

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
CURSO DE CIÊNCIA ANIMAL

ESTER ROEPCKE TELLES

CARACTERIZAÇÃO DE MASTITE CLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS
DE DESCARTE ABATIDAS EM FRIGORÍFICO

LAGES

2023

Ester Roepcke Telles

**CARACTERIZAÇÃO DE MASTITE CLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS DE
DESCARTE ABATIDAS EM FRIGORÍFICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração em qualidade de leite/microbiologia

Orientador Prof. Dr. André Thaler Neto

LAGES

2023

Roepcke Telles, Ester

**CARACTERIZAÇÃO DE MASTITE CLÍNICA EM VACAS
LEITEIRAS DE DESCARTE ABATIDAS EM FRIGORÍFICO /**
Ester Roepcke Telles. -- 2023.

44 p.

Orientador: Andre Thaler Neto

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2023.

1. Carcaça. 2. Glândula mamária. 3. Microbiologia. I. Thaler
Neto, Andre. II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro
de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal. III. Título.

Ester Roepcke Telles

**CARACTERIZAÇÃO DE MASTITE CLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS DE
DESCARTE ABATIDAS EM FRIGORÍFICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração em qualidade de leite/microbiologia

Orientador Prof. Dr. André Thaler Neto

BANCA EXAMINADORA

André Thaler Neto Professor Doutor

Centro de Ciências Agroveterinárias Cav-UDESC

Membros:

Fernanda Danielle de Melo Doutora

Diag-labor Comercio de Produtos Laboratoriais LTDA

Ricardo Antônio Pilegi Sfaciotte Professor Doutor

Centro de Ciências Agroveterinárias Cav-UDESC

Lages, 30 de janeiro de 2023

Dedico este trabalho a Deus, sem o qual nada seria possível, ao meu marido que participou ativamente de todas as etapas deste experimento e foi peça chave para a elaboração científica e a minha família pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao abatedouro frigorífico sob inspeção federal que cedeu os espaços e materiais necessários para a execução de coleta das amostras, juntamente com os veterinários Sergio Bajaluk e Nadine Cristina Felipus por participarem desta pesquisa auxiliando em sua elaboração teórica e prática. Sou grata ao laboratório CEDIMA por disponibilizar as dependências para que a pesquisa fosse realizada. Agradeço também a empresa Biolabor por flexibilizar meus horários para que este experimento fosse realizado.

RESUMO

A mastite é uma doença grave que afeta vacas leiteiras, podendo levar ao abate precoce e causar prejuízos significativos aos produtores e frigoríficos. Com diferentes fontes de infecção, como o ambiente e outros animais do rebanho, a mastite pode ser classificada quanto ao aparecimento de lesões, tempo de duração e comprometimento sistêmico. Recentemente, a normativa RIISPOA 2020 trouxe mudanças importantes para a classificação e destinação de carcaças de vacas acometidas por mastite, o que reforça a importância de distinguir macroscopicamente a mastite aguda da crônica na linha de úbere dos abatedouros frigoríficos sob inspeção federal.

Para contribuir com essa demanda, um estudo foi realizado em parceria com um abatedouro frigorífico, analisando características macroscópicas que possam auxiliar na distinção visual de mastites crônicas e agudas, além de determinar os principais microrganismos causadores de mastites e estimar a incidência de carcaças condenadas. Os resultados revelaram que as mastites crônicas apresentam tecidos com aumento de rigidez e tecidos fibrosados, com múltiplos abscessos e aumento da espessura da parede, enquanto as mastites agudas apresentam tecidos edematosos, acúmulo de exsudato na cisterna do teto e eritema disseminado. Foi observada uma maior incidência de mastites crônicas e o isolamento de bactérias Gram-positivas, com destaque para o *Staphylococcus aureus*.

Os dados obtidos são relevantes para a economia, uma vez que as mastites representam um problema comum em vacas leiteiras de descarte ao abate, podendo afetar significativamente o lucro dos produtores e frigoríficos. Além disso, o estudo contribui para um levantamento microbiológico relacionado à mastite de animais de descarte, que ainda é pouco explorado na literatura científica. Em suma, o trabalho realizado traz importantes contribuições para a compreensão e o controle da mastite em vacas leiteiras de descarte ao abate, visando garantir a qualidade da carne e a saúde pública.

Palavras-chave: carcaça, glândula mamária, microbiologia

ABSTRACT:

Mastitis is a serious disease that affects dairy cows, which can lead to early slaughter and cause significant losses to producers and meatpacking plants. With different sources of infection, such as the environment and other animals in the herd, mastitis can be classified according to the appearance of lesions, duration, and systemic involvement. Recently, the RIISPOA 2020 regulation brought important changes to the classification and disposal of carcasses of cows affected by mastitis, which reinforces the importance of macroscopically distinguishing acute mastitis from chronic mastitis in the udder line of meatpacking plants.

To contribute to this demand, a study was conducted in partnership with a meatpacking plant, analyzing macroscopic characteristics that may aid in the visual distinction of chronic and acute mastitis, as well as determining the main microorganisms causing mastitis and estimating the incidence of condemned carcasses. The results revealed that chronic mastitis presents tissues with increased stiffness and fibrous tissues, with multiple abscesses and increased wall thickness, while acute mastitis presents edematous tissues, accumulation of exudate in the teat cistern, and disseminated erythema. There was a higher prevalence of chronic mastitis and the isolation of Gram-positive bacteria, with *Staphylococcus aureus* being particularly noteworthy.

The data obtained are relevant to the economy, as mastitis represents a common problem in dairy cows that are discarded for slaughter, which can significantly affect the profits of producers and meatpacking plants. Additionally, the study contributes to a microbiological survey related to mastitis in slaughter animals, which is still underexplored in the scientific literature. In summary, the work done brings important contributions to the understanding and control of mastitis in dairy cows discarded for slaughter, aiming to ensure the quality of meat and public health.

Key words: carcass, mammary gland, microbiology

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 – LOCALIZAÇÃO DOS MUNICÍPIOS DOS QUAIS FORAM ORIGINADAS AS VACAS CUJOS ÚBERES FORAM ANALISADOS NO EXPERIMENTO. O TAMANHO DAS BOLAS REPRESENTA O NÚMERO DE ANIMAIS.....	23
FIGURA 2 - CURRAL PRÉ-ABATE (ACERVO DO AUTOR).....	24
FIGURA 3 - IMAGEM A EXPOSIÇÃO DA PORÇÃO EXTERNA DO ÚBERE APÓS ESFOLA (ESQUERDA) E PORÇÃO INTERNA DA GLÂNDULA MAMÁRIA APÓS ESFOLA (DIREITA), NA QUAL É POSSÍVEL VISUALIZAR A ETIQUETA UTILIZADA PARA RELACIONAR A GLÂNDULA ÀS DEMAIS PARTES DA CARCAÇA NA LINHA DE PRODUÇÃO. (ACERVO DO AUTOR).....	25
FIGURA 4 - MASTITES AGUDAS, SENDO POSSÍVEL VISUALIZAR GRUMOS DE LEITE (ESQUERDA). (ACERVO DO AUTOR).....	28
FIGURA 5 -PALAVRAS QUE DESCREVEM A MASTITE AGUDA.....	29
FIGURA 6 -NUVEM DE PALAVRAS DOS LINFONODOS ACOMETIDOS NA MASTITE AGUDA.....	30
FIGURA 7 - GLÂNDULA MAMÁRIA COM MASTITE CRÔNICA, VISUALIZAÇÃO DE ABCESSO (A) GLÂNDULA MAMÁRIA COM MASTITE CRÔNICA, PRESENÇA DE TECIDO DE GRANULAÇÃO, CONSISTÊNCIA ENDURECIDA (B). (ACERVO DO AUTOR).....	31
FIGURA 8 - LINFONODOS ACOMETIDOS NA MASTITE CRÔNICA.....	32
FIGURA 9 - MUSCULATURA POSTERIOR DE CARCAÇA APRESENTANDO NECROSE DAS FIBRAS, UMA EVIDÊNCIA DE APLICAÇÃO DE MEDICAMENTO. (ACERVO DO AUTOR).....	33
FIGURA 10 - TOTAL DE BACTÉRIAS IDENTIFICADAS.....	33

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - PROVAS BIOQUÍMICAS REALIZADAS PARA IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS.	27
TABELA 2 - CLASSIFICAÇÃO DAS MASTITES EM AGUDAS E CRÔNICAS.....	28
TABELA 3 PALAVRAS QUE DESCREVEM A MASTITE AGUDA	29
TABELA 4 LINFONODOS ACOMETIDOS NA MASTITE AGUDA	30
TABELA 5 SECREÇÕES APRESENTADAS EM GLÂNDULAS MAMÁRIAS COM MASTITE AGUDA	30
TABELA 6 - PALAVRAS QUE DESCREVEM A MASTITE CRÔNICA	32
TABELA 7 - LINFONODOS ACOMETIDOS NA MASTITE CRÔNICA	32
TABELA 8 - SECREÇÕES MASTITE CRÔNICA.....	32
TABELA 9 - RELAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS GRAM POSITIVAS E NEGATIVAS.	34
TABELA 10 - TABELA DE DISTINÇÃO DE GÊNEROS	34
TABELA 11 - TABELA DE COMPARAÇÃO ENTRE COAGULASES POSITIVAS E NEGATIVAS	35
TABELA 12 - PREVALÊNCIA DOS GÊNEROS DENTRE AS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS.....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 MASTITE	12
2.2. NORMAS PARA DESTINAÇÃO DE CARCAÇAS DE ANIMAIS DE DESCARTE DEVIDO À MASTITE	14
2.3. AGENTES CAUSADORES DE MASTITE	15
<i>Staphylococcus aureus (S. aureus)</i>	15
<i>Staphylococcus hyicus</i>	15
<i>Streptococcus agalactiae</i>	16
<i>Streptococcus bovis</i>	16
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	17
<i>Klebsiella spp.</i>	17
<i>Escherichia coli</i>	17
2.4 PROVAS BIOQUÍMICAS	17
3. OBJETIVO:	22
3.1 Objetivo geral.....	22
3.2 Objetivo específico	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1 Coleta de dados	23
4.2 Análise das glândulas mamárias	23
4.3 Coleta Das Glândulas Mamarias.....	25
4.4 Isolamento bacteriano	25
4.5 Identificação bacteriana	26
4.6 Congelamento de Bactérias:	26
4.7 Realização das provas bioquímicas	26
4.8 Análise de dados e informações.....	27

