FACULDADE DE ENFERMAGEM NOVA ESPERANÇA
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ALINE DA SILVA MARQUES

LACTOCULTURA PARA DETECÇÃO DE MASTITES SUBCLÍNICAS EM UM REBANHO COMERCIAL DE VACAS LEITEIRAS NA CIDADE DE TABIRA – PE.

JOÃO PESSOA
2023

ALINE DA SILVA MARQUES

LACTOCULTURA PARA DETECÇÃO DE MASTITES SUBCLÍNICAS EM UM REBANHO COMERCIAL DE VACAS LEITEIRAS NA CIDADE DE TABIRA – PE.

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC II, apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Enfermagem Nova Esperança como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Guilherme Santana de Moura

JOÃO PESSOA
2023

M319l Marques, Aline da Silva
Lactocultura para detecção de mastites subclínicas em um rebanho comercial de vacas leiteiras na cidade de Tabira-PE / Aline da Silva Marques. – João Pessoa, 2023.
15f.

Orientador: Profº. Dº. Guilherme Santana de Moura.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade Nova Esperança - FACENE

1. Bovinocultura. 2. Diagnóstico. 3. Profilaxia. I. Título.

CDU: 636.2

ALINE DA SILVA MARQUES

LACTOCULTURA PARA DETECÇÃO DE MASTITES SUBCLÍNICAS EM UM REBANHO COMERCIAL DE VACAS LEITEIRAS NA CIDADE DE TABIRA – PE.

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC apresentado pela aluna **Aline da Silva Marques** do Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária, tendo obtido o conceito _____, conforme a apreciação da Banca Examinadora.

Aprovado em _____ de _____ de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Guilherme Santana de Moura - Orientador

Profa. Dra. Maiza Araújo Cordão - Membro

Profa. Dra. Sandra Batista dos Santos - Membro

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nunca me abandonar e sempre me dar forças para seguir em frente, pelo seu amor, cuidado e proteção. Por nunca me deixar desistir e me enviar os melhores presentes que eu poderia receber.

Ao meu filho Antônio Heleno, o amor da minha vida, que chegou na hora que eu mais precisava e me recarregou de forças e energias para seguir em frente, pois durante quase três anos de graduação foi a minha companhia nas horas de estudos, nas horas de desesperos, nas alegrias, alguns trabalhos. Por ser meu maior incentivo de crescer e conquistar o mundo, por sempre me mostrar que posso conquistar qualquer batalha. Te amo demais.

Ao novo *baby* que estar por vir, que mesmo tão pequeno é mais um incentivo a correr atrás dos meus sonhos e me manter perseverante.

Aos meus pais, Aparecida e Jorge, por todo amor e cuidado. À minha mãe, uma cozinheira, batalhadora, nunca mediu esforços para trabalhar e me manter durante todo o tempo que decidi sair de casa para estudar e ter um futuro melhor. A meu pai, um marchante, com pouco estudo, mesmo assim, sempre me incentivou a estudar e nunca me deixou faltar nada. Amo vocês demais.

Aos meus irmãos, Karina e Danilo, por todo apoio, incentivo, amor e cuidado que sempre tiveram para comigo. Por sempre que precisar de um ombro amigo ou uma palavra acolhedora, agradeço por vocês estarem presentes.

Ao meu esposo, Marcos, por ter sido a pessoa que desde 2015 se fez presente na minha vida e que me apoiou em todas as decisões que tomei. Por lá, em 2016, ter aberto portas para facilitar os meus estudos e que até hoje me ajuda e se mantem presente em tudo da minha vida.

Às minhas amigas da faculdade, Jullya, Luana e Lídia por todo apoio, por sempre me impulsionar a seguir em frente e não me deixar desistir. Tudo que vivemos foi incrível, tudo o que conquistamos, os momentos de alegrias e brincadeiras, mas também pelos momentos de surtos e desesperos no qual nunca me deixaram só.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Guilherme Santana, por ter me aceitado como sua orientanda, pela disposição em ensinar e partilhar uma parte do seu conhecimento

comigo. Por acreditar no meu potencial e me incentivar sempre a dar o melhor de mim.

À minha banca, professora Maiza e professora Sandra pela disponibilidade para avaliar o meu projeto e pela presença.

A todos os professores do curso de Medicina Veterinária da FACENE, que pude ter o prazer de conhecer durante a graduação. Toda a minha formação devo a vocês. Obrigada por todo conhecimento partilhado e pela paciência.

