser considerada como especializada, devido à grande heterogeneidade e pouca produção, e tem uma grande maioria de produtores que não usufruem da tecnologia.

De acordo com Diagnóstico da Produção e Consumo de Leite no Estado de São Paulo (2018), o Estado de São Paulo está com uma produção estável nos últimos 10 anos. Com consequência desse declínio, o estado paulista na produção brasileira, em 1996 ocupava a terceira posição e 2006 desceu para a quinta.

#### 4.2 DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA

De acordo com Moraes (2016, p.2) a **glândula mamária** é um órgão que corresponde a uma glândula sudorípara modificada que expele leite para a nutrição de seus filhos. Essas glândulas individuais formam uma estrutura que é chamada de úbere (MORAES, 2016, p.3). Ele se desenvolve em sua maior parte após o nascimento, e continua apresentando mudanças durante toda a sua vida reprodutiva (LEW, 2006, p.2).

Ela é considerada uma parte do sistema reprodutor, pois a lactação pode ser considerada a parte final da reprodução, podendo assim dizer que para a maioria dos mamíferos, quando ocorre um erro em amamentar, como em ovular, é também considerada uma falha em reproduzir (MORAES, 2016, p.2).

A glândula mamária é composta por basicamente dois tipos de tecidos, o epitelial ou parênquima mamário e o tecido adiposo ou tecido estromático. No começo nos três primeiros meses o desenvolvimento da glândula é isométrico (o crescimento é proporcional ao corpo), quando começa a **fase pré-púbere** ele começa a ser

alométrico (o crescimento da glândula é mais rápido do que o do corpo), e essa fase determina o futuro potencial de produção leiteira (LEW, 2006, p.2).

Na **puberdade** que ocorre antes do primeiro ciclo estral, o parênquima mamaria começa a crescer bem mais rápido, no decorrer dos ciclos estrais a glândula mamaria é estimulada pelos hormônios: progesterona e estrógeno, ocorrendo assim o desenvolvimento associado com o alongamento e a ramificação dos ductos mamários e desenvolvendo o sistema lóbulo alveolar (MORAES, 2016, p.6). Nas palavras de Lew (2006, p.2) o maior desenvolvimento da glândula ocorre no início da gestação até a fertilização, que é quando ela se torna funcional, isto é, produtora de leite.

Após a **concepção**, a célula epitelial mamaria completarão a sua diferenciação, logo após os três ou quatro meses de gestação, os ductos mamários começa a estirar, ao final do sexto mês pode-se observar um desenvolvimento no lóbulo alveolar, e normalmente a secreção começa durante a última fase de gestação que forma o colostro e no final da gestação a glândula mamaria já estará transformando-se em uma estrutura completa de células alveolares que sintetizam ativamente e secretam leite (MORAES, 2016, p.6).

### 4.3 LEITE

Segundo a Instrução Normativa Nº 62 (2011) entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo de ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas.

Há parâmetros de qualidade composicional (água, gordura, proteína, sólidos totais, açúcar, matéria gorda, densidade, acidez e extrato seco) que julgam o leite, se o mesmo porta qualidade ou não. Segundo Almeida (2013) o leite classificado de qualidade contém em torno de 87,6% de água, 12,4% de sólidos totais, 4,52% de açúcar (lactose), 3,61% de gordura e 3,28% de proteína (caseína) e de acordo com a Instrução Normativa 62 (IN-62) (2011) os requisitos físico-químicos são: de matéria gorda o mínimo de 3,0 g/100g, de densidade relativa a 15°C de 1,028 a 1,034 g/ml, de acidez em ácido láctico de 0,14 a 0,18 g/100ml e por fim, em extrato seco desengordurado o mínimo de 8,4 g/100g.

Em relação ao aspecto e cor, o leite é um líquido branco, opalescente e homogêneo, isento de sabores e odores estranhos.

O leite pode conter resíduos de substâncias como antibióticos, desinfetantes e pesticidas administradas aos animais ou usadas no ambiente da fazenda. Antibióticos podem ser detectados no leite após serem administrados pelas vias intramamária, intramuscular, intrauterina, oral e subcutânea. Os antibióticos são comumente usados para tratar mastite e outras infecções das vacas leiteiras (BRITO; FEITOSA; s/d. pag. 10)

### 4.4 Higiene

A IN-62 (2011) aprovou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite em quesito de higiene, em que foram estabelecidos os requisitos microbiológicos, físicos e químicos que o leite deve atender. Entre estes requisitos destacam-se a Contagem de Células Somáticas (CCS) e a Contagem Bacteriana Total (CBT) (ALMEIDA, 2013).

#### 4.5 CCS (Contagem de Células Somáticas)

Células somáticas são, segundo Brito e Feitosa (s/d. pag.6):

primariamente leucócitos ou células brancas do sangue (macrófagos, linfócitos e neutrófilos), que passam para o leite em resposta a uma agressão sofrida pela glândula mamária; como resultado da inflamação, as paredes dos vasos sanguíneos se tornam dilatadas e diversas substâncias do sangue passam junto com os leucócitos para o leite.

Os requisitos estabelecidos pela IN-62 para CCS (Contagem de Células Somáticas) são de no máximo 600.000 cs/ml (células somáticas por mililitro) (ALMEIDA, 2013).

As amostras de leite para detecção e contagem de CCS pode ser feito das seguintes maneiras:

- CCS de leite no tanque;
- CCS de vaca (amostra composta);
- CCS de vaca (amostra por quarto mamário);
- Contagem eletrônica:

Contagem Eletrônica de Células Somáticas (CECS) é o instrumento mais moderno e preciso de avaliação da saúde da glândula mamária. Envolve a coleta de amostras compostas de cada vaca individualmente e envio dessas amostras para laboratório especializado, onde são submetidas à avaliação por métodos fluoro métricos (RODRIGUES; 2009).

- CMT (California Mastitis Test):

reação de um detergente aniônico, que atua sobre as células somáticas presentes no leite, rompendo então suas membranas e liberando o material nuclear. A liberação do material nuclear dos leucócitos produz aumento da viscosidade, que caracteriza uma reação cuja interpretação depende da intensidade (RODRIGUES; 2009).

As CCS além de serem o resultado do processo infeccioso, compostas por leucócitos, que migram do sangue para o interior da glândula mamária, também são formadas por células de descamação do epitélio glandular (MESQUITA; et. al., s/d. pág. 3)

#### 4.6 CBT (Contagem Bacteriana Total)

A CBT (Contagem Bacteriana Total) avalia a qualidade microbiológica do leite, isto é, indicam falhas na limpeza dos equipamentos, na higiene da ordenha ou problemas na refrigeração do leite. Resultados de CBT inferiores a 20.000 ufc/ml refletem boas práticas de higiene (ALMEIDA, 2013).

Os requisitos estabelecidos pela IN-62 para CBT são de no máximo 600.000 ufc/ml (unidade formadora de colônia por mililitro) (ALMEIDA, 2013)

#### Contaminação Bacteriana No Leite

De acordo com Almeida (2013) os principais microrganismos encontrados no leite podem ser classificados nos seguintes grupos: psicotróficos, termodúricos e coliformes.

Os psicotróficos são comumente encontrados em água não tratada, solo e vegetais, e são introduzidos no leite como resultado da contaminação do equipamento de ordenha e do exterior do úbere e tetos. O gênero *Pseudomonas spp.*, *Bacillus* e *Staphylococcus* são os mais frequentes.

