



CENTRO UNIVERSITÁRIO PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS – UNIPAC

Fúlvia de Fátima Almeida de Castro

**AVALIAÇÃO DA DINÂMICA E DO PADRÃO DE INFECÇÃO DA
MASTITE SUBCLÍNICA E CLÍNICA EM UM REBANHO LEITEIRO
MANTIDO EM GALPÃO COM TÚNEL DE VENTO E CAMA DE
COMPOSTAGEM**

Juiz de Fora
2023



CENTRO UNIVERSITÁRIO PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS – UNIPAC

Fúlvia de Fátima Almeida de Castro

**AVALIAÇÃO DA DINÂMICA E DO PADRÃO DE INFECÇÃO DA
MASTITE SUBCLÍNICA E CLÍNICA EM UM REBANHO LEITEIRO
MANTIDO EM GALPÃO COM TÚNEL DE VENTO E CAMA DE
COMPOSTAGEM**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Banca Examinadora da
Universidade Presidente Antônio Carlos,
como exigência parcial para obtenção do
título de Bacharel em Medicina
Veterinária.

Orientadora: Glênia Campos

Juiz de Fora
2023



CENTRO UNIVERSITÁRIO PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS – UNIPAC

Fúlvia de Fátima Almeida de Castro

**AVALIAÇÃO DA DINÂMICA E DO PADRÃO DE INFECÇÃO DA
MASTITE SUBCLÍNICA E CLÍNICA EM UM REBANHO LEITEIRO
MANTIDO EM GALPÃO COM TÚNEL DE VENTO E CAMA DE
COMPOSTAGEM**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Ms Glênia Campos

Prof. Dr. Márcio Roberto Silva

AVALIAÇÃO DA DINÂMICA E DO PADRÃO DE INFECÇÃO DA MASTITE SUBCLÍNICA E CLÍNICA EM UM REBANHO LEITEIRO MANTIDO EM GALPÃO COM TÚNEL DE VENTO E CAMA DE COMPOSTAGEM

EVALUATION OF THE DYNAMICS AND PATTERN OF INFECTION OF SUBCLINICAL AND CLINICAL MASTITIS IN A DAIRY HERD KEPT IN A SHED WITH WIND TUNNEL AND COMPOSTING BED

Fúlvia de F. A. de Castro ¹, Glênia Campos ², Márcio Roberto Silva ³

Resumo

Introdução: A mastite é a doença infecciosa mais frequente entre os rebanhos bovinos leiteiros, responsável por grande impacto econômico para o produtor e para a indústria de lácteos. Conhecer o padrão de infecção da mastite subclínica e clínica de um rebanho é importante, pois a partir desta informação é possível adotar procedimentos de controle e prevenção com maior eficiência. O padrão de infecção dos casos clínicos pode-se obter por meio da cultura na fazenda em amostras de leite do quarto mamário afetado e o padrão de infecção dos casos subclínicos por meio do isolamento em laboratório de amostras composta por leite dos quatro quartos mamários de todas as vacas em lactação. **Objetivo:** Avaliar o padrão de infecção dos casos de mastite clínica e subclínica em um rebanho bovino da raça holandesa mantida em sistema de compost barn no período de junho de 2022 a maio de 2023. **Métodos:** Os patógenos causadores dos casos clínicos de mastite foram identificados por meio da cultura na fazenda e dos casos subclínicos por meio da cultura em laboratório. A contagem de células somáticas (CCS) de amostras de leite do rebanho e das vacas em lactação foi realizada por meio de equipamentos automatizados de citometria de fluxo. Os resultados de CCS foram usados para avaliação da dinâmica da mastite subclínica no período de junho de 2022 a maio de 2023. **Resultados:** No período de junho de 2022 a maio de 2023 foram observados 33 casos de mastite clínica em 25 animais, com taxa de reincidência de casos na mesma vaca de 1,32, abaixo do limite considerado alto (>1,40). A incidência de casos clínicos foi de 36,7 casos/100 vacas.ano, índice superior ao desejado de 25 casos/100 vacas.ano. Não houve maior casuística dos casos clínicos de mastite de acordo com os quartos mamários. Os principais patógenos envolvidos nas infecções clínicas foram *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*, mostrando um padrão de infecção ambiental para os casos de mastite clínica. A média anual da contagem de células somáticas (CCS) foi inferior a 150.000 células/mL, prevalência média de mastite subclínica 18,0%, taxa média de eliminação das infecções subclínicas de 9,2% e taxa de infecções crônicas de 7,5%. Os resultados dos exames microbiológicos para identificação dos patógenos causadores da mastite

¹ Acadêmica do 10º período do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC – Juiz de Fora – MG

² Médica veterinária, Professora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC – Juiz de Fora - MG