RESUMO

Nos últimos 10 anos, Pernambuco destacou-se em relação aos outros estados do Nordeste na área de bovinocultura leiteira. Em 2019, o estado ficou em nono lugar no Brasil e em segundo em relação ao Nordeste, atrás da Bahia. Sendo responsável por 3,1% de todo o produto colocado no mercado, com 1,64 bilhões de litros, o estado atingiu o maior índice produtivo em 45 anos. O setor leiteiro no Sertão do Pajeú também desempenha um papel fundamental na segurança alimentar da população local. A produção de leite é uma fonte valiosa de nutrientes, especialmente para crianças e idosos, garantindo o acesso a alimentos frescos e de qualidade, no entanto, deve-se atentar para os programas de controle e qualidade do leite. A mastite é uma das principais doenças que afetam a produção leiteira, causando prejuízos econômicos significativos para os produtores. Diante desse contexto, torna-se essencial a implementação de um projeto de controle efetivo da mastite em um rebanho bovino na cidade de Tabira, PE, por meio do uso de Contagem de Células Somáticas (CCS) e lactocultura. O presente projeto visa realizar a caracterização das mastites subclínicas bovinas em um rebanho comercial da cidade de Tabira – PE através da lactocultura. Foram colhidas amostras de leite de 15 vacas em diferentes estágios de lactação em um rebanho comercial na cidade de Tabira – PE. Foram coletados aproximadamente 5 ml de leite por quarto mamário de cada vaca totalizando 60 amostras, em tubos esterilizados e previamente identificados com o nome ou número do animal e a metade mamária, sendo enviados sob refrigeração em caixas de material isotérmico contendo gelo reciclável, para a realização do exame microbiológico no laboratório da FACENE. Alíquotas de leite foram semeadas em placas de Petri contendo ágar-base enriquecido com 5% de sangue de ovino. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37º C e as leituras realizadas 24 e 48 horas após a incubação. Para a identificação das bactérias isoladas, foram observadas as características morfológicas das colônias como tamanho, tipo, coloração e presença de hemólise e, ao microscópio, foram observadas a disposição das células e características morfotintoriais ao Teste de Gram.

Palavras-chave: Bovinocultura; diagnóstico; profilaxia;

ABSTRACT

In the last 10 years, Pernambuco has stood out in relation to other states in the Northeast in the area of dairy cattle farming. In 2019, the state ranked ninth in Brazil and second in relation to the Northeast, behind Bahia. Being responsible for 3.1% of all product placed on the market, with 1.64 billion liters, the state reached the highest production rate in 45 years. The dairy sector in Sertão do Pajeú also plays a fundamental role in the food security of the local population. Milk production is a valuable source of nutrients, especially for children and the elderly, ensuring access to fresh, quality food. However, attention must be paid to milk control and quality programs. Mastitis is one of the main diseases that affect dairy production, causing significant economic losses for producers.

Given this context, it is essential to implement an effective mastitis control project in a cattle herd in the city of Tabira, PE, through the use of Somatic Cell Counting (SCC) and lactoculture. The present project aims to characterize bovine subclinical mastitis in a commercial herd in the city of Tabira – PE through lactoculture. Milk samples were collected from 15 cows at different stages of lactation in a commercial herd in the city of Tabira – PE. Approximately 5 ml of milk was collected per mammary quarter of each cow, totaling 60 samples, in sterilized tubes and previously identified with the name or number of the animal and the mammary half, being sent under refrigeration in boxes made of isothermal material containing recyclable ice, to the carrying out the microbiological examination in the FACENE laboratory. Aliquots of milk were seeded in Petri dishes containing agar base enriched with 5% sheep blood. The plates were incubated in a bacteriological oven at 37º C and readings were taken 24 and 48 hours after incubation. To identify the isolated bacteria, the morphological characteristics of the colonies were observed, such as size, type, color and presence of hemolysis and, under a microscope, the arrangement of the cells and morphotinctorial characteristics were observed using the Gram Test.

Keywords: Cattle farming; diagnosis; prophylaxis;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 9

2. MATERIAL E MÉTODOS 11

2.1 Animais 11

2.2 Coleta de leite 11

2.3 Isolamento e identificação bacteriana 11

2.4 Análise Estatística 11

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 13

4. CONCLUSÃO 14

REFERÊNCIAS 15

1. INTRODUÇÃO

A área da bovinocultura leiteira em Pernambuco, ganhou um grande destaque nos últimos 10 anos em relação aos outros estados do Brasil. Em 2019, o estado ficou em nono lugar em produção de leite no Brasil e em segundo em relação ao Nordeste, atrás da Bahia. Sendo responsável por 3,1% de todo o produto colocado no mercado, com 1,64 bilhões de litros, o estado atingiu o maior índice produtivo em 45 anos[1].