Os termodúricos são capazes de sobreviver à temperatura de pasteurização (63°C por 30 minutos ou 72 a 75°C por 15 a 20 segundos). Estão associadas a falhas persistentes de limpeza dos equipamentos de ordenha, rachaduras nos componentes de borracha, depósitos chamados de pedras de leite nas tubulações ou tetos muito sujos. Alguns exemplos são: *Micrococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.* e algumas espécies de *Streptococcus*.

E por fim as coliformes, que são encontrados nos dejetos dos animais, no solo e em água contaminada. Altas contagens de coliformes (acima de 50 ufc/ml) sugerem contaminação fecal de úberes e tetos sujos, deficiência na higiene da ordenha, falhas na limpeza dos equipamentos ou utilização de água contaminada na limpeza dos equipamentos. É principal exemplo: *Escherichia coli* (ALMEIDA, 2013).

Para evitar contaminações bacterianas nos leites recomenda-se: se tratando de refrigeração, permita refrigerar o leite em temperatura de 4° a 7°C no tempo máximo de 3h após o término da ordenha, independentemente de sua capacidade e se tratando do tempo transcorrido entre a ordenha inicial e seu recebimento no estabelecimento que vai beneficiá-lo (pasteurização, esterilização, etc.) deve ser no máximo de 48 horas segundo a Instrução Normativa 62° (2011).

#### 4.7 MASTITE

A mastite é a patologia que mais ataca rebanhos leiteiros, é uma inflamação na glândula mamária que é caracterizada por várias modificações patológica no tecido glandular e nos físico-químicos do leite. As alterações mais observadas no leite são: aparecimento de coágulos, presença de grande número de leucócitos e alteração de coloração. (PERES, ZAPPA, 2011, p.2). Segundo Atzel et. al (2016, p.2), ela é mais difundida nas espécies bovina, mas também ocorre em pequenos ruminantes e em búfalas.

Essa doença apresenta-se de duas formas, a clínica que são aparentes os sintomas e sinais de inflamação (rubor, aumento de sensibilidades ao toque e presença de flocos de leite ou grumos), e a subclínica que não apresenta sinais aparentes e necessita de testes de campo ou laboratório para seu diagnóstico, por exemplo, a contagem de células somáticas (CCS) que está diretamente ligada a essa doença (CANDIDO et. al, 2016, p, 1 e 2).

Os agentes etiológicos que causa a mastite são classificados em dois grupos: os contagiosos e os ambientais; os contagiosos se reproduzem dentro ou sobre a glândula mamária e a transmissão ocorre de animal para animal ou de teto para teto, principalmente nas ordenhas; e os ambientais se proliferam no ambiente onde os animais são criados e são contaminados no período entre as ordenhas (CANDIDO et. al, 2016, p.3). O principal causador de mastites nas diferentes regiões do Brasil é o gênero *Staphylococcus*. (CANDIDO et. al, 2016, p.6).

De uma forma mais resumida a mastite ocorre e se desenvolve em: primeiro o microrganismo infectante penetra o canal do teto se multiplica usando como

alimento o leite, depois ele chega ao seio lactífero dos ductos coletores e alvéolos, ele continua se multiplicando e isso ocasiona na atração de leucócitos, que origina na formação do edema e abscesso em alguns casos, e na maioria das vezes após a cura o tecido secretor glandular é trocado por tecido conectivo fibroso. (CANDIDO et. al, 2016, p, 2).

As lesões no tecido mamário causadas pela mastite reduzem a produção e secreção do leite pelas células secretoras do parênquima mamário, provocando alterações físico-químicas e microbiológicas no leite (MESQUITA; et. al., pág. 2).

Deve-se monitorar sempre o estado de saúde do úbere (TOZZETTI; BATAIER; ALMEIDA; 2008).

Após o aparecimento da mastite, o controle é um método muito eficaz para a diminuição de casos, mortes, prejuízos e perdas econômicas (DIAS, 2007, p.4).

Segundo Simões e Oliveira (s/d. pág. 14 e 15) os três princípios básicos para o controle da mastite baseiam-se na diminuição da exposição das tetas aos patógenos, aumento da resistência imunológica e antibioticoterapia.

Para efeito de referência, Simões e Oliveira (s/d. pág. 14 e 15) recomenda que o índice desejável de casos na fazenda deve ser inferior a 1%. Calcula-se da seguinte forma:

$$\frac{(\text{casos de mastite clínica} \backslash \text{dia do mes}) \times 100}{\text{N}^{\circ} \text{ medio de femeas em lactação}} = \% \text{ de mastite clínica no mês}$$

Nas palavras de Dias (2007, p.4), se colocarmos na prática é mais fácil a prevenção da mastite contagiosa do que da ambiental, pois na ambiental as bactérias geralmente se manifestam em rebanhos bem manejados, mas com CCS baixa; diz também que sem as estratégias de controle pode-se resultar em quedas significativas na CCS e em seguidas surtos de mastite clínica aguda.

#### 4.7.1 métodos para o controle e profilaxia:

- **Secagem das vacas**

De acordo com Rodrigues (2009) a terapia da vaca seca possui as seguintes vantagens em relação à terapia na lactação: taxa de cura mais elevada do que durante a lactação, pode ser empregada, com segurança, uma dose elevada de antimicrobianos, o tempo de retenção do antibiótico no úbere é maior, é baixa a incidência de novas infecções durante o período seco, as lesões teciduais consequentes à mastite podem-se regenerar antes do parto e menor risco de contaminação do leite com resíduos de antimicrobianos.

Tanto o início quanto o final do período seco, são os períodos de maior risco para o desenvolvimento de infecções intramamárias, pois nesses períodos o úbere se torna mais susceptível (PASSERINI, 2017). Essa prática consiste na aplicação de antibiótico intramamário de longa ação em cada teta no dia da secagem da vaca (PASSERINI, 2017)

O uso de antibiótico no momento da secagem é uma prática utilizada para eliminar infecções (SILVA, 2014); as primeiras semanas pós-secagem, a taxa de risco para novas infecções é muito alta (SILVA, 2014).

- **Medicamentos**

De acordo com Brito e Feitosa (pag. 11), uma série de cuidados devem ser tomadas quando se administram antibióticos às vacas em lactação para que o leite com resíduos não seja comercializado, sendo: ler instruções contidas nas bulas dos antibióticos e segui-las cuidadosamente, ordenhar as vacas tratadas por último, descartar o leite dos quatro quartos mamários, pois o antibiótico aplicado em um quarto é absorvido pela corrente sanguínea e secretado no leite dos quartos não-tratados.

Há também a necessidade de respeitar rigorosamente o prazo de retirada do leite do consumo para cada produto utilizado, pois com o uso de antibióticos tanto por via intramamária quanto sistêmica, o leite do animal tratado somente poderá ser destinado à alimentação humana após o prazo mínimo de carência estabelecido pelo fabricante na bula (RODRIGUES, 2009)

Obs.: Antimicrobianos que não trazem esta informação (prazo de carência) não devem ser usados para tratamento de vacas em lactação.

- **Aumento da resistência (por nutrição):**

Devem-se selecionar as vacas naturalmente mais resistentes, proporcionando-as o fornecimento de alimentação equilibrada (SILVA, 2014).

É possível oferecer barreiras físicas, como: epitélio (vitamina A e Zinco), esfíncter (Calcio) e o tampão de queratina (vitamina A e Zinco). Adquirir Imunidade humoral, como produção de anticorpos; com alimentos energéticos e à base de proteína, cobre, zinco e selênio. E também, a imunidade celular, com a ingesta de cobre, zinco, selênio e vit. E. (SILVA, 2014).