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Mastite.....	28
5.2 Mastite aguda - descrição da lesão.....	28
5.3 Mastite Crônica - descrição da lesão:	30
5.4 Resultados microbiológicos:	33
6. CONCLUSÃO.....	37
7. REFERENCIAS:	38

1. INTRODUÇÃO

Tendo uma taxa de morbidade em bovinos de 38%, com taxas de descarte de animais de cerca de 7% e morte de 1% pelas infecções (JOBIM et al., 2010) a mastite é uma doença que comumente atinge os rebanhos leiteiros, levando a diversas perdas como custos de tratamento e descarte de animais, além de haver dificuldades de tratamento devido ao fato de ser uma doença multifatorial podendo ser causada por vírus, bactérias e leveduras.

Estudos referentes a microbiologia no setor de produção de alimentos são de extrema importância para a detecção de patógenos emergentes no campo da indústria com importância clínica para seres humanos.

Tendo em vista este aspecto e a ausência de estudos correlacionando bactérias causadoras de mastites e animais descartados devido a esta infecção. Este trabalho preconiza a identificação dos microrganismos encontrados em glândulas mamárias de animais descartados por mastite.

Além disso, foi realizado um levantamento de dados onde se observou as características macroscópicas das lesões nas glândulas mamária e assim sendo realizada a distinção dentre as lesões caracterizadas como crônicas ou agudas em animais de descarte.

Essa caracterização é muito importante para os frigoríficos sob serviço de inspeção federal. Esta necessidade foi ressaltada devido a alteração do artigo 162 do RIISPOA de 2022 que modifica a destinação das carcaças com mastite em decorrência das lesões apresentadas.

Os estudos realizados com coletas de glândulas mamarias de vacas com mastite em frigoríficos é pioneira nesta área, aliada as novas diretrizes do artigo 162 que preconizam uma classificação cuidadosa da glândula quanto a mastite crônica e aguda, com destinações diferentes para a carcaça, podendo haver um maior aproveitamento das carcaças sem acometimento sistêmico, para isso passa-se a ter maior critério na avaliação das glândulas e necessidade de parâmetros claros em auxílio desta classificação. Por isso a necessidade de alinhar quais as lesões associadas como linfonodos alterados

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MASTITE

A ocorrência de mastite, seja ela clínica ou subclínica, gera grandes prejuízos. Estes envolvem principalmente o gasto com tratamento, descarte de leite e a redução na produção de leite, que em muitos casos passam despercebidos aos olhos do produtor (LOPES; LACERDA; RONDA, 2013).

A mastite é o processo inflamatório da glândula mamária, sendo classificada em mastite clínica e subclínica. A forma clínica é caracterizada por alguns sinais clínicos, tais como: Dor, edema no úbere, endurecimento e temperatura dos tetos aumentada, presença de grumos, pus e sangue no leite, dentre outras alterações físicas do leite. O animal pode apresentar também febre, queda na produção de leite e diminuição do consumo de alimento. (LOPES, 2011)

De acordo com a gravidade, pode-se classificar a mastite clínica em 3 escores: 1) leve, somente alteração do leite (grumos, coágulos); 2) moderado, alterações do leite e sintomas no quarto afetado; 3) grave, além dos sintomas dos escore 1 e 2, a vaca apresenta sintomas sistêmicos (febre, desidratação, prostração) (MESQUITA et al., 2019)

A forma subclínica, se caracteriza por alterações na composição do leite, com aumento dos teores de cloro, sódio, proteínas do soro, diminuição dos teores de caseína, lactose e gordura e aumento da contagem de células somáticas, não apresentando sinais claros como na mastite clínica, porém afetando a produção e a qualidade do leite (LOPES; LACERDA; RONDA, 2013; SIMÕES; DE OLIVEIRA, 2012)

GONÇALVES et al. (2018) avaliaram os registros da Associação Paranaense de Criadores da Raça Holandesa (APCBRH), no período entre 2010 e 2015, para determinar a redução na produção de leite conforme aumento da contagem de células somáticas (CCS). Os autores verificaram que a partir do limite mínimo de CCS, a redução na produção na primeira lactação foi de aproximadamente 0,68 kg/d no início da lactação, 0,55 kg/d no meio da lactação e 0,97 kg/d no final da lactação. Para as vacas de segunda lactação as estimativas foram de 1,47 kg/d no início da lactação, 1,09 kg/d no meio da lactação e 2,45 kg/d no final da lactação. Já para vacas de terceira lactação as perdas estimadas foram de 2,22 kg/d no início da lactação, 1,13 kg/d no meio da lactação e 2,65 kg/d no final da lactação. Além da redução na produção

leiteira, em muitos casos ocorreu a perda de um ou mais quartos mamários (dos Santos et al., 2017). A mastite é resultante da ação de agentes infecciosos, podendo estar envolvidos diferentes espécies de vírus, fungos e principalmente, bactérias. Pode ser causada também por estresse e lesões. Porém, a infecção por bactérias invasivas e outros microrganismos são as principais causas desta infecção (COELHO et al., 2016). De modo geral ela se instaura quando microrganismos invadem a glândula mamária, sendo os principais fatores de risco: a colonização da pele e canal do teto, assim como a inversão de fluxo de leite durante a ordenha que pode ser causado por flutuações de vácuo, ou ainda uso de cânulas contaminadas no tratamento intramamário (SANTOS; FONSECA, 2019)

De acordo com FOSTER (2013), em mastites causadas por bactérias Gram negativas, como a *Escherichia coli*, é mais comum que a doença se apresente aguda, necrosante e com severo derrame vascular, podendo em alguns casos ocorrer à liberação de toxinas. Sendo caracterizada pela presença de edema da glândula mamária e de áreas adjacentes, necrose dos tecidos glandulares, isolamento de tecido glandular, ressecamento dos tecidos, glândula mamária friável à palpação e cercada por uma borda vermelha de hiperemia e hemorragia. A inflamação promove grande efusão de líquidos fazendo com que a glândula fique bastante inchada e enrijecida. O leite pode apresentar-se aquoso com presença de fibrina.

Esta infecção também pode ser causada por bactérias gram-positivas, sendo dividida quanto às lesões, podendo apresentar-se necrosante aguda e severa ou crônica e supurativa. A mastite aguda severa, é causada por bactérias Gram positivas necrosantes, como o *Staphylococcus aureus* (SANTOS; ALESSI, 2016), tendo como principais lesões hemorragia e morte da glândula, apresentando tecido glandular gangrenoso, duro, seco e com coloração de vermelha a preta. Já a mastite supurativa crônica, pode ser causada por *Streptococcus disgalactie*, *Arcanobacterium pyogenes* e *Micoplasma bovis* principalmente, tendo como lesões características lesões centradas nos ductos e seios lactíferos, podendo ocorrer o preenchimento desses com exsudado supurativo (FOSTER, 2013)

Segundo SANTOS e FONSECA (2019) o monitoramento da ocorrência e do escore de gravidade dos casos clínicos permite obter informações fundamentais para a avaliação de protocolos de tratamento, estimativa de prejuízos em decorrência da mastite e eficácia de medidas empregadas no controle da mastite.

A mastite é um problema complexo e, às vezes, de difícil solução porque é uma doença causada por uma série de fatores ou circunstâncias que se interagem (LOPES; LACERDA; RONDA, 2013). Pode ser ocasionada por mais de 137 microrganismos, que são classificados como patógenos contagiosos ou ambientais, de acordo com o reservatório primário ou o modo de transmissão (SIMÕES; DE OLIVEIRA, 2012).

Embora as perdas sejam aparentemente maiores no caso de mastite clínica, a prevenção e o controle da mastite subclínica deve merecer especial atenção, porque a sua ocorrência mesmo que não tão evidente, pode resultar em maiores prevalências e por consequência maiores prejuízos (MAGALHÃES et al., 2006).

Devido à busca por um melhor manejo e buscando o equilíbrio da questão econômica, muitas vezes animais com mastite são descartados. Segundo (SANTOS; CAVALIERI; MASSUDA (2001) deve-se levar alguns fatores em consideração como idade, problemas reprodutivos, histórico de produção entre outros.

Segundo SILVA et al. (2020) a mastite se destaca como sendo responsável por 10% das causas de descarte em bovinos leiteiros, sendo reconhecida como a maior responsável pela redução da produção individual, rápida disseminação para as demais fêmeas e pela diminuição do potencial produtivo do rebanho (SIMÕES; DE OLIVEIRA, 2012).

2.2. NORMAS PARA DESTINAÇÃO DE CARCAÇAS DE ANIMAIS DE DESCARTE DEVIDO À MASTITE

A destinação de carcaças de animais de descarte devido à mastite no Brasil é regulamentada pelo decreto Nº 10.468 de 18 de agosto de 2020, denominado Regulamento de Inspeção Industrial dos Produtos com Origem Animal (RISPOA) (BRASIL, 2020).