O setor leiteiro no Sertão do Pajeú também desempenha um papel fundamental na segurança alimentar da população local. A produção de leite é uma fonte valiosa de nutrientes, especialmente para crianças e idosos, garantindo o acesso a alimentos frescos e de qualidade[2]. A bovinocultura de leite contribui para o abastecimento da indústria de laticínios, promovendo a diversificação da economia local e agregando valor aos produtos derivados do leite. Os dados do IBGE demonstram que a bovinocultura de leite no Sertão do Pajeú é uma atividade essencial para a região, impulsionando o desenvolvimento econômico e social, ao mesmo tempo em que contribui para a segurança alimentar e a geração de empregos[1].A mastite tem grande importância para o rebanho leiteiro, gerando perdas econômicas significantes, que geralmente ocorre por uma boa prática de manejo. Em estudos realizados no Brasil, foram observados que quartos mamários acometidos por mastites subclínica produziram cerca de 25 a 42% menos leite do que os saudáveis[3].

Os principais agentes causadores das mastites são classificados como contagiosos e ambientais. Os agentes contagiosos são: *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Mycoplasma species* e *Corynebacterium bovis*[4]. Os microrganismos vivem e se multiplicam na superfície ou dentro da glândula mamária, sendo sua transmissão por via direta, de animal para animal ou de teto para teto no momento da ordenha. Os agentes ambientais são: *Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae, Escherichia coli e Klebsiella ssp.* Eles vivem no meio onde os animais são criados e a transmissão ocorre por falta de manejo sanitário no momento da ordenha servindo como porta de entrada para os agentes. Estes, instalam-se quando a saúde e imunidade dos animais estão comprometidas[5].

A mastite é uma inflamação da glândula mamária, que pode ser causada por diferentes agentes infecciosos, resultando na redução da qualidade e da quantidade de leite produzido. Além do impacto econômico direto na produção leiteira, a mastite também afeta a saúde e o conforto das vacas, podendo levar a casos de dor, febre e até mesmo a problemas crônicos que comprometem a vida produtiva do animal. O controle eficiente da mastite envolve medidas de prevenção, como higiene adequada, manejo correto das vacas e detecção precoce da doença[6].

Isso inclui a adoção de práticas de ordenha higiênicas, o uso de produtos antissépticos e antibióticos quando necessário, bem como o acompanhamento regular da saúde mamária das vacas por meio de testes de diagnóstico. Ao controlar a mastite, os produtores garantem a produção de leite de qualidade, preservam a saúde das vacas e

promovem a sustentabilidade econômica e sanitária do rebanho bovino. O presente trabalho teve como objetivo realizar a caracterização das mastites subclínicas bovinas em um rebanho comercial da cidade de Tabira – PE através da lactocultura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram colhidas 60 amostras de leite em 15 vacas em diferentes estágios de lactação em um rebanho comercial leiteiro na cidade de Tabira – PE, que fica localizada a 405 km da sua capital Recife – PE.

2.2 Coleta de leite

Inicialmente, foi realizado o teste da caneca de fundo escuro para identificação dos casos de mastite clínica, onde os primeiros jatos de leite colhidos por ordenha manual são depositados em uma caneca de fundo preto para observar se há presença de grumos ou outras alterações no leite que sugiram a presença de mastite clínica, e, em seguida, procederemos as coletas do leite para exame microbiológico através de ordenha manual após prévia higienização do teto com solução pré-dipping a base de clorexidina, secagem com papel toalha e antissepsia do óstio do teto com álcool a 70ºGL.

Foram coletados aproximadamente 5 ml de leite por quarto mamário de cada vaca totalizando 60 amostras, em tubos esterilizados e previamente identificados, sendo enviados sob refrigeração em caixas de material isotérmico contendo gelo reciclável para a realização do exame microbiológico no laboratório da Faculdade Nova Esperança, FACENE, João Pessoa, Paraíba.

2.3 Isolamento e identificação bacteriana

Alíquotas de leite foram semeadas em placas de Petri contendo ágar-base enriquecido com 5% de sangue de ovino. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37º C e as leituras realizadas 24 e 48 horas após a incubação. Para a identificação das bactérias isoladas, foram observadas as características morfológicas das colônias como tamanho, tipo, coloração e presença de hemólise e, ao microscópio, foram observadas a disposição das células e características morfotintoriais ao Teste de Gram.

2.4 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com o software GraphPad Prism versão 7.04 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, EUA) e Epi Info ™ versão 7.2 para Windows (software Epi Info ™, Atlanta, Geórgia, EUA). O teste $\chi 2$ foi utilizado para verificar a significância estatística nas frequências de detecção das diferentes espécies encontradas. Diferenças estatisticamente significativas serão consideradas para $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo realizado em um rebanho comercial de vacas leiteiras de Tabira – PE revelou que 60% das vacas (9 de 15) apresentaram crescimento bacteriano positivo em pelo menos um dos tetos, totalizando 50% das amostras (30 de 60) com resultados positivos na lactocultura. Os microrganismos isolados incluíam *Staphylococcus spp.* (40%), *Escherichia coli* (33,3%) e *Streptococcus spp.* (26,7%), ressaltando a diversidade e complexidade das infecções mamárias subclínicas.