- **Pré e pós-dipping**

De acordo com Almeida (p.11, 2013), o pré-dipping é a imersão de cada teta em solução antisséptica apropriada, deixada por agir por 30 segundos antes da secagem (deve ser feita com papel toalha descartável, um para cada teta) e o pós-dipping a imersão de cada teta em solução antisséptica apropriada logo após o término da ordenha.

Após a imersão dos tetos, os animais devem ser mantidos em pé pelo tempo suficiente para que o esfíncter da teta, dilatado pela sucção da teteira, volte a se fechar. Para isso, recomenda-se oferecer alimentação no cocho após a ordenha (IN-62, 2011).

- **Manejo adequado do animal**

A condução dos animais para a ordenha deve ser feita de forma calma, pois situação de stress desencadeia a liberação de adrenalina, e este inibe a liberação de ocitocina prejudicando a ejeção do leite, levando assim a retenção de leite (leite residual), propiciando a proliferação de bactérias (SILVA, 2014).

- **Manejo dos equipamentos (regulagem das teteiras e higiene)**

A má regulagem do vácuo/pressão das teteiras no momento da ordenha condensa a saúde dos mesmos; em relação ao excesso de vácuo, pode causar alterações no teta, como lesão de esfíncter e hiperqueratose; enquanto que, a deficiência de vácuo, pode ter como consequência o leite residual. Ambos (excesso e carência de pressão) são fatores predisponentes para o aparecimento de mastite (SILVA, 2014). Vale ressaltar, que todo equipamento, após a utilização, deve ser cuidadosamente lavado e sanitizado, de acordo com Procedimentos Padronizados de Higiene Operacional (PPHO). Para o equipamento de ordenha, devem ser seguidas as recomendações do fabricante quanto a desmontagem, limpeza e substituição de componentes nos períodos indicados (SILVA, 2014).

Para um controle da mastite clínica é necessário um monitoramento rígido sobre a higienização dos locais por meio da limpeza e desinfecção dos: pastos, estábulos, sala de ordenha e evitar o acúmulo das fezes, água parada, esterco ou lama. Esses são métodos que podem ser usados tanto na mastite contagiosa quanto na ambiental (COSER; LOPES; COSTA; 2012, p.12).

É de suma importância que o produtor tenha consciência do “porquê” ele deve controlar a mastite em sua propriedade, então levemos em consideração o custo, o déficit na produção, o descarte – tanto do animal quanto de leite –, a alteração na composição e como isso afeta o processamento.

A elevação do custo para manutenção da vaca que não retribui no quesito produção leiteira, está diretamente relacionado ao “o que” a mastite atrai, sendo: redução na produção de leite, aumento dos custos com medicamentos e com o médico veterinário, o descarte do leite, além do comprometimento na qualidade do leite (SILVA; pag.26).

A produção láctea, dos quartos doentes pode ser aproximadamente 20% inferior ao valor dos quartos sadios (RODRIGUES; et. al., 2018). A diminuição é devido à lesão das células epiteliais secretoras da glândula mamária afetada, e consequente diminuição da produção e secreção do leite no quarto como um todo (BRITO; FEITOSA; pag.6 e 7). O aumento da permeabilidade vascular também provoca diminuição da quantidade de leite produzido por passagem da água para o compartimento vascular (SILVA, pag.26). Estimam que a perda na produção possa variar de 10 a 30% da produção leiteira por lactação (SILVA, 2014).

O leite com elevada CBT representa risco para a saúde do consumidor, pelo potencial de veiculação de micro-organismos e toxinas (MESQUITA, et. al., pág. 3), sendo necessário descartá-lo para o bem a saúde pública.

O descarte dos animais doentes da fazenda deve ocorrer pois gera aumento no custo de produção, com elevados custos de tratamento, descarte do leite, e ainda é fonte de contaminação para vacas sadias, sendo assim inviável sua permanência na propriedade.

Recomenda-se o descarte de vacas com mastite crônica ou mais de três casos clínicos na mesma lactação (TOZZETTI; et. al., 2008)

Sabe-se que a alta CCS no leite não consiste em fator de risco para a saúde do consumidor, uma vez que os patógenos são destruídos no processo de pasteurização. Porém, as enzimas microbianas não são destruídas neste processo e permanecem nos produtos lácteos (RODRIGUES,2009).

As bactérias causam degradação das proteínas e gordura do leite, com consequentes alterações no sabor e odor e até mesmo a redução no rendimento dos derivados. As bactérias resistem à pasteurização porque (1) suportam temperaturas mais altas (menos de 100° C) ou (2) produzem esporos que são formas de resistência contra condições adversas. Como sobrevivem à pasteurização, podem reduzir o tempo de prateleira do leite (BRITO; FEITOSA; pag.6)

Os efeitos de alta contagens de células somáticas na fabricação de derivados são muito significativos. O tempo de coagulação é retardado e a redução da caseína leva à perda no rendimento. Outras alterações podem ser observadas segundo Brito e Feitosa (pag. 6), onde: leite em pó com gosto de queimado ou outros sabores estranhos, o queijo com aumento do tempo de coagulação, diminuição da firmeza do coágulo e queda no rendimento, os produtos fermentados com inibição do crescimento das culturas lácteas e a manteiga com diminuição do rendimento e aumento da rancificação.

O leite é fonte de proteínas, lipídeos, carboidratos, minerais e vitaminas, sendo assim, é considerado um dos alimentos mais vulneráveis a alterações físico-químicas e susceptível a deterioração por microrganismos, que levam a modificações físico químicas e organolépticas, que limitam a durabilidade do leite e seus derivados, além de problemas econômicos (KOZERSK; et. al., 2017).

Segundo Silva (2014), a infecção no úbere provoca mudanças nas concentrações tanto dos principais nutrientes (proteína, gordura, lactose), quanto de minerais e enzimas.

#### **4.7.2 principais impactos da mastite no leite:**

- **Impactos da mastite sobre a proteína do leite**

Em leite mastítico ocorre aumento na concentração de proteínas de origem sanguínea e conseqüentemente redução de caseína, resultando em alterações mínimas na concentração da proteína total do leite (SANTOS; FONSECA; 2007). Isso ocorre porque quando a CCS se encontra elevada, a síntese de proteínas verdadeiras, principalmente da caseína, é reduzida, pois o tecido secretor encontra-se comprometido. Ou seja, o aumento da quantidade de proteína não láctea no leite de vacas com mastite se deve ao influxo de substâncias do sangue relacionadas com o processo inflamatório (RODRIGUES; et. al., 2018). E ainda segundo RODRIGUES (2018), a caseína pode diminuir em 6 a 18%.

- **Impactos da mastite sobre a gordura do leite**

O teor de gordura apresenta resultados variáveis porque com a inflamação da glândula mamária ocorre redução da capacidade de secreção de gordura pelos alvéolos, ação enzimática de lipase de origem leucocitária, e lipase lipoprotéica presente no epitélio secretor (SILVA, 2014).

Para estar de acordo com a IN-62 (2011), o teor mínimo de gordura deverá ser de 3,0%.

- **Impactos da mastite sobre a lactose**

A redução da síntese de lactose se deve às lesões ocorridas nos alvéolos, podendo ainda sofrer interferência de outros fatores como a passagem de lactose para o sangue (SANTOS, 2014). A lactose pode diminuir em 5 a 20% (RODRIGUES; et. al., 2018).