Nas versões anteriores o RIISPOA tratava os quadros de mastite em vacas leiteiras de descarte de modo único, sem levar em conta a cronicidade das lesões, sendo que todas as carcaças e órgãos de animais com mastite com comprometimento sistêmico deveriam ser destinadas a esterilização, enquanto quando não houvesse comprometimento sistêmico deveriam ser liberadas.

Atualmente o artigo 162 do RIISPOA (BRASIL, 2020) tem maior severidade quanto à destinação das carcaças de animais de descarte devido à mastite, sendo que quando há comprometimento sistêmico as carcaças são condenadas. Quando há mastite aguda, somente a

glândula mamária é condenada e a carcaça é destinada a esterilização pelo calor. Já quando há mastite crônica, a glândula mamária é condenada e o restante da carcaça é liberado.

2.3. AGENTES CAUSADORES DE MASTITE

Os quadros de mastite podem ser causados por diversos agentes como leveduras, fungos, bactérias (DOS SANTOS et al., 2017). Dentre as bactérias Gram-positivas de maior importância nos casos de mastite estão *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* (BRITO; BRITO; ARCURI, 2002). Dentre os grupos dos coliformes ambientes encontram-se ainda *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp*. (DOS SANTOS et al., 2017).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)

As bactérias deste gênero são microrganismos comensais da pele de animais e de humanos, podendo ser encontradas também no meio ambiente. São caracterizadas por terem o formato de cocos e a coloração de Gram-positivas, catalase positiva, anaeróbios facultativos, imóveis, oxidase-negativa e ausência de formação de esporos (QUINN et al., 2007).

O *Staphylococcus aureus* é comumente associado como agente causador de mastites, por ser comensal na microbiota da pele do teto, facilitando a contaminação da porção interna do teto, por exemplo carregado por água, vácuo das teteiras ou outros instrumentos para o interior do teto onde é um agente oportunista.

Estima-se que para cada caso de mastite clínica devem existir entre 15 e 40 casos de mastite subclínica, nos rebanhos. Animais que apresentam mastite subclínica por *S. aureus* constituem-se em permanentes fontes de risco de infecção para outros animais e podem potencializar a prevalência das infecções dentro dos rebanhos (SIMÕES; DE OLIVEIRA, 2012).

A bactéria *Staphylococcus aureus* é uma das principais causadoras de intoxicações em humanos, devido a capacidade de produção de enterotoxina estável ao aquecimento e resistente a ação de diversas enzimas (GUIMARÃES et al., 2013). Sendo um microrganismo de importância nos casos de mastite, devido ao risco da produção de enterotoxina pode levar a riscos de saúde pública (NADER FILHO et al., 2007).

Staphylococcus hyicus

A bactéria *Staphylococcus hyicus* é um importante patógeno dos animais domésticos, sendo um *Staphylococcus* coagulase variável (JERICÓ; KOGIKA; NETO, 2015). Segundo FERRASSO; GONZALEZ; TIMM, (2015) o *Staphylococcus hyicus* é uma espécie comumente

envolvida em lesões cutâneas em bovinos, sendo frequentemente isoladas de surtos de infecção intramamário e mastites clínicas (QUINN et al., 2007).

Caracteriza-se por ser uma *Staphylococcus* não hemolítico, onde algumas cepas podem produzir enterotoxinas. (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005), podendo chegar em até 81,3% das bactérias *Staphylococcus hyicus* (GUIMARÃES et al., 2013). Tem a capacidade de gerar doenças em humanos e ser transmitidas a partir de alimentos como o leite (FERRASSO; GONZALEZ; TIMM, 2015). Junto com *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus intermedius*, o *Staphylococcus hyicus* é uma bactéria que pode ser comumente isolada em mastites subclínicas, estando entre os principais patógenos intramamários dentre os *Staphylococcus* coagulase-negativos (GUIMARÃES et al., 2013).

Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae é uma bactéria Gram-positiva frequentemente encontrada em casos de mastite subclínica (MESQUITA et al., 2019; PANG et al., 2017), além de estar associada a casos meningite neonatal em humanos (LYHS et al., 2016) e meningoencefalite em peixes (PEREIRA et al., 2010).

O isolamento de *Streptococcus agalactiae* pode ser feito a partir de diversos protocolos: Um método é a partir de meio de cultura seletivo como Ágar Edwards modificado enriquecido com 5% de sangue ovino, normalmente sendo positiva as colônias azuladas, com 1 a 2 mm de diâmetro, brilhantes, com ou sem formação opaca ao redor (MESQUITA et al., 2019). Outro método é utilizado meio de Ágar Sangue, incubado a 37°C durante 24 a 48 horas, sendo caracterizado fenotipicamente as colônias como: 0.5 a 1 mm, translúcida, com alfa ou beta hemólise, sendo feito então coloração de Gram e testes bioquímicos como: Hidrólise esculina e hipurato de sódio, teste de CAMP, teste de carboidratos e álcoois como: inulina, lactose, manitol, rafinose, salicina, sorbitol e trealose, além de crescimento a 6.5% de NaCl. Um terceiro método é a partir do uso de meio de enriquecimento de caldo de Todd-Hewitt durante 6 horas, em seguida sendo semeado para Todd-Hewitt ágar durante 18 horas a 37 °C (PANG et al., 2017).

Streptococcus bovis

Streptococcus bovis: É uma bactéria *Streptococcus* não enterococo do grupo D (KONEMAN et al., 2001), sendo considerada entre alguns dos *Streptococcus* mais isolados em mastite (MASSOTE et al., 2019). É uma bactéria ambiental, associada a mastite estreptocócica em propriedades com problemas ambientais de higiene (JOBIM et al., 2010)

Streptococcus dysgalactiae

Este microrganismo é uma bactéria Gram-positivo ambiental comumente encontrado Solo, fezes, lama e camas orgânicas (COSER; LOPES; COSTA, 2012). Em algumas literaturas esta bactéria é tratada como intermediária entre mastites contagiosas e ambientais por ser encontrado no ambiente de bovinos e isolado a partir de tonsilas, da boca e da vagina de vacas(LANGONI et al., 2017; QUINN et al., 2007). O *Streptococcus dysgalactiae* tem como característica a possibilidade de invadir células epiteliais da glândula mamária, podendo então ser um contaminante disseminado durante a ordenha dos animais (QUINN et al., 2007).

Klebsiella spp.

A *Klebsiella spp.* é uma bactéria Gram-negativa, comum em mastites clínicas (LANGONI et al., 2015), estando presente no solo, água, fezes e em diferentes pontos do rebanho leiteiro, podendo levar a grandes perdas econômicas devido a sua baixa resposta a terapia antimicrobiana (NÓBREGA et al., 2013), rápida evolução a choque toxigênico e morte do animal (LANGONI et al., 2015). A principal espécie do gênero na causa de mastites é a *Klebsiella pneumoniae*, tendo ferramentas de resistência como ESBL (β -lactamases de espectro estendido) (NÓBREGA et al., 2013) e carbapenemases (LANGONI et al., 2015)

Queda de produção de leite e morte do animal estão os principais problemas causados por mastites clínicas por *Klebsiella*, sendo até mesmo mais significantes que mastites clínicas causadas por *Escherichia coli* (LANGONI et al., 2015). O isolamento de *Klebsiella spp.* pode chegar em até 42,8% das bactérias Gram-negativas causadoras de infecções intramamárias (WATTS, 1988).

Escherichia coli

A *Escherichia coli* é uma bactéria importante nos casos de mastite, sendo uma bactéria Gram-negativa, não esporulada, anaeróbico facultativo e da família enterobacteriaceae (PARUSSOLO, 2018), sendo comensal do trato digestório dos mamíferos (IBRAHIM et al., 2018) e podendo estar no ambiente (PERES NETO; ZAPPA, 2011). Diversas cepas de *E. coli* tem demonstrado resistência a diversos antimicrobianos a partir de diversos mecanismos como a produção de β -lactamases e carbapenemases (PARUSSOLO, 2018). É relatado como um dos agentes de origem ambiental mais presentes em casos de mastite, com casos que podem levar a sinais clínicos severos que podem levar animais à óbito.(JOBIM et al., 2010)

2.4 PROVAS BIOQUÍMICAS

Para a correta identificação das bactérias presentes nas amostras coletadas foram utilizadas provas bioquímicas

A prova da catalase é uma prova comumente utilizada para a diferenciação de bactérias do gênero *Staphylococcus* para bactérias do gênero *Streptococcus*. Para o teste foi utilizado peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3% em uma lâmina, conforme descrito por KONEMAN et al. (2001), realizando uma reação pelo contato da amostra que foi testada, colocada por alça, com o peróxido de hidrogênio. Considerava-se catalase positiva a bactéria que tinha a enzima catalase, a qual decompõe o H₂O₂ liberando oxigênio, conforme descrito por OLIVEIRA (2012).

A prova da coagulase se trata da identificação da capacidade de uma bactéria em coagular o plasma sanguíneo, transformando fibrinogênio em fibrina. O resultado foi considerado positivo quando havia formação de fibrina no interior dos tubos de ensaio após 24h de incubação à 37°C. A positividade no teste da coagulase é comumente associada a bactérias como: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hycus* e *Staphylococcus intermedius*. Para o teste foi utilizado o plasma de coelho, sendo realizado em tubos (OLIVEIRA, 2012).