A presença predominante de *Staphylococcus spp*., incluindo *S. aureus*, merece atenção especial. *S. aureus* é conhecido por sua habilidade em formar biofilmes intramamários, dificultando a ação dos tratamentos e levando a infecções crônicas[7], o que pode ter impactos significativos na produção leiteira. A detecção de *Escherichia coli* é preocupante devido à sua associação com mastite clínica, indicando o potencial

para a evolução das infecções subclínicas para estágios mais graves[3]. Por outro lado, *Streptococcus spp*. é frequentemente ligado à mastite subclínica[8], revelando a variabilidade dos microrganismos envolvidos e a necessidade de estratégias de manejo adaptáveis.

A eficácia da técnica de lactocultura, ao identificar esses patógenos, destaca sua importância na detecção precoce das mastites subclínicas[6]. A intervenção rápida e adequada nessas infecções é crucial para evitar perdas econômicas decorrentes da redução na produção de leite e dos custos de tratamento[9]. Além disso, compreender a diversidade de microrganismos presentes nas mastites subclínicas é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes, incluindo a seleção apropriada de antibióticos e a implementação de práticas de manejo preventivas[10].

Em resumo, a análise das mastites subclínicas em bovinos deste rebanho não apenas destaca a variedade bacteriana envolvida, mas também enfatiza a necessidade contínua de diagnósticos precisos e intervenções estratégicas[11]. A lactocultura se mostra uma ferramenta vital, permitindo uma identificação sensível e específica dos patógenos, essencial para o manejo eficaz da saúde mamária e, por conseguinte, para a sustentabilidade da produção leiteira.

4. CONCLUSÃO

O estudo destacou a presença significativa de mastites subclínicas em vacas leiteiras, com 60% dos animais afetados e 50% das amostras de leite revelando crescimento bacteriano positivo na lactocultura. *Staphylococcus spp*., *Escherichia coli* e *Streptococcus spp*. foram os principais microrganismos identificados. A detecção precoce e a identificação precisa dos patógenos, alcançadas com sucesso pela técnica de lactocultura, são essenciais para o manejo eficaz dessas infecções.

Compreender a diversidade de microrganismos e suas implicações na mastite subclínica é crucial para o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes, com potencial para minimizar perdas econômicas e promover a sustentabilidade da produção leiteira.

REFERÊNCIAS

1. IBGE. Censo Agropecuário. Rio de Janeiro: [*s. n.*], 2017. v. 7

2. OLIVEIRA, MARLA CONCEIÇÃO *et al.* BENCHMARKS FOR MILK PRODUCTION SYSTEMS IN THE PERNAMBUCO AGRESTE REGION, NORTHEASTERN BRAZIL. Revista Caatinga, [*s. l.*], v. 29, n. 3, p. 725–734, 2016.

3. CAMPOS, Humberto de *et al.* Characterization of the milk production chain and study of the dairy herd health in the city of Codó, Maranhão. Arquivos do Instituto Biológico, [*s. l.*], v. 87, p. 1–6, 2020.

4. ACOSTA, Atzel Candido *et al.* Mastites em ruminantes no Brasil. Pesquisa Veterinaria Brasileira, [*s. l.*], v. 36, n. 7, p. 565–573, 2016.

5. KRAUSS, Michael *et al.* Drinking and cleaning water use in a dairy cow barn. Water (Switzerland), [*s. l.*], v. 8, n. 7, p. 1–16, 2016.

6. MOURA, G.S. *et al.* Catarrhal mastitis by staphylococcus simulans in a nulliparous goat. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, [*s. l.*], v. 55, n. 3, 2018.

7. OLIVEIRA, Diana; BORGES, Anabela; SIMÕES, Manuel. Staphylococcus aureus toxins and their molecular activity in infectious diseases. Toxins, [*s. l.*], v. 10, n. 6, 2018.

8. TOLONE, Marco *et al.* Assessment of genetic variation for pathogen-specific mastitis resistance in Valle del Belice dairy sheep. BMC Veterinary Research, [*s. l.*], v. 12, n. 1, p. 1–7, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1186/s12917-016-0781-x.

9. TOMAZI, Tiago *et al.* Identification of coagulase-negative staphylococci from bovine intramammary infection by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. Journal of Clinical Microbiology, [*s. l.*], v. 52, n. 5, p. 1658–1663, 2014.

10. VLIEGHER, S. *et al.* Invited review: Effect, persistence, and virulence of coagulase-negative Staphylococcus species associated with ruminant udder health. Journal of Dairy Science, [*s. l.*], v. 97, n. 9, p. 5275–5293, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7775.

11. TAPONEN, Suvi; PYÖRÄLÄ, Satu. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis-Not so different from Staphylococcus aureus?. Veterinary Microbiology, [*s. l.*], v. 134, n. 1–2, p. 29–36, 2009.