- **Impactos da mastite sobre os nutrientes**

Possível observar a redução de cálcio, fósforo e potássio, enquanto que as concentrações de sódio e cloro aumentam (RODRIGUES; et. al., 2018)

- **Proteólise e Lipólise**

Quando a contagem bacteriana do leite é elevada, os microrganismos psicrotóxicos produzem proteases e lipases intra e extracelulares termorresistentes que são liberadas no leite e contribuem de maneira significativa para a degradação de proteínas e gorduras. Um aumento da atividade proteolítica resulta em maior degradação de proteínas, produzindo pequenos peptídeos, os quais podem caracterizar o aparecimento de sabores amargo e adstringente no leite. O principal substrato que sofre proteólise no leite é a caseína, devido à sua alta concentração no leite e sua alta suscetibilidade. A lipólise resulta da ação de lipases naturais e ou microbianas, que tem a propriedade de hidrolisar os triglicerídeos da gordura, desta forma, liberando os ácidos graxos de cadeia curta

como butírico, caprótico, caprílico e cáprico, que são os principais responsáveis pelo aparecimento de odores desagradáveis no leite (RODRIGUES; et. al., 2018)

Ou seja, os grupos de bactérias, em sua maioria, produzem proteases e/ou lipases mesmo em temperaturas de refrigeração. As proteases e lipases hidrolisam, respectivamente, a proteína e a gordura do leite, que provocam alterações de sabor e odor (rançoso e amargo), redução na vida de prateleira dos produtos lácteos, redução no rendimento de queijos por perda de consistência na formação do coágulo e gelatinização de leite UHT (ALMEIDA, 2013).

#### 4.8 CULTURA MICROBIOLÓGICA NO CONTROLE E PREVENÇÃO DA MASTITE

Segundo Vasconcelos (s/d, p.1), o principal objetivo do diagnóstico microbiológico da mastite é oferecer resultados rápidos e seguros ao veterinário, para que ele possa identificar problemas do rebanho e tomar decisões a respeito de casos individuais.

##### Tipos principais de bactérias e outros agentes

A mastite bovina pode ser causada por uma grande variedade de agentes, incluindo bactérias, micoplasma, leveduras, fungos e algas. Embora mais de 137 espécies, subespécies e sorotipos de microrganismos já tenham sido isolados de infecções da glândula mamária bovina (Watts, 1988), a maioria das infecções é causada por bactérias. Dentre as bactérias, um número limitado, dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* e do grupo dos coliformes causa a maior parte das infecções.

Segundo Vasconcelos (s/d, p.1), considerando a fonte de infecção, os agentes da mastite são classificados em **ambientais** [ex.: *Escherichia coli*, coliformes, *Streptococcus uberis*, *Enterococcus* spp, *Streptococcus equinus* (anteriormente *S. bovis*) e outros *Streptococcus* do ambiente] e **contagiosos** (ex.: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma*, 2 *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus* *coagulase*-negativos). Outra classificação divide os agentes da mastite em patógenos primários e secundários. Os **patógenos primários** incluem *S. agalactiae* e outras espécies de *Streptococcus*, *S. aureus* e *Mycoplasma* spp. Os **secundários** incluem *C. bovis* e *Staphylococcus* *coagulase*-negativos.

A aplicação deste conhecimento relacionado à origem do microrganismo e a importância de cada microrganismo na patogênese da doença é de relevância para a realização da cultura e identificação dos agentes da mastite. Enquanto para alguns organismos (ex.: *S. agalactiae*) é fundamental a identificação da espécie, para outros, é suficiente caracterizar o gênero ou o grupo a que eles pertencem (ex.: coliformes). De modo semelhante, é necessária a aplicação de testes para a correta identificação de *S. aureus* (*coagulase*-positivo) para diferenciar esse agente do grande número dos *Staphylococcus* *coagulase*-negativos. Um diagnóstico correto é imprescindível para se aplicar medidas diferenciadas de controle e sugerir alterações a respeito do manejo do rebanho (Vasconcelos s/d, p.2).

##### Como fazer a coleta e Amostragem

De acordo com Vasconcelos (s/d, p.2), Devido à grande variedade de patógenos que podem causar mastite, é essencial, para o diagnóstico seguro e correto, que todas as amostras submetidas para exame laboratorial sejam coletadas assepticamente, e em frascos estéreis. A contaminação das amostras de leite, por

microrganismos localizados no canal ou orifício dos tetos, ou por microrganismos do ambiente, é um problema para o diagnóstico.

De acordo com o autor acima, antes de coletar a amostra, deve-se descartar os primeiros jatos de leite e fazer a antissepsia dos tetos com algodão embebido com álcool a 70%, iniciando-se pelos mais distantes. Quando os tetos estiverem secos, inicia-se a coleta de leite pelos mais próximos. Imediatamente após a coleta, as amostras devem ser colocadas em recipientes com gelo (temperatura 4-5 oC) e mantidas nestas condições por até 24 horas até serem entregues no laboratório.

Segundo o mesmo autor, amostras que permanecem mais de 24 horas à temperatura ambiente ou na geladeira não devem ser utilizadas para diagnóstico bacteriológico. A refrigeração é importante para impedir o crescimento de contaminantes, pois as diferenças existentes, no tempo de crescimento entre gêneros e espécies de microrganismos, podem permitir que a população de um contaminante sobreponha a do patógeno de interesse.

Caso não se possa enviá-las para o laboratório neste período, pode-se mantê-las congeladas por períodos curtos de até quatro semanas antes do exame. O congelamento pode afetar o isolamento de *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* e de espécies de *Nocardia*, mas não interfere com o isolamento de *S. aureus* e estreptococos, incluindo *Streptococcus agalactiae*, 3 *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* após quatro, oito e 16 semanas (Schukken et al. 1989; Oliver et al. 2004). No laboratório, deve-se examinar primeiro o aspecto de cada amostra e, em seguida, proceder à cultura (Vasconcelos s/d, p.2.3).

### Os tipos de placa e o conteúdo da cultura.

De acordo com MilkPoint (2018), os processos de inoculação e interpretação vão depender do tipo de placa de ágar utilizada. A placa mais utilizada é a **placa bipartida**, onde há presença de dois meios de cultura, sendo um deles seletivos para crescimento apenas de bactérias gram negativas. Portanto, nesta placa pode-se observar três resultados gerais:

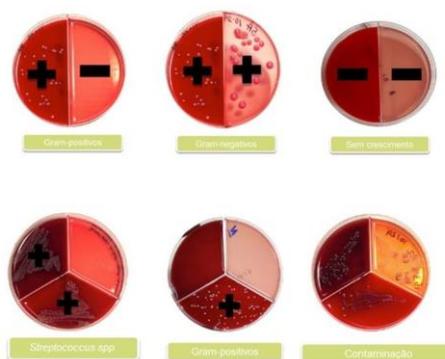
- Sem crescimento (negativo);
- Bactéria Gram-Positiva (crescimento em apenas um dos meios, o não seletivo);
- Bactéria Gram-Negativa (crescimento em ambos os meios).

Também pode-se fazer o uso de placas tripartidas, ou seja, com um ágar a mais. Geralmente, este ágar adicional é um meio seletivo para o crescimento de *Streptococcus* spp.

Mais recentemente, também foi desenvolvido **placas tripartidas** para diagnóstico, além do grupo de bactérias (gram-positivo, gram-negativo, ou *Streptococcus* spp.), também de algumas bactérias específicas, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, entre outras, (MilkPoint, 2018).

**Figura 1** – Modelo geral de interpretação de resultado microbiológico em placas bi e tripartidas.

Figura 1. Modelo geral de interpretação de resultado microbiológico em placas bi e tripartidas



Fonte: Milk Point, Grupo Apoiar, 2018

#### 4.9 Cultura microbiológica na fazenda.

Segundo Vasconcelos (s/d, p.6), o exame microbiológico do leite de casos clínicos de mastite na própria fazenda tem sido adotado em alguns países, em rebanhos com grande número de vacas em lactação e pessoal capacitado. Pequenos laboratórios são estabelecidos, e a cultura emprega métodos simplificados e meios de cultura pré-fabricados, de modo a se obter uma indicação do agente da mastite 18 a 24 horas após a detecção do quadro clínico. O principal objetivo do uso deste sistema é estabelecer protocolos para tratamento dos casos clínicos e monitoramento de programas de controle de mastite.