A prova de fermentação de açúcares é realizada para a caracterização de uma bactéria pelas provas de fermentação de carboidratos, durante o processo gerando ácido e até mesmo gás, esta acidificação do meio gera alteração de cor devido ao consumo do carboidrato. Foi realizada em tubos com uma concentração de 1% de açúcares, foram utilizados trealose, sacarose e manitol em bactérias Gram + e glicose, sacarose e lactose em bactérias Gram -, A prova da urease identifica bactérias que tenham a enzima urease e assim consequentemente possam utilizar a ureia, formando moléculas de amônia (OLIVEIRA, 2012). Foi realizada em tubos, quando uma colônia é considerada positiva ela tem o meio alterado da coloração amarela para a tons rosados.

O teste de Vogues-Proskauer, também conhecido apenas como VP, avalia a produção de acetilmetilcarbinol a partir da fermentação da glicose (OLIVEIRA, 2012). A produção de acetilmetilcarbinol (acetoína) foi avaliada pela conversão do mesmo à diacetilo por ação do hidróxido de potássio e oxigênio, sendo o diacetilo convertido em um complexo vermelho pela utilização de soluções de α -naftol e creatina (KONEMAN et al., 2001).

A prova da esculina um teste que visa a habilidade de hidrólise de esculina para esculetina e glicose (KONEMAN et al., 2001), já a prova da bile esculina avalia a capacidade da bactéria hidrolisar a esculina em esculetina e glicose, em meio com 10 a 40% de bile.(OLIVEIRA, 2012). As bactérias catalase negativas foram submetidas a essas provas, de modo que quando positivas apresentavam coloração enegrecida.

Comumente utilizado para diferenciação de *Streptococcus* grupo D de outros que não pertençam a este grupo (KONEMAN et al., 2001; OLIVEIRA, 2012).

A prova de NaCl 6,5% também conhecida como teste de tolerância ao sal (NaCl 6,5%), é realizado a semeadura da bactéria em meio base de infusão ou ágar contendo NaCl a 6,5%, é uma característica utilizada para diferenciação de *Enterococcus* dos *Streptococcus* não enterocócicos do grupo D (KONEMAN et al., 2001).

O teste CAMP é utilizado para identificação presuntiva de *Streptococcus* β -hemolíticos do grupo B. O teste se trata da avaliação sinérgica da beta hemólise produzida pelo *Staphylococcus aureus* e o fator CAMP (Christie, Atkins e Munch-Petersen), produto dos *Streptococcus* grupo B (KONEMAN et al., 2001).

Para isto, foi realizado o cultivo em estria do *Staphylococcus aureus* cepa ATCC (Accredited Reference Material) 23235 na placa e perpendicular a esta estria, porém sem haver contato entre elas, e realizada a estria da amostra a ser testada. Nos casos positivos para a interação entre o fator CAMP e a beta hemolisina formam uma área em forma de “seta” (OLIVEIRA, 2012). A prova da oxidase também conhecida como teste da citocromo-oxidase é normalmente utilizada para a diferenciação das bactérias dos gêneros: *Aeromonas*, *Plesiomonas* e *Pseudomonas* (KONEMAN et al., 2001). A prova atesta a produção de citocromo oxidase a partir do contato de tiras comerciais embebidas com reativos, que quando positivos apresentaram-se com a coloração azul na tira. (OLIVEIRA, 2012).

A avaliação ágar de ferro e açúcar tríplice em meio TSI (triple sugar iron ágar) foi utilizado para uma avaliação de múltiplas características bioquímicas dentre elas: Fermentação de glicose, fermentação de lactose e/ou sacarose, produção de gás e produção de H₂S (OLIVEIRA, 2012). O meio foi produzido de maneira que quando sólido estivesse em bisel, assim criando duas regiões, fundo e superfície inclinada, que foi importante para a avaliação da fermentação de açúcares pela mudança de cor. No fundo ainda foi observada a produção de gases e a produção de H₂S (sulfeto de hidrogênio) (KONEMAN et al., 2001; OLIVEIRA, 2012).

A avaliação da descarboxilação de oo, motilidade e indol pelo meio MIO ornitina, motilidade e indol pelo meio MIO (motilidade, indol e ornitina) foi utilizada para avaliação da motilidade das bactérias em meio semissólido, detecção da atividade de ornitina-decarboxilase e a formação de indol. O indol é um dos produtos da clivagem do triptofano do meio pela enzima triptofanase das bactérias indol-positivas (OLIVEIRA, 2012), para

visualização do resultado foi necessário o uso do reagente de Kovac, que contém Pdimetilaminobenzaldeído (KONEMAN et al., 2001). A característica de motilidade das bactérias foi *Klebsiella*, que são consideradas bactérias imóveis (KONEMAN et al., 2001). A terceira análise realizada no meio MIO foi a de ação enzimática da bactéria de descarboxilação da . A ação dessa enzima a uma mudança de pH do meio, alcalinizando, desenvolvendo então no meio uma coloração azul-arroxeadada (KONEMAN et al., 2001; OLIVEIRA, 2012)

A prova do citrato é utilizada para avaliar a capacidade de uma bactéria em utilizar o citrato de sódio como única fonte de carbono(OLIVEIRA, 2012). O meio foi produzido em tubos de maneira que o meio forme um bisel, a bactéria a ser testada foi estriada na parte inclinada e caso houvesse o consumo de carbono havia a mudança da coloração meio para a cor azul devido a extração do nitrogênio do fosfato de amônio presente no meio (KONEMAN et al., 2001). A prova da fenilalanina é determinante na identificação de bactérias do gênero *Proteus*, se avaliando a capacidade da bactéria em transformar fenilalanina em ácido fenilpirúvico (OLIVEIRA, 2012). Além das bactérias do gênero *Proteus*, poucas outras bactérias têm a enzima responsável pela desaminação oxidativa da fenilalanina-desaminase, alguns exemplos são as bactérias do gênero *Morganella*, *Providencia* e algumas espécies do grupo *Enterobacter* (KONEMAN et al., 2001). O resultado foi definido pelo surgimento da coloração verde após o crescimento do reagente de cloreto férrico no meio (KONEMAN et al., 2001; OLIVEIRA, 2012). Assim como o teste de VP, a prova do Vermelho de Metila (VM) avalia o metabolismo do piruvato, produto da fermentação da glicose. As bactérias VM-positivas utilizam a via de fermentação ácida mista, produzirão no meio ácidos fortes que levaram pH do meio para próximo ou inferior à 4, 4,.(KONEMAN et al., 2001) O teste foi feito em tubos, e a partir do crescimento da bactéria no meio foi adicionado o reagente Vermelho de Metila e nos resultados positivos, devido a redução do pH, era obtida uma coloração avermelhada Como exemplo de bactérias VM-positivas temos a *Escherichia coli*, e como VM-negativas um exemplo é a *Klebsiella pneumoniae* (OLIVEIRA, 2012).

A descarboxilação da arginina semelhantemente ao que ocorre na avaliação da ornitina no meio MIO, a avaliação da ação das enzima arginina-descarboxilase se dá pela produção de aminos alcalinas. O teste foi realizado em tubo que contendo arginina, caso a bactéria contivesse a enzima carboxilase haveria a produção de citrulina, levando a alcalinização do meio e em decorrência a isso a manutenção da cor azul-arroxeadado do meio (KONEMAN et al., 2001).A prova do meio LIA (*lysine iron agar*) avaliou tanto a enzima lisina descarboxilase quanto a produção de sulfeto de hidrogênio. Quando ocorria positividade no meio LIA a enzima lisina-

descarboxilase gera uma amina alcalina cadaverina, de maneira que leve a alcalinização do meio e produção de coloração azul-arroxeadado. Poderá também ocorrer a produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S) que foi detectado pela formação enegrecida no fundo do tubo (KONEMAN et al., 2001). Quando inoculado em meio LIA as bactérias do gênero *Protheus* irão desaminar os aminoácidos, sendo detectado uma coloração avermelhada no bisel do meio (KONEMAN et al., 2001).

3. OBJETIVO:

3.1 Objetivo geral

Caracterizar mastite aguda e crônica com base na visualização macroscópica da glândula mamária e possíveis alterações de carcaça e identificar os principais microrganismos causadores das mastites.

3.2 Objetivo específico

- Determinar quais alterações da glândula mamária são observadas em quadros de mastite crônica e aguda.
- Identificar os principais microrganismos causadores de mastites de vacas destinadas ao abate.
- Realizar um levantamento territorial do descarte de vacas com mastite no Estado de Santa Catarina.
- Estimar os fatores de risco relacionados à presença de mastite clínica aguda e crônica em vacas ao abate.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas 57 amostras de glândulas mamárias de vacas com mastite destinadas ao descarte. As coletas foram realizadas ao longo do ano de 2022 se concentrando principalmente no primeiro semestre. Em todas as coletas foram conduzidas em um abatedouro frigorífico sob Serviço do Inspeção Federal (SIF) no Estado de Santa Catarina, com tradição em abate de vacas leiteiras de descarte. As vacas abatidas eram originárias de propriedades leiteiras localizadas nas regiões do Meio-oeste e Oeste de Santa Catarina (Figura 1).

Figura 1 – Localização dos municípios dos quais foram originadas as vacas cujos úberes foram analisados no experimento. O tamanho das bolas representa o número de animais



4.1 Coleta de dados

O estudo foi dividido em duas etapas, na primeira etapa foram coletados dados através das Guias de Transporte Animal (GTA) e laudos de abate, rastreando através do brinco dos animais, coletando dados de prevalência entre mastites agudas e crônicas e identificadas em conjunto com o serviço de inspeção federal. Foram feitos levantamentos da idade dos animais e a região de origem para realização da prevalência por região de Santa Catarina.

4.2 Análise das glândulas mamárias

Esta foi desenvolvida junto a linha de produção do frigorífico, sendo iniciada anteriormente ao início dos abates, sendo feitas análises visuais dos animais que ficam distribuídos em currais pré-abate (Figura 2) identificando através do comportamento animal e do aspecto dos úberes possíveis animais alvos do trabalho e anotando seus lotes.

Figura 2 - Curral pré-abate (acervo do autor)



Quando o abate se iniciava os pesquisadores se dirigiam para a linha de úberes, onde havia uma mesa de inspeção de úbere e foram disponibilizados dois carrinhos para auxílio da coleta das glândulas mamárias.

Um dos carrinhos ficava destinado ao apoio dos materiais como sacos plásticos, faca, caixa isotérmica para armazenamento das amostras já coletadas, etiquetas de identificação, caderno para anotações, canetas e celulares para registros fotográficos.

O segundo carrinho tinha uma bandeja acoplada para que os úberes fossem posicionados, fotografados e tivessem uma porção coletada como amostra. Após cada coleta a bandeja, a mesa e a faca eram higienizadas com água quente visando minimizar a contaminação cruzada.

Cada glândula mamária retirada durante o procedimento de esfolagem foi analisada por um funcionário treinado e caso houvesse qualquer alteração a carcaça era marcada e a glândula desviada para análise do Serviço de Inspeção Federal (SIF). Isto é, glândulas mamárias apresentando qualquer lesão, ou anormalidade eram desviadas para a linha de úbere, como abscessos, edema hiperemia ou outro sinal de alteração e em seguida colocada no carrinho para análise da lesão, na porção externa e interna da glândula (Figura 3), registro fotográfico e retirada de amostra para exame microbiológico. A carcaça marcada era posteriormente desviada para o Departamento de Inspeção Final (DIF) onde era analisada juntamente com vísceras, cabeça e língua para a certificação de que o animal não possuía acometimento sistêmico que comprometesse a carcaça.

Figura 3 - Imagem a exposição da porção externa do úbere após esfolo (esquerda) e porção interna da glândula mamária após esfolo (direita), na qual é possível visualizar a etiqueta utilizada para relacionar a glândula às demais partes da carcaça na linha de produção. (acervo do autor)



4.3 Coleta Das Glândulas Mamarias

A coleta era realizada no carrinho, aparte da linha de produção para evitar atrasos à linha. Inicialmente foram realizados registros fotográficos da porção externa da glândula, em seguida, da porção interna, focando sempre nas lesões específicas.

Posteriormente, com o auxílio de uma faca, foram seccionadas porções da lesão apresentada, tentando contemplar nesta porção os bordos da lesão quando possível. Estas alíquotas foram armazenadas em sacos plásticos e identificadas com a ordem de abate e número do brinco do animal e estes armazenados em caixa isotérmica com almofadas térmicas congeladas para resfriar o material.

4.4 Isolamento bacteriano

As amostras foram transportadas imediatamente após a sessão de abate até o Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) em Lages, onde eram processadas. Inicialmente as amostras foram flambadas superficialmente visando minimizar contaminação e com o auxílio de uma lâmina de bisturi estéril foi realizada uma incisão de onde foi coletado material com suabe estéril e estriado em ágar sangue. Em seguida foi realizado o isolamento das colônias para a identificação, com o

auxílio de uma alça de platina utilizando a técnica de esgotamento em ágar sangue, durante 24 horas.

4.5 Identificação bacteriana

A primeira caracterização realizada dos microrganismos fora uma caracterização fenotípica, onde se baseia nas características morfológicas que o microrganismo apresenta quando cultivado em meio de cultura, no caso ágar sangue, em 24 ou 48 horas. O ágar sangue se trata de um bom meio de cultura para patógenos, sendo adequado para o isolamento primário das amostras, além de permitir o reconhecimento da produção de hemolisinas. Os critérios de morfologia a serem observados são: O tamanho das colônias, que podem ser apresentar puntiformes, pequenas, médias ou grandes, a coloração, presenta de hemólise, bordos, podendo se apresentar como regulares ou irregulares e odor (Quinn et al., 2011)

Além de outras características quanto ao seu crescimento: Crescimento podendo se apresentar em 24 ou 48 horas, crescimento apresentando-se aeróbio ou anaeróbio e temperatura de crescimento (KONEMAN et al., 2001)

Junto a estas informações estas bactérias também foram observadas em microscopia, sendo as amostras semeadas em ágar sangue pelo método de esgotamento, durante 24 ou 48 horas e em seguida realizada a coloração de Gram, como descrito por (OLIVEIRA, 2012). Durante a microscopia foram observadas a morfologia e apresentação colonial, assim como a coloração encontrada, diferenciando-as entre Gram-positivas e Gram-negativas (Quinn et al., 2007).

As bactérias foram definidas em seus respectivos gêneros e espécies de acordo com diversas informações como as características fenotípicas em placa e as classificações fisiológicas e bioquímicas. (KONEMAN et al., 2001).

4.6 Congelamento de Bactérias:

Entre a realização da identificação morfo-tintorial e as provas bioquímicas as bactérias foram armazenadas sob congelamento a -20°C , em caldo BHI com glicerol, conforme Saeki et al., 2015.

4.7 Realização das provas bioquímicas

A classificação por provas bioquímicas foi realizada a partir das bactérias em 24 horas, que garantiriam a boa viabilidade da cepa, em provas bioquímicas específicas para cada classificação de Gram, ver tabela 1. Os meios específicos para estas provas bioquímicas foram produzidos em tubos e placas no próprio laboratório.

Tabela 1 - Provas bioquímicas realizadas para identificação dos microrganismos

Provas bioquímicas		
Gram-positivos		Gram-negativos
Catalase +	Catalase -	
Teste da Coagulase	CAMP Teste	Teste da Oxidase
Prova de fermentação de açúcares: Trealose, Sacarose	Prova de fermentação de açúcares: Trealose e Sorbitol	Teste da Urease
Teste da Urease	Teste da Esculina	Avaliação Ágar de Ferro e Açúcar triplice em meio TSI
Teste de Vogues-Proskauer (VP)	Crescimento em ágar Bile esculina	Avaliação de descarboxilação da Ornitina, motilidade e indol pelo meio MIO
Crescimento em ágar Manitol Salgado	Crescimento em NaCl 6,5%	Teste de Citrato de Simmons
		Teste de Fenilalanina
		Teste de Vogues-Proskauer (VP)
		Teste de Vermelho de Metila (VM)
		Teste de descarboxilação de Arginina
		Avaliação em meio LIA

4.8 Análise de dados e informações

Para os dados quantitativos foram elaboradas tabelas com as frequências proporcionais de cada lesão e identificação de microrganismos.

As lesões relacionadas às diferentes classificações das mastites (aguda ou crônica), quanto ao destino das carcaças (consumo, conserva ou descarte) e quanto ao número de quartos enfermos foram caracterizadas através da técnica de “nuvem de palavras” utilizando o programa Power BI (Microsoft Inc.)

Nuvens de palavras (NP) são recursos gráficos que representam frequências de termos em hipertextos. São imagens compostas de palavras utilizadas em um texto nas quais o tamanho de cada palavra indica sua frequência ou importância. As NP são uma opção à análise de textos e na disseminação de resultados de pesquisas de abordagem qualitativa (Surveygizmo, 2017).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Mastite

As lesões relacionadas à mastite podem apresentar-se de diferentes maneiras, dependente das vias de infecção, do tempo de duração da infecção e dos patógenos atuantes. Dentre o total de amostras coletadas, 37 glândulas foram consideradas como mastite crônica, 17 glândulas classificadas como mastite aguda e 2 como portadores das lesões características de mastite aguda e crônica (tabela 2).

Tabela 2 - Classificação das mastites em agudas e crônicas

Classificação da glândula	Contagem de classificação da glândula	%
crônica	37	66,07%
aguda	17	30,36%
aguda e crônica	2	3,57%
Total Geral	56	100,00%

5.2 Mastite aguda - descrição da lesão

A mastite aguda é caracterizada por ser uma lesão edematosa, com grande quantidade de secreção exsudativa, serosa ou hemorrágica (Figura 4). Segundo Lopes (2011) na mastite clínica há sinais evidentes do processo inflamatório como edema e perda da função do órgão afetado.

Figura 4 - Mastites agudas, sendo possível visualizar grumos de leite (esquerda). (acervo do autor)



Como descrito por SANTOS e ALESSI (2016) em quadros de mastite aguda se pode ver os seguintes pontos: aumento de volume na glândula afetada, edema, hiperemia e acúmulo de

exsudado na cisterna do teto, podendo ser notado um aumento de volume dos linfonodos mamários

Assim, a descrição das lesões relacionadas à mastite aguda pelo método da nuvem de palavras (Figura 5) evidenciou a ocorrência do edema no tecido da glândula mamária na maioria das glândulas mamárias. As demais lesões também puderam ser encontradas como lesões papulares, fibroses, granulações e demais lesões evidenciadas na nuvem de palavras.

Nestas lesões agudas, o linfonodo mais afetado foi o linfonodo mamário (tabela 4), sendo que alguns animais não apresentavam alterações nos linfonodos (normais) ou com alterações nos linfonodos pré-escapulares ou ilíacos, bem como raramente em outros linfonodos. Estas alterações podem também ser relacionados a outras lesões que os animais poderiam apresentar. As glândulas mamárias apresentavam secreções predominantemente purulentas, em 94,7% dos casos (Figura 7), porém outras secreções, assim como a presença de leite estavam frequentemente associadas às secreções purulentas.