Os protocolos de tratamento adotados consideram o patógeno envolvido e a severidade dos sintomas clínicos. Os casos clínicos com sintomatologia severa e comprometimento sistêmico são tratados imediatamente. Aqueles que apresentarem sintomatologia moderada e leve são separados e tratados ou não, de acordo com o resultado da cultura (Nesser et al. 2006; Godden et al. 2007). São tratados os casos em que houver crescimento de bactérias Gram-positivas, e não se recomenda tratamento quando não houver crescimento bacteriano, ou quando se detectam bactérias Gram-negativas. Os rebanhos que adotaram a cultura dos casos clínicos na fazenda argumentam que esse procedimento contribuiu para a redução do uso de antimicrobianos, sem reduzir a efetividade do tratamento e, conseqüentemente, reduziu os dias de descarte de leite devido ao tratamento (Nesser et al., 2006; Ruegg et al. 2009).

Um aspecto importante na cultura do leite na fazenda é a obtenção da amostra. Se há crescimento de diversos tipos de microrganismo, a amostra é considerada contaminada e não se pode decidir sobre o tratamento considerando o crescimento obtido. De modo semelhante ao exame tradicional, a cultura do leite na fazenda depende do treinamento de pessoal para a coleta de amostras de leite para evitar a contaminação com microrganismos do ambiente. Os procedimentos adotados na fazenda necessitam de supervisão de pessoal capacitado para monitorar a qualidade dos dados e o uso apropriado das informações obtidas (Sears et al. 2003).

## 5. METODOLOGIA

## 5.1 MONOGRAFIA

Esse trabalho consiste em um relatório técnico que teve como base uma visita técnica realizada em uma propriedade no município de Valentim Gentil-SP, a Fazenda Adriana, um local que tem como foco de produção a Produção Leiteira no Sistema *FreeStall*, e a Produção de Feno e Pré-secado,

A visita técnica foi feita com base em três etapas, onde realizamos a coleta destes dados através de gravação de áudios, fotografias e vídeos, baseados em algumas perguntas elaboradas pelo grupo e pelos orientadores:

- **Conhecimentos Gerais da Fazenda e do Tema:** Produção alvo na Propriedade, área do local, funcionários, gerenciamento...;
- **Instalações, Animais e Nutrição:** Instalações e suas funções, quantidade de animais, espécies, raças, disponibilidade de alimentos e água, modo de vida e convivência dos animais...;
- **Manejo e Teste microbiológico:** manejo diário dos animais e instalações, aplicação do Bem-Estar dos animais, fiscalização do leite, teste das culturas microbiológicas, equipamentos e maquinário para a determinação da mastite, medidas preventivas e de tratamento....

## 5.2 RELATÓRIO TÉCNICO

**Nome da propriedade: Fazenda Adriana**

**Gerente da propriedade: Gilberto Vaneti**

**Município: Valentim Gentil, SP**

### **Atividades agrícolas e pecuárias realizadas na propriedade**

No âmbito agrícola, a fazenda produz feno e pré secados para comercialização, onde 10% do produzido é direcionado para o consumo do próprio gado leiteiro, a qual é a atividade principal da propriedade, a produção de leite.

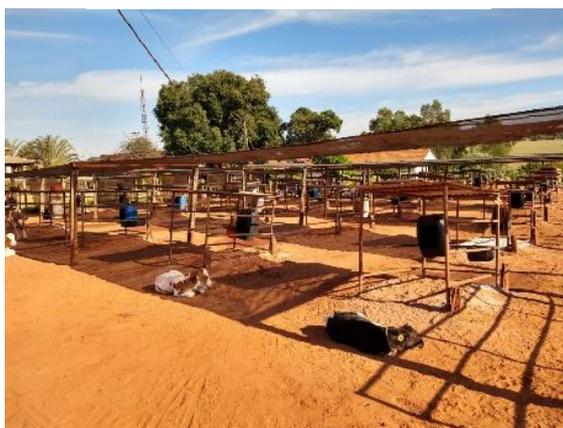
### **Infraestrutura e instalações das atividades**

Na propriedade há barracões para armazenagem de pré secados; *FreeStall* que acomoda o gado; bezerreiros para as bezerras recém-nascidas; pré ordenha (“sala de espera”) climatizada; ordenha; sala do tanque de refrigeração do leite; sala para mantimentos, colostros em pó, anotações, entre demais; casas dos funcionários; e por fim o escritório.

*Figura 2. Armazenamento de feno e pré secado*



*Figura 3. Bezerreiros*



*Fonte: próprios autores*

*Figura 4. Bezerreiros*



*Fonte: próprios autores*

### **Sistema de produção adotado e manejo dos animais**

Perante o sistema intensivo, as vacas se alimentam do feno produzido na própria fazenda e rações balanceadas de acordo com a necessidade/estágio da vaca (pré-parto, pós-parto, lactação, etc.) especificamente; são usados farelos de soja, cascas da soja, “flexyPRO” (DDGS do milho, subproduto decorrente da extração do álcool), “by-pass” (digerida pós-ruminalmente) e milho.

Quando essa vaca vai iniciar a lactação dela, ela entra num lote chamada pós-parida que tem uma dieta específica para o caso dela, uma dieta mais proteica e com mais fibra para forçar a ruminação;

Na fazenda é feito IATF e Inseminação Artificial; primeiramente é feito a IATF, elas parem e são inseminadas com cio observado. No pós-parto, após 5 dias é tirado o sangue para medir os corpos cetônicos (prevenir uma possível cetose subclínica, impedindo a perda de apetite) e a quantidade de cálcio no sangue.

Na fazenda para as bezerras é usado leite em pó, na proporção de 1:6, ou seja, de 1 kg de leite para 6 litros de água. Porém, para os bezerros que estão com diarreia eles diminuem o líquido e então aumenta o leite que é sólido, chamado de leite especial; o colostro para dar as bezerras (em menos de duas horas depois do parto) deve estar acima de 25 (numa escala de 10 a 30, no refratômetro de Brix) o que equivale a 30% de Brix, considerado um excelente colostro. Após 24 horas de ter dado colostro para os bezerros eles tiram o sangue dessa bezerra para fazer uma análise para ver se ela foi bem colostrada.

Os ventiladores servem para deixar a temperatura de suportável para fresca; a cada 1 (um) minuto jatos de água revezam as atividades e os ventiladores funcionam constantemente. A manutenção do resfriamento delas, serve para mantê-las frias; pois as comidas delas são muito pesadas e essas vacas são submetidas a comê-las o dia todo. O metabolismo fica excessivo e sua temperatura interna aumenta demasiadamente.

*Figura 5. Ventiladores*



*Fonte: próprios autores*

*Figura 6. Termômetro de ambiente*



*Fonte: próprios autores*

Antes da ordenha as vacas ficam 5 minutos em um jato de água e depois um minuto com os ventiladores, tendo que literalmente passar frio; esse método só não é aplicado no inverno quando a temperatura está abaixo de 2°C, o que não ocorre no país. As vacas passam 3 vezes pela ordenha diariamente. As 4:00 (quatro horas) da manhã; ao 12:00 (meio-dia); e as 20:00 da noite (oito horas).

*Figura 7. Ordenha*



*Fonte: próprios autores*

### **5.2.1 MASTITE NA FAZENDA**

#### **Índice de ocorrência de mastite na Propriedade**

O índice de ocorrência na fazenda é baixo. Diminuiu muito depois da adoção da técnica de culturas microbiológicas.

#### **Métodos de prevenção, diagnóstico e tratamento adotados na fazenda**

Na prevenção a fazenda mira em boa colostragem, boa nutrição e hidratação, higiene do ambiente e das instalações, uso de luvas pelos funcionários da ordenha, pré e pós-dipping e também impedem que a vaca se deite enquanto o esfíncter ainda está dilatado (impedindo a contaminação por meio de uma interação com umidade (da cama ou da ponta do teto por gotejamento de leite) a bactéria entrará pelo teto, alcançará a glândula mamária e se alimentando do leite se tornará uma infecção), fornecendo comida ao cocho e água.

Figura8. Produtos de limpeza na ordenha



Fonte: próprios autores

Figura 9. Solução de limpeza e higienização



Fonte: próprios autores

Os métodos de fiscalização e diagnóstico são feitos pelos colares da CALMED, que monitora o ócio, a ruminação e a atividade das vacas 24 horas, sendo possível perceber possíveis patologias por distúrbios/mudanças comportamentais. Após a detecção de uma possível patologia é puxado uma anamnese do animal e em seguida feito o teste CMT (California Mastitis Test); caso o CMT aponte para uma infecção ainda no estágio subclínico (leite coalhado e CCS alta) é feita amostragem e levado para realizar a cultura microbiológica, técnica de tratamento da mastite.

Figura 10. Colares de monitoramento



Fonte: próprios autores

Dependendo de qual bactéria seja, espera-se para ver se a vaca não está se curando sozinha (fortalecendo ainda mais o sistema imunológico dessa vaca, que vão diminuindo o grau de mastite a cada dia), se não apresentar melhoras é iniciado tratamento com antibióticos, normalmente os antibióticos são dados em 12 em 12 horas ou 16 em 16 horas;

## 5.2.2 CULTURA MICROBIOLÓGICA NA FAZENDA

### Exigências requeridas para a implantação do laboratório e qualificação de funcionários para atuar

Não é necessário um laboratório, mas sim todos equipamentos bem montados e limpos. Os equipamentos são de armazenamento, amostragem e exame.

Para armazenamento são: geladeira, guardando as placas (ainda lacradas), os tubos de ensaio (esterilizados) e os lenços umedecidos de álcool;

Figura 11. Tubos de ensaio esterilizados



Fonte: próprios autores

Figura 12. Lenços umedecidos



Fonte: próprios autores

Para amostragem são: lenços de álcool para desinfecção dos tetos no momento da ordenha e tubos de ensaio para a coleta de uma parte do leite coletado para amostragem; e

Para o exame são: placas (secadas e abertas), tubos de ensaio (esterilizados) e estufa (composta por uma resistência e um termômetro que estabiliza a temperatura da estufa em 34,5 °C).

Figura 13. Estufa



Fonte: próprios autores

Figura 14. Resistência e termômetro acoplados à estufa.



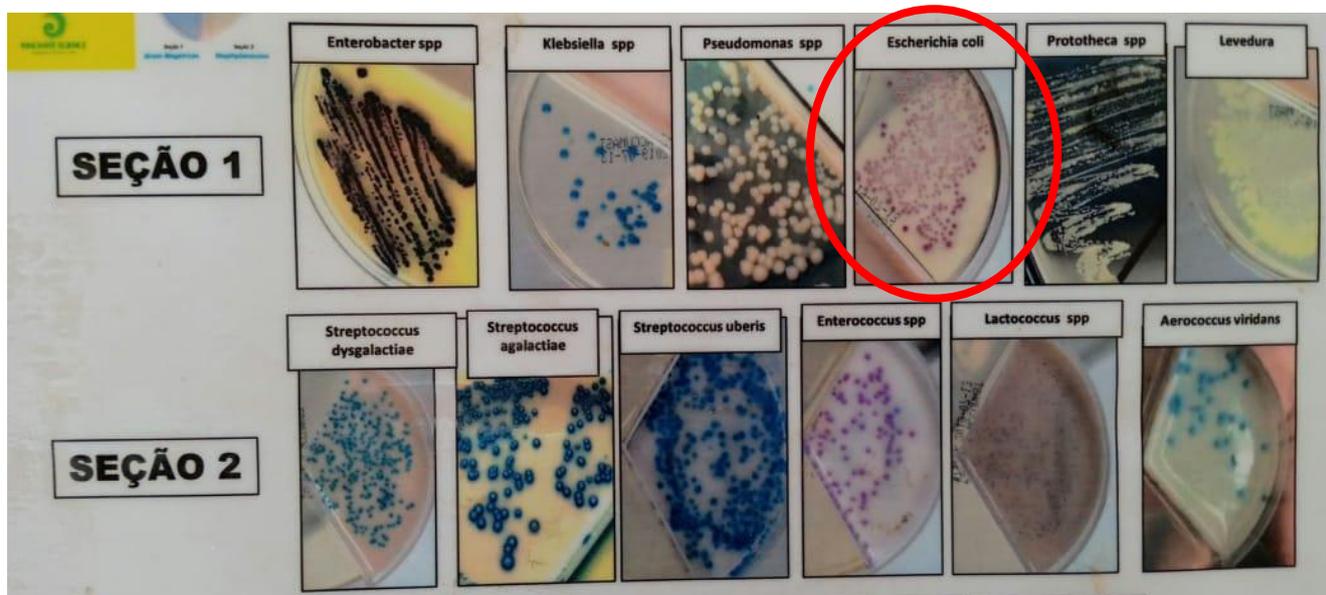
Fonte: próprios autores

Os funcionários que trabalham nessa área da fazenda fizeram um curso para a realização da cultura microbiológica.

### Medidas adotadas para animais positivos para mastite clínica e subclínica

Quando a vaca apresenta um quadro infeccioso agudo em que já apresenta o inchaço no quarto do teto afetado, que está com problema de locomoção e um quadro de desidratação, normalmente, está contaminada por uma bactéria ambiental chamada *Escherichia coli*, que tem poder de crescimento/proliferação muito alto dentro do úbere, infecciona de uma certa forma a glândula mamária que começa mandar toxinas para corrente sanguínea e então deve-se entrar com medicamento intramamário e com antibiótico sistêmico, via intravenosa, na corrente sanguínea para cercar essa infecção se não a mesma pode se tornar uma infecção generalizada, parando os órgãos.

Figura 15. *Escherichia coli* demonstrada na placa de culturas microbiológicas



Fonte: próprios autores

Agora, quando ainda está subclínica, apresenta grumos (grau 1, grau 2 e grau 3) e/ou CCS alta, é realizado o exame das culturas microbiológicas.

### **Como funciona a coleta das amostras na fazenda**

O ordenhador faz o teste da caneca, se deu os grumos no leite, ele esteriliza o teto, tira o leite, pega uma porção do leite com o frasco esterilizado e leva para a sala que irá realizar a técnica.

O leite dos tubos de ensaios é passado em cotonetes e assim, os cotonetes são passados nas placas e deixados 24hrs na estufa, após esse período já é possível observar o crescimento de cultura das bactérias causadoras da infecção daquela respectiva vaca.