Tabela 3 Palavras que descrevem a mastite aguda

Lesão Aguda	Contagem de lesões
Edema	11
Abcesso	2
Lesão papular	1
Fibrose	3
Conteúdo purulento difuso	1
Grumos	1
Coloração pálida difusa	1
Total	20

Figura 5 Palavras que descrevem a mastite aguda

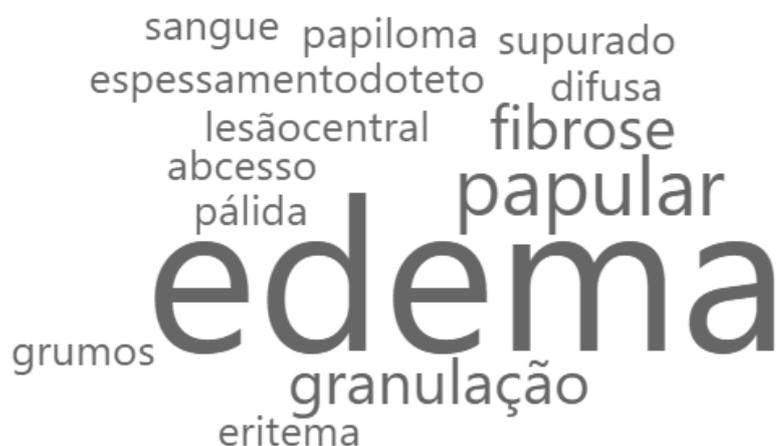


Tabela 4 Linfonodos acometidos na mastite aguda

Mastite aguda	Contagem de linfonodo acometido
Linfonodo pré-crural	1
Linfonodo ilíaco	2
Linfonodo mamário	13
Linfonodo pré escapular	2
Total Geral	18

Figura 6 Nuvem de palavras dos linfonodos acometidos na mastite aguda



Tabela 5 Secreções apresentadas em glândulas mamárias com mastite aguda

Mastite Aguda	Contagem de secreção
Leite com grumos	1
Sanguinolenta	1
secreção purulenta	14
Secreção serosa	4
Serosanguinolenta	3
Total Geral	23

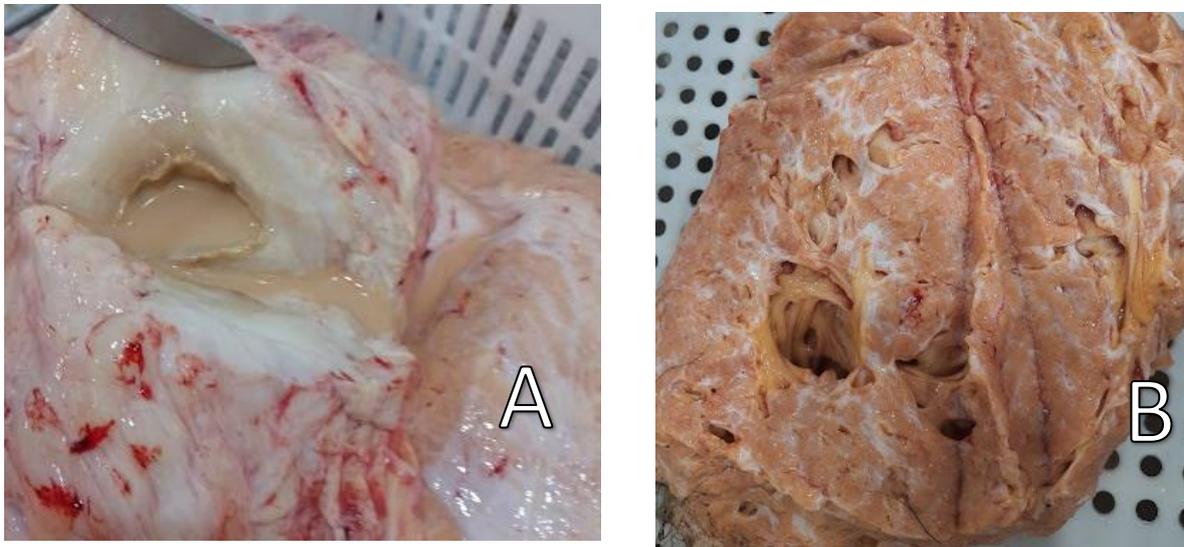
5.3 Mastite Crônica - descrição da lesão:

A mastite crônica apresenta-se com redução significativa da produção de leite não necessariamente atrelada a sinais de processos inflamatórios. Comumente ocorre a perda definitiva da função dos quartos mamários afetados devido à fibrose tecidual (LOPES, 2011).

As glândulas mamárias enquadradas como mastite crônica classificadas durante o experimento apresentaram, de maneira geral, abscessos com paredes espessadas, apresentando secreção purulenta espessa, podendo apresentar vários abscessos distribuídos pelo parênquima da glândula ou poucos e grandes abscessos (figura 7 A). O aumento de espessura e consistência

firme do parênquima está associado inicialmente a fibroplastia e posteriormente a fibrose nos quadros crônicos de mastite (SANTOS; ALESSI, 2016).

Figura 7 Glândula mamária com mastite crônica, visualização de abscesso (A) Glândula mamária com mastite crônica, presença de tecido de granulação, consistência endurecida (B). (acervo do autor)



Também as mastites crônicas puderam ser classificadas devido a grande quantidade de fibrose, porém com poucos ou nenhum abscesso, provavelmente em animais em processo de recuperação (figura 7 B)

Em alguns casos foi possível encontrar glândulas mamárias acometidas por mastite crônicas apresentando espessamento do parênquima, rigidez de tecidos, com ausência de secreções ou abscessos (Figura 7 A), sendo que dentre as secreções encontradas a maior incidência foram de secreções purulentas (tabela 8). Nestes casos um dos agentes comumente isoladas que podem ser possíveis causadores deste quadro são mastites estreptocócicas, causadas por bactérias do gênero *Streptococcus* (SANTOS e ALESSI 2016).

As glândulas mamárias classificadas como crônicas tiveram grande incidência de linfonodos mamários acometidos secundariamente aos linfonodos sem acometimento seguidos de acometimento dos linfonodos ilíacos, que poderiam estar envolvidos em outra lesão (tabela 7)

Tabela 6 - Palavras que descrevem a mastite crônica

Lesões de Mastite Crônica	Total
Edema	30
Abcesso	20
Tecido de granulação	8
Fibrose	12
Lesão papular	5
Sinais de necrose	2
Distensão cutânea lateral ao teto	1
Palidez difusa	2
Total	80

Figura 8 - Linfonodos acometidos na mastite crônica

normal
préescapular /
mamário
ilíaco

Tabela 7 - Linfonodos acometidos na mastite crônica

Mastite crônica	Contagem de Linfonodo acometido
Linfonodo ilíaco	7
Linfonodo mamário	17
Linfonodo pré escapular	2
Linfonodo pré-crural	1
Total Geral	27

Tabela 8 - Secreções mastite crônica

Mastite Crônica	Contagem de secreção
Leite com grumos	2
secreção purulenta	24
Secreção serosa	1
Secreção Serosanguinolenta	8
Total Geral	35

Além das lesões presentes na glândula mamária foram encontrados em alguns animais outras lesões que podem ou não estar relacionadas ao quadro sistêmico de mastite como necrose de fibras musculares (Figura 9), nefrose e endocardite.

Figura 9 musculatura posterior de carcaça apresentando necrose das fibras, uma evidência de aplicação de medicamento. (acervo do autor)



5.4 Resultados microbiológicos:

Nos levantamentos das microbiológicos foram encontradas 93 bactérias advindas do isolamento das amostras retiradas das glândulas mamárias coletadas, a partir da caracterização das colônias, assim como dos testes bioquímicos (figura 10).

Figura 10 - Total de bactérias identificadas

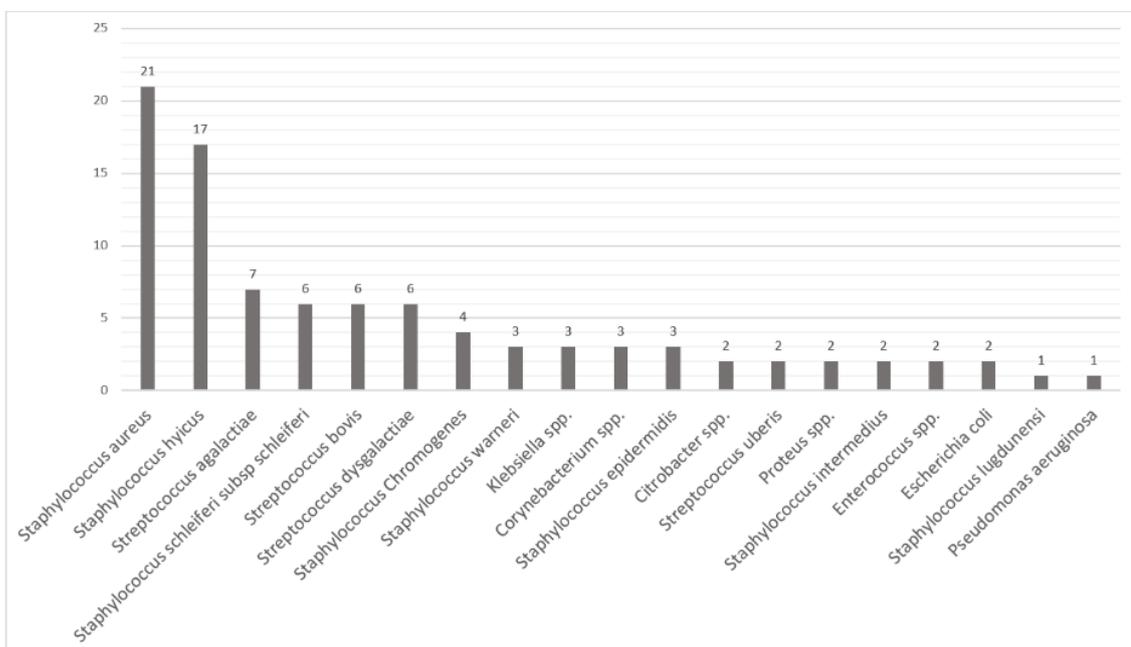


Tabela 9 - Relação entre bactérias Gram positivas e negativas.