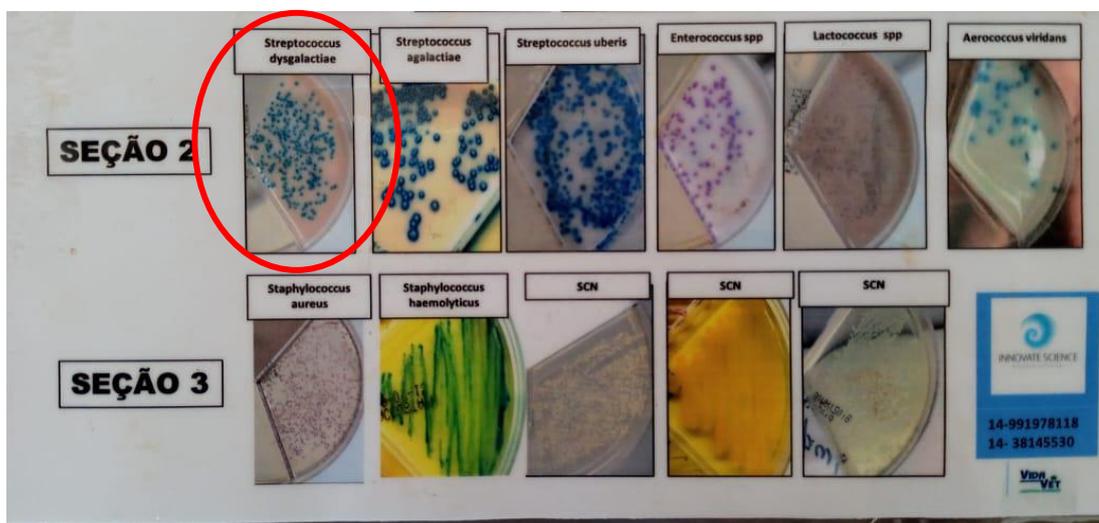
*Figura 16. Tubos de ensaio com cotonete para realização do exame*



*Fonte: próprios autores*

É importante os tubos de ensaio serem esterilizados, pois pode dar um falso positivo, isso é, positivo para uma contaminação com bactéria que não estava no teto (ex.: *Staphylococcus aureus* que só se encontra na mão do ordenhador e/ou ambiente).

Figura 17. *Staphylococcus aureus* demonstrada na placa de culturas microbiológicas



Fonte: próprios autores

## Resultados visuais esperados para uma amostra de leite contaminada

Amostras de leite contaminadas:

Figura 18. Exemplos de amostras contaminando as placas (positivas)



Fonte: próprios autores

Amostras de leite não contaminadas:

Figura 19. exemplo de amostra não contaminada (negativas)



Fonte: próprios autores

### **Diferenças/Resultados observados depois da aplicação da cultura microbiológica**

Há 3 anos é utilizada a prática na propriedade, e houve uma diminuição drástica do uso de antibióticos, em média 40%. Pois, antes quando a vaca apresentava sintomas ou apresentava grumos era dado antibióticos, o uso indecente de antibióticos destrói as bactérias causadoras da doença, porém acabam com sistema imunológico da vaca também.

### **Tipo de placa utilizada**

A placa de três sessões.

Figura 20. Gerente da fazenda manipulando placa de três sessões.



Fonte: próprios autores

### **Microrganismo mais comuns encontrados na propriedade**

Das bactérias gram-negativas são E. coli, Pseudomonas; e

Das gram-positivas são *Streptococcus agalactiae* e *Enterococcus*.

Figura 21. Tabela de leitura das placas contaminadas com respectivas bactérias comuns da fazenda



**Tabela de leitura da placa**

ATENÇÃO: CONSIDERAR A NUMERAÇÃO COMO INDICADA NO LADO E NÃO A IMPRESSA NAS COSTAS DA PLACA

SETE DA PLACA ABERTA

SETE 1  
SETE 2  
SETE 3

Seção 1 : Gram Negativos				Seção 2 : Streptococcus				Seção 3 : Staphylococcus			
PLACA	COR	RESULTADO	AÇÃO	PLACA	COR	RESULTADO	AÇÃO	PLACA	COR	RESULTADO	AÇÃO
	Rosa	<i>E. coli</i>	Observar		Azul	<i>St. dysgalactiae</i>	TRATAR		Rosa	<i>S. aureus</i>	Segregar / descartar
	Azul	<i>Klebsiella spp</i>	TRATAR		Azul	<i>St. agalactiae</i>	TRATAR		Azul	<i>S. haemolyticus</i>	TRATAR
	Amarela	<i>Pseudomonas</i>	Observar		Azul escuro	<i>St. uberis</i>	TRATAR		Crema	SCN	TRATAR
	Roxa	<i>Enterobacter</i>	Observar		Rosa	<i>Enterococcus</i>	TRATAR		Amarela	SCN	TRATAR
	Bege	<i>Prototheca</i>	Descartar		Lilás	<i>Lactococcus</i>	TRATAR		Branca	SCN	TRATAR
	Azul claro	<i>Aerococcus</i>	TRATAR								

Fonte: próprios autores

### Principais dificuldades no início da prática e atualmente

A maior dificuldade para implantar a cultura na fazenda foi o manejo com as pessoas. O treinamento foi fácil, foi feito em cursos específicos; mas o difícil são as pessoas assimilarem e buscarem informações para fazer o que é certo. E atualmente não há mais dificuldade alguma.

### Procedimentos após o tratamento da vaca

São realizados testes após os tratamentos com antibióticos, para analisar a quantidade de resíduos de antibiótico no produto, para decisão consciente seguindo os parâmetros de sanidade, se o leite já pode ir para o tanque e ser comercializado.

Figura 22. Mini estufa para amostras de leite



Fonte: próprios autores

Figura 23. Leitura das amostras após saírem da estufa.



Fonte: próprios autores

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível facilitar e aprimorar o diagnóstico e o tratamento de mastite nas fazendas leiteiras utilizando a cultura microbiológica.

Como foi visto neste presente trabalho tendo como referência para sua execução a visita técnica na fazenda Adriana, as culturas microbiológicas possibilitam através das placas o diagnóstico preciso dos agentes causadores de respectiva mastite permitindo um tratamento mais eficaz.

Uma fazenda que adere esta técnica dispõe menos tempo para o diagnóstico da patologia, menor custo com medicamentos (por ser certo no agente), menor quantidade de leite descartado (por conta dos tratamentos mais ágeis), menor chances da perda de tetos ou do animal. Deve-se destacar que a fazenda não necessita de espaços muito amplos e especializados para realização da técnica, cabendo ao bolso do produtor investir somente nos materiais exigidos, no

treinamento e nos medicamentos usados em caso de alguns agentes patogênicos (bactérias) específicos.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Thamara. **Parâmetros de qualidade do leite cru bovino: contagem bacteriana total e contagem de células somáticas**. Goiânia – GO: UFG Universidade Federal de Goiás, 2013, 23 p. Disponível em: [https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/2013\\_Thamara\\_Venancio\\_Seminario1c\\_orig.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/2013_Thamara_Venancio_Seminario1c_orig.pdf). Acesso em: 19 de março de 2021.

BRESSAN, Matheus. **Práticas de manejo sanitário em bovinos de leite**. Juiz de Fora – MG: Ministério da Agricultura e do abastecimento – EMBRAPA Gado de Leite, 2000, 69 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/594326/praticas-de-manejo-sanitario-em-bovinos-de-leite>. Acesso em: 11 de novembro de 2020.

BRITO, Maria; BRITO, José. **Qualidade do leite**. s/d, 14 p. Disponível em: [http://www.fernandomadalena.com/site\\_arquivos/903.pdf](http://www.fernandomadalena.com/site_arquivos/903.pdf). Acesso em: 18 de março de 2021.