Bactérias	Contagem	%
Gram-positivas	83	89,25%
Gram-negativas	10	10,75%
Total	93	100,00%

As bactérias Gram-positivas corresponderam a 89% (tabela 9) das bactérias isoladas, sendo o gênero *Staphylococcus* o mais isolado (tabela 4 - 61,3% de todas as bactérias isoladas), assim como encontrado por (FERREIRA et al., 2007). A alta prevalência de *Staphylococcus aureus* (22,58% de todas as bactérias isoladas) vai de encontro com outros estudos onde encontraram a bactéria *S. aureus* como a principal bactéria causadora das mastites clínicas e subclínicas, como por exemplo DOS SANTOS; PEDROSO; GUIRRO (2010) que encontraram 18,70% de presença de *Staphylococcus aureus* em amostras de mastite.

Tabela 10 - Tabela de distinção de gêneros

Espécie	Contagem	%
<i>Staphylococcus</i>	57	68,67%
<i>Streptococcus</i>	21	25,30%
<i>Enterococcus spp.</i>	2	2,41%
<i>Corynebacterium spp.</i>	3	3,61%
Total	83	100,00%

A importância da identificação das bactérias do gênero *Staphylococcus* se dá pela quantidade de surtos de doenças transmitidos por alimentos, sendo que de acordo com a Coordenação-Geral de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial do Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis (BRASIL, 2020) dentre 2007 e 2015 as bactérias do gênero *Staphylococcus* foram o terceiro gênero mais causador de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA).

Tabela 11 - Tabela de comparação entre coagulases positivas e negativas

Espécie	Contagem	%
<i>Staphylococcus</i> coagulase +	23	40%
<i>Staphylococcus</i> coagulase -	34	60%
Total	57	100%

Das bactérias do gênero *Staphylococcus*, 40% eram *Staphylococcus* coagulase positivo e 60% eram coagulase negativo (ver tabela 11), com destaque para *Staphylococcus aureus* dentre o grupo coagulase-positivo e *Staphylococcus hyicus* no grupo de coagulase-negativo. A bactéria *Staphylococcus hyicus* foi relatada por GUIMARÃES et al. (2013) como a principal bactéria *Staphylococcus* coagulase-negativa isolada de mastites.

Os *Staphylococcus* coagulase-negativo (SCN) são considerados como agentes secundários em mastites, devido a sua baixa patogenicidade, contudo a característica de produção de enterotoxina de muitas destas espécies assim como o caráter de infecções persistentes trazem importância para este gênero (LANGONI et al., 2017). Assim como outras espécies do gênero *Staphylococcus*, o microrganismo *Staphylococcus hyicus* tem a capacidade de produção de enterotoxinas, gerando riscos à saúde humana quando presentes em alimentos (FERRASSO; GONZALEZ; TIMM, 2015).

A presença de bactérias de origem ambiental como *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus bovis*, e até mesmo de patógenos tratados como pouco patogênicos durante a pesquisa pode ser devido a ações nas propriedades leiteiras, que tem combatido os patógenos clássicos causadores de mastite, permitindo que outros microrganismos acometam estes animais (JOBIM et al., 2010).

Dentre as bactérias Gram-positivas as bactérias do gênero *Streptococcus* corresponderam a cerca de 25% das bactérias isoladas, com destaque para as bactérias *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus bovis*, sinalizadas por WATTS (1988) como as bactérias mais comuns deste gênero em casos de Mastite. A prevalência destas bactérias detém valores diversos, como por exemplo: a presença de *Streptococcus bovis* pode variar de 9 a 22% em determinados casos (DOS SANTOS; PEDROSO; GUIRRO, 2010) e tendo relatos de prevalência de *Streptococcus agalactiae* no Brasil em valores próximos a 60% (KEEFE, 2012). As bactérias deste gênero de maneira geral são consideradas patógenos ambientais, de modo

que a fonte de infecção é o próprio ambiente do animal, requerendo para o controle destes microrganismos não apenas o tratamento do animal mas medidas profiláticas que envolvam o ambiente (DOS SANTOS; PEDROSO; GUIRRO, 2010).

Tabela 12 - Prevalência dos gêneros dentre as bactérias Gram-negativas

Bactéria	Contagem de Bactéria	%
<i>Klebsiella spp.</i>	3	30%
<i>Escherichia coli</i>	2	20%
<i>Proteus spp.</i>	2	20%
<i>Citrobacter spp.</i>	2	20%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	10%
Total Geral	10	100%

Os microrganismos Gram-negativos corresponderam a 10,75% (ver tabela 3) das bactérias encontradas, assim como encontrado por FERREIRA et al. (2007) que obteve a prevalência de 10,71% de bactérias Gram-negativas de um total de bactérias isoladas por mastite. Onde as bactérias encontradas foram amplamente distribuídas entre *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter spp.* *Pseudomonas aeruginosa* (ver tabela 6) assim como relatado por WATTS (1988) e FERREIRA et al., (2007).

A baixa presença de bactérias gram-negativas em comparação as Gram-positivas se dá pelo caráter de as bactérias gram-negativas coliformes como *Klebsiella spp.* e *E. coli* acometerem animais com quadros agudos e superagudos de mastite clínica (COSER; LOPES; COSTA, 2012). Contudo, durante a coleta se obteve majoritariamente amostras de mastite crônicas, sendo aproximadamente 60% das amostras coletadas (ver tabela 2).

6. CONCLUSÃO

Em nível de frigorífico, nas mastites agudas as glândulas se apresentaram com tecidos edematosos, acúmulo de exsudato na cisterna do teto e eritema disseminado, apresentando os linfonodos mamários acometidos, com presença de secreção purulenta e edema. As mastites classificadas como crônicas se caracterizaram por apresentarem tecidos com aumento de rigidez e tecidos fibrosados, em diversos casos com presença de múltiplos abscessos, com aumentos de espessura da parede.

A prevalência de *Staphylococcus aureus* em casos de mastite de vacas de descarte é elevada, o que pode estar associado ao descarte de vacas devido a dificuldades de tratamento, sendo necessários estudos quanto ao histórico dos animais levados a descarte, assim como a pesquisa de genes de resistência nestas bactérias.

A elevada prevalência de *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN), especialmente de *Staphylococcus hyicus*, pode estar associada à produção de enterotoxinas destes microrganismos, havendo necessidade de mais estudos sobre a importância destes microrganismos nas mastites.

O menor isolamento de bactérias Gram-negativas pode levantar a hipótese de que as bactérias coliformes como *E. coli* e *Klebsiella spp.*, se tratando de mastites ambientais, geram quadros agudos que podem ser tratados em curto prazo, diminuindo o descarte por estes microrganismos.

7. REFERÊNCIAS:

BRASIL. Regulamento da Inspecção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)2020. p. 0–112.

BRASIL; COORDENAÇÃO-GERAL DE ZONÓSES E DOENÇAS DE TRANSMISSÃO VETORIAL DO DEPARTAMENTO DE IMUNIZAÇÃO E DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS. **Distribuição temporal dos surtos notificados de doenças transmitidas por alimentos - Brasil, 2007-2015.** [s.l: s.n.].

BRITO, José Renaldi Feitosa; BRITO, Maria Aparecida V. P.; ARCURI, Edna Froeder. Como reconhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos. **Embrapa Gado de Leite**, [S. l.], v. 70, p. 1–8, 2002.

COELHO, Karyne Oliveira; BRANDÃO, Lourival Marques; BUENO, Claudia Peixoto; MELO, Camila Silveira; DA SILVEIRA NETO, Osvaldo José. Níveis de células somáticas sobre o perfil físico-químico do leite em pó integral. **Ciencia Animal Brasileira**, [S. l.], v. 17, n. 4, p. 534–539, 2016. DOI: 10.1590/1089-6891v17i417203.

COSER, SORHAIA MORANDI; LOPES, MARCOS AURÉLIO; COSTA, GERALDO MÁRCIO DA. **MASTITE BOVINA: CONTROLE E PREVENÇÃO.** LavrasGráfica/UFLA, , 2012.

DOS SANTOS, Lucianne Leigue; PEDROSO, Tony Franco Fogaça; GUIRRO, Erica. PERFIL ETIOLÓGICO DA MASTITE BOVINA NA BACIA LEITEIRA DE SANTA IZABEL DO OESTE, PARANÁ. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, [S. l.], v. 11, n. 4, 2010. DOI: 10.5216/cab.v11i4.3654.

DOS SANTOS, Wallacy Barbacena Rosa; OLIVEIRA, Nariane Coelho De; VIEIRA, Milena de Lima; RIBEIRO, Jeferson Corrêa; CEZÁRIO, Andréia Santos; OLIVEIRA, Eliandra Maria Bianchini; CAMARGOS, Aline Sousa; VALENTE, Tiago Neves Pereira. Mastite Bovina: Uma Revisão. **Colloquium Agrariae**, [S. l.], v. 13, n. Especial 2, p. 301–314, 2017. DOI:

10.5747/ca.2017.v13.nesp.000235.