BUARQUE, Sérgio et al. **Metodologia de planejamento do desenvolvimento local e municipal sustentável: material para orientação técnica e treinamento de multiplicadores e técnicos em planejamento local e municipal**. Projeto de Cooperação Técnica INCRA/IICA. Brasília: 1999, 60 p. Disponível em: <https://www.bibliotecaagpatea.org.br/zootecnia/bovinocultura/livros/BOVINOCULTURA%20DO%20LEITE%20FUNDACAO%20BANCO%20DO%20BRASIL.pdf>. Acesso em: 01 de abril de 2021.

CANDIDO, Atzel Acosta et al. **Mastites em ruminantes no Brasil**. Artigo de Revisão, julho 2016, 9 p. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/pvb/v36n7/1678-5150-pvb-36-07-00565.pdf>. Acesso em: 12 de março de 2021

COSER, SorhaiaMorandi et al. **Mastite bovina: controle e prevenção**. Boletim técnico universidade federal de lavras departamento de medicina veterinária. Lavras/MG: UFLA, 2012, 8 p. disponível em: <http://livraria.editora.ufla.br/upload/boletim/tecnico/boletim-tecnico-93.pdf>. Acesso em: 14 de março de 2021

DIAS, Regina Valéria da Cunha. **Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina**. Acta Veterinária Brasília. Mossoró, RN: 2007, 5 p. disponível em: <file:///C:/Users/ForsCursos12/Downloads/255-Texto%20do%20artigo-652-1-10-20070523.pdf>. Acesso em: 14 de março de 2021

DURR, João. **Produção de leite conforme Instrução Normativa nº 62**. Brasília – DF: Serviço Nacional de Aprendizagem Rural Coleção SENAR – 133, 2012, 47 p. Disponível em: <https://www.senar-ap.org.br/uploads/biblioteca/2015/06/producao-de-leite-conforme-instrucao-normativa-n-62.pdf>. Acesso em: 11 de novembro de 2020.

GHOBRIL, Carlos; BUENO, Carlos; SILVA, Rosana. **Diagnóstico da produção e consumo de leite no estado de São Paulo**. IEA: Instituto de Economia Agrícola. São Paulo – SP: 2017, 10 p. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=14509>. Acesso em: 01 de abril de 2021.

KOZERSKI, Noemila et. al. **Aspectos que influenciam a qualidade do leite**. 5º mostra científica. Campo Grande – MS: Serviço Público Federal, Ministério da Educação. UFMS. 2017, 8 p. Disponível em: <https://famez.ufms.br/files/2015/09/ASPECTOS-QUE-INFLUENCIAM-A-QUALIDADE-DO-LEITE.pdf>. Acesso em: 26 de março de 2021.

LEW, Betina. **Desenvolvimento mamário em novilhas leiteiras: aspectos fisiológicos e bioquímicos envolvidos no processo**. Rev. Bras.Reprod. Anim. Belo horizonte: 2006, 6 p. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RB041%20Lew%20p36-41.pdf>. Acesso em: 12 de março de 2021

MAIOCHI, Rafaela et al. **Principais métodos de detecção de mastites clínicas e subclínicas de bovinos**. Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.16 n.29; 2019. 15 p. Disponível em: <file:///G:/TCC-ZOO/DiagnosticoETratamentos.pdf>. Acesso em: 19 de março de 2021.

MESQUITA, Alan et. al. **Contagem bacteriana total e contagem de células somáticas como indicadores de perdas de produção de leite**. Vol. 12. Pubvet: 2018, 8 p. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/4762/contagem-bacteriana-total-e-contagem-de-ceacutelulas-somaacuteticas-como-indicadores-de-perdas-de-produccedilatildeo-de-leite>. Acesso em: 18 de março de 2021.

MILKPOINT, Grupo Apoiar. **Cultura microbiológica na fazenda: uma ferramenta na tomada de decisão**. 2018. Disponível em: [www.milkpoint.com.br](http://www.milkpoint.com.br). Acesso em: 08 de outubro de 2020.

MORAES, Ismar Araújo. **Fisiologia da glândula mamária**. Abril de 2016, 13 p. Disponível em: <http://fisiovet.uff.br/wp-content/uploads/sites/397/delightful-downloads/2018/07/GI%C3%A2ndulas-mam%C3%A1rias.pdf> . Acesso em: 12 de março de 2021.

OLIVEIRA, Luiza. **Controle e profilaxia da mastite bovina**. Araçatuba – SP: UNESP “Júlio de Mesquita Filho”, 2017, 27 p. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/156729/000901823.pdf?sequence=1&isAl>. Acesso em: 25 de março de 2021.

PERES NETO, Floriano; ZAPPA, Vanessa. **Mastite em vacas leiteiras- revisão de literatura**. Revista científica eletrônica de medicina veterinária. Garça/SP: Editora FAEF, Janeiro de 2011, 28 p. Disponível em: [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/5birfPwQOBxdHFp\\_2013-6-26-11-19-44.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/5birfPwQOBxdHFp_2013-6-26-11-19-44.pdf). Acesso em: 12 de março de 2021.

RODRIGUES, Ana. **Influência da mastite na qualidade do leite in natura: revisão de literatura**. Recife – PE: UFERSA, 2009, 40 p. Disponível em: <https://www.equalisveterinaria.com.br/wp-content/uploads/2018/12/Ana-Rosa.pdf>. Acesso em: 25 de março de 2021.

RODRIGUES, Tatiana et. al. **Mastite Bovina – Influência na Produção, Composição e Rendimento Industrial do Leite e Derivados**. Vol. 1. Arquivos de Pesquisa Animal, 2018., 23 p. Disponível em: <https://www2.ufrb.edu.br/apa/component/phocadownload/category/21-volumes-ano-18-vol1?download=182:apa-v1-n1-p14-36-2018>. Acesso em: 26 de março de 2021.

SILVA, Tatiany. **Mastite bovina e sua relação com a produção e composição do leite**. Goiânia – GO: 2014, 38 p. Disponível em: [https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/66/o/15\\_MASTITE\\_BOVINA\\_E\\_SUA\\_RELACAO\\_COM\\_A\\_PRODUCAO\\_E\\_COMPOSICAO\\_DO\\_LEITE.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/66/o/15_MASTITE_BOVINA_E_SUA_RELACAO_COM_A_PRODUCAO_E_COMPOSICAO_DO_LEITE.pdf). Acesso em: 06 de abril de 2021.

SIMÕES, Tânia; OLIVEIRA, Amaury. **Mastite bovina: considerações e impactos econômicos**. 1º edição. Aracaju – SE: EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, 2021, 27 p. Disponível em: [http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes\\_2012/doc\\_170.pdf](http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2012/doc_170.pdf). Acesso em: 11 de novembro de 2020.

TOZZETTI, Danilo Soares et al. **Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – revisão de literatura**. Revista científica eletrônica de medicina veterinária. Garça/SP: FAEF, janeiro de 2008, 7 p. disponível em: [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/YFbjMnrGCotOL73\\_2013-5-28-15-25-40.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/YFbjMnrGCotOL73_2013-5-28-15-25-40.pdf). Acesso em: 14 de março de 2021.

VASCONSCÉLOS, Maria. **Diagnóstico microbiológico da mastite bovina**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, 2009. 13 p. Disponível em: <file:///G:/TCC-ZOO/O%20que%20%C3%A9%20O%20m%C3%A9todo.pdf>. Acesso em: 13 de novembro de 2020.

VAZ, José. **Instrução normativa nº 62, ministério da agricultura, pecuária e abastecimento**. Gabinete do ministro, 2011, 24 p. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2018/06/IN62.pdf>. Acesso em: 19 de março de 2021.

---