FERRASSO, Marina de Mattos; GONZALEZ, Helenice de Lima; TIMM, Cláudio Dias. *Staphylococcus hyicus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S. l.], v. 82, n. 0, p. 1–6, 2015. DOI: 10.1590/1808-1657000672013.

FERREIRA, Jorge Luís; LINS, José Luciano Freitas H. A.; CAVALCANT, Tânia Vasconcelos; DE MACEDO, Nicodemus Alves; BORJAS, Arcadio de Los Reyes. PREVALÊNCIA E ETIOLOGIA DA MASTITE BOVINA NO MUNICÍPIO DE TERESINA, PIAUÍ. **Ciência Animal Brasileira**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 261–266, 2007.

FOSTER, Robert A. Sistema Reprodutor de Fêmea e Glândula Mamária. *In*: ELSEVIER (org.). **Bases da Patologia Veterinária**. 5ed. ed. Rio de Janeiro. p. 1088–1129.

GONÇALVES, Juliano L.; CUE, Roger I.; BOTARO, Bruno G.; HORST, José A.; VALLOTO, Altair A.; SANTOS, Marcos V. Milk losses associated with somatic cell counts by parity and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 101, n. 5, p. 4357–4366, 2018. DOI: 10.3168/jds.2017-13286.

GUIMARÃES, Felipe de Freitas; NÓBREGA, Diego Borin; RICHINI-PEREIRA; BODELÃO, Virginia; MARSON, Pâmela Merlo; DE FIGUEIREDO PANTOJA, José Carlos; LANGONI, Helio. Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 96, n. 5, p. 2866–2872, 2013. DOI: 10.3168/jds.2012-5864. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5864>.

IBRAHIM, El; WAHAB, Ashraf; KHALIL, Samy; TORKY, Helmy. Prevalence of Esbl Producing Enterobacteriaceae Isolated from Bovine Mastitis Milk. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 102, 2018. DOI: 10.5455/ajvs.285225.

JAY, James M.; LOESSNER, Martin J.; GOLDEN, David A. **Modern Food Microbiology**. 7.

ed. [s.l: s.n.].

JERICÓ, Marcia Marques; KOGIKA, Marcia Mery; NETO, Pedro de Andrade. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 1. ed. Rio de Janeiro.

JOBIM, MARTA BAÑOLAS; LOPES, MARCOS AURÉLIO; COSTA, GERALDO MÁRCIO DA; DEMEU, FABIANA ALVES. Patógenos associados à mastite bovina em rebanhos leiteiros na região sul do brasil. *[S. l.]*, n. 1993, p. 175–181, 2010.

KEEFE, Greg. Update on Control of Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae for Management of Mastitis. **VFP**, *[S. l.]*, v. 28, n. 2, p. 203–216, 2012. DOI: 10.1016/j.cvfa.2012.03.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.010>.

KONEMAN, Elmer W.; JANDA, William M.; SCHRECKENBERGER, Paul C.; PROCOP, Gary W.; CHURCH, Deirdre L. **Diagnóstico Microbiológico**. [s.l: s.n.].

LANGONI, Helio; GUIDUCE, Marcos Vinicius S.; NÓBREGA, Diego B.; DA SILVA, Rodrigo C.; RICHINI-PEREIRA, Virgínia B.; SALINA, Anelise; GUIMARÃES, Felipe De F. Research of Klebsiella pneumoniae in dairy herds. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, *[S. l.]*, v. 35, n. 1, p. 9–12, 2015. DOI: 10.1590/S0100-736X2015000100003.

LANGONI, Helio; SALINA, Anelise; OLIVEIRA, Gabriela Capriogli; JUNQUEIRA, Nathália Brancato; MENOZZI, Benedito Donizete; JOAQUIM, Sâmea Fernandes. Considerações sobre o tratamento das mastites. *[S. l.]*, v. 37, n. 11, p. 1261–1269, 2017. DOI: 10.1590/S0100-736X2017001100011.

LOPES, Luciano Bastos. Mastite Bovina 1.Pdf. *[S. l.]*, p. 1–22, 2011.

LOPES, Luis Oliveria; LACERDA, Moacir Santos De; RONDA, Juliano Bérغامo. Lopes 2015. **Revista científica eletronica de Medicina Veterin[aria]**, *[S. l.]*, v. XI, p. 1–11, 2013.

LYHS, Ulrike; KULKAS, Laura; KATHOLM, Jørgen; WALLER, Karin Persson; SAHA, Kerttu; TOMUSK, Richard J.; ZADOKS, Ruth N. Streptococcus agalactiae serotype IV in humans and cattle, Northern Europe. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 22, n. 12, p. 2097–2103, 2016. DOI: 10.3201/eid2212.151447.

MAGALHÃES, H. R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V. L.; PARO DE PAZ, C. C.; CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F. Effects of environmental factors on somatic cell count and reduction of milk yield on Holstein cows | Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [S. l.], v. 35, n. 2, 2006. DOI: 10.1590/S1516-35982006000200011.

MASSOTE, Vitória Pereira; ZANATELI, Bruna Mariana; ALVES, Geovana Vilela; GONÇALVES, Elaine Santana; GUEDES, Elizângela. DIAGNÓSTICO E CONTROLE DE MASTITE BOVINA: uma revisão de literatura Vitória. [S. l.], 2019.

MESQUITA, Alan A.; ROCHA, Christiane M. B. M.; BRUHN, Fabio R. P.; CUSTÓDIO, Dircéia A. C.; BRAZ, Mirian S.; PINTO, Sandra M.; SILVA, Délcio B.; COSTA, Geraldo M. Staphylococcus aureus and streptococcus agalactiae: Prevalence, resistance to antimicrobials, and their relationship with the milk quality of dairy cattle herds in minas gerais state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S. l.], v. 39, n. 5, p. 308–316, 2019. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5821.

NADER FILHO, A.; FERREIRA, L. M.; AMARAL, L. A.; ROSSI JUNIOR, O. D.; OLIVEIRA, R. P. Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico por cepas de Staphylococcus aureus isoladas na mastite bovina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, [S. l.], v. 12, p. 1–3, 2007.

NÓBREGA, Diego B.; GUIDUCE, Marcos V. S.; GUIMARÃES, Felipe F.; RIBOLI, Danilo F.; CUNHA, Maria L. R. S.; LANGONI, H.; PANTOJA, J. C. F.; LUCHEIS, Simone B. Molecular epidemiology and extended-spectrum β -lactamases production of. **Pesq. Vet. Bras**,

[S. l.], v. 33, n. 7, p. 855–859, 2013.

OLIVEIRA, Sérgio J. De. **Guia bacteriológico prático: microbiologia veterinária**. 3. ed. Canoas.

PANG, Maoda et al. Molecular and virulence characterization of highly prevalent *Streptococcus agalactiae* circulated in bovine dairy herds. **Veterinary Research**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1186/s13567-017-0461-2.

PARUSSOLO, Leandro. DETECÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA E DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* E *Listeria monocytogenes* ISOLADAS DE QUEIJO ARTESANAL SERRANO. [S. l.], p. 1–102, 2018.

PEREIRA, U. P.; MIAN, G. F.; OLIVEIRA, I. C. M.; BENCHETRIT, L. C.; COSTA, G. M.; FIGUEIREDO, H. C. P. Genotyping of *Streptococcus agalactiae* strains isolated from fish, human and cattle and their virulence potential in Nile tilapia. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 140, n. 1–2, p. 186–192, 2010. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.07.025.

PERES NETO, Floraino(FAMED-Graça); ZAPPA, Vanesa (FAMED-Garça). MASTITE EM VACAS LEITEIRAS- REVISÃO DE LITERATURA. **Revista científica eletronica de medicina veterinária**, [S. l.], v. 16, 2011.

QUINN, John P.; MARKEY, Bryan K.; CARTER, Margery E.; DONNELLY, William C. J.; LEONARD, Finola C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S.; FANNING, S.; HARTINGAN, P. J. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. [s.l: s.n.].

SAEKI, Erika Kushikawa; FARHAT, Lúcio Pupo; PONTES, Érica Almeida. Eficiencia dos

crioprotetores glicerol e leite desnatado para o congelamento de micro-organismos. **Acta Veterinaria Brasilica**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 195–198, 2015.

SANTOS, Geraldo Tadeu Dos; CAVALIERI, Fábio Luiz Bim; MASSUDA, Ely Mitie. Alguns Aspectos Econômicos E De Manejo Na Criação de novilhas leiteiras. **Revista Balde Branco**, [S. l.], p. 56–60, 2001.

SANTOS, Marcos Veiga Dos; FONSECA, Luis Fernando Laranja Da. **Controle da Mastite e Qualidade do Leite: Desafios e Soluções**. 1ª edição ed. Pirassununga-SP.

SANTOS, Renato de Lima; ALESSI, Antonio Carlos. **Patologia veterinária**. 2ed. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

SILVA, Wesley Reniberg Timoteo; SANTOS, Daniel Vianeí Dos; SILVA, José Crisólogo de Sales; ALBUQUERQUE, Ariane Loudemila Silva De; CARVALHO, Cláudia Csekö Nolasco De. Causas de descarte de vacas e novilhas dos pecuaristas da agricultura familiar de Jacaré dos Homens- AL. **Diversitas Journal**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 20–26, 2020. DOI: 10.17648/diversitas-journal-v5i1-957.

SIMÕES, Tânia Valeska Medeiros Dantas; DE OLIVEIRA, Amaury Apolônio. Considerações e Impactos Econômicos. **Embrapa**, [S. l.], v. 170, p. 1–27, 2012.

WATTS, Jeffrey L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 41–66, 1988. DOI: 10.1016/0378-1135(88)90126-5.