³ Médico Veterinário, Pesquisador da Embrapa Gado de Leite - Juiz de Fora - MG

subclínica mostraram que os dois patógenos mais prevalentes foram *Streptococcus uberis* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, mostrando um padrão ambiental e contagioso. **Conclusão:** Com base nos resultados e nos indicadores de mastite subclínica e mastite clínica no rebanho mantido em compost barn no período estudado mostraram que o manejo no momento da ordenha, manejo da cama de compostagem e controle dos principais patógenos contagiosos foram adequados e promoveu o controle e prevenção dos patógenos contagiosos e ambientais. Ressalta-se a importância da manutenção dos procedimentos de higiene no momento da ordenha bem como a linha de ordenha, avaliação do ambiente em que as vacas se encontram no intervalo entre ordenhas e no período seco para que o rebanho possa identificar oportunidade de melhoria da situação sanitária ligada a glândula mamária.

Descritores: doenças infecciosas, bovinos leiteiros, padrão de infecção

Abstract

Introduction: Mastitis is the most frequent infectious disease among dairy cattle, responsible for a great economic impact for the farmer and for the dairy industry. Knowing the infection pattern of subclinical and clinical mastitis in a herd is important, as this information makes it possible to adopt more efficient control and prevention procedures. The infection pattern of clinical cases can be obtained by means of on-farm culture in milk samples from the affected mammary quarter, and the infection pattern of subclinical cases by means of laboratory isolation of samples composed of milk from the four mammary quarters of all lactating cows. **Objective:** To evaluate the infection pattern of cases of clinical and subclinical mastitis in a Holstein cattle herd maintained in a compost barn system from June 2022 to May 2023. **Methods:** The pathogens that cause clinical cases of mastitis were identified through on-farm culture and subclinical cases through laboratory culture. The somatic cell count (SCC) of milk samples from the herd and lactating cows was performed using automated flow cytometry equipment. The SCC results were used to evaluate the dynamics of subclinical mastitis from June 2022 to May 2023. **Results:** From June 2022 to May 2023, 33 cases of clinical mastitis were observed in 25 animals, with a rate of recurrence of cases in the same cow of 1.32, below the limit considered high (>1.40). The incidence of clinical cases was 36.7 cases/100 cows.year, higher than the desired rate of 25 cases/100 cows.year. There was no greater series of clinical cases of mastitis according to mammary quarters. The main pathogens involved in clinical infections were *Streptococcus uberis* and *Escherichia coli*, showing a pattern of environmental infection for cases of clinical mastitis. Mean annual somatic cell count (SCC) was less than 150.000 cells/mL, mean prevalence of subclinical mastitis 18.0%, mean rate of elimination of subclinical infections was 9.2%, and rate of chronic infections was 7.5 %. The results of microbiological tests to identify the pathogens that cause subclinical mastitis showed that the two most prevalent pathogens were *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus* spp. negative coagulase, showing an environmental and contagious pattern. **Conclusion:** Based on the results and indicators of subclinical mastitis and clinical mastitis in the herd maintained in compost barn during the study period, it was shown that management at milking, management of the compost bed and control of the main contagious pathogens were adequate and promoted control and prevention of contagious and environmental pathogens. It is important to maintain hygiene procedures at the time of the order, as well as the order line, evaluation of the

environment in which the holidays are in the interval between orders and in the dry period so that the herd can identify opportunities to improve the situation health connected to the mammary gland.

Keywords: infectious diseases, dairy cattle, infection pattern

INTRODUÇÃO

A produção de leite com animais mantidos em sistemas confinados com camas de compostagem tem aumentado no Brasil na última década. Este sistema de produção permite aumento da produtividade animal e redução de doenças devido à melhoria do ambiente e conseqüentemente do bem estar animal. Entretanto, rebanhos bovinos leiteiros mantidos em galpões com cama de compostagem, conhecidos como Sistema *Compost Barn* (SCB), apresentam um grande desafio relacionado ao manejo da cama composta por um substrato orgânico onde há o processo de decomposição microbiológica, onde as fezes e urina são incorporadas nesta cama.¹

Camas de compostagem que não são manejadas diariamente, pelo menos duas vezes, podem se tornar importantes fontes de infecção de patógenos ambientais da mastite. Altas concentrações de bactérias na cama do SCP, alta densidade de animais e alta umidade da cama foram associados à ocorrência de mastite no rebanho. Coliformes e estreptococos ambientais (*Streptococcus uberis* e cepas de *Streptococcus dysgalactiae*) são os patógenos mais prevalentes causadores de mastite subclínica e clínica em fazendas com SCB que tiveram sucesso no controle dos patógenos contagiosos.² Os principais agentes causadores de mastite contagiosa são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* e *Mycoplasma* spp.³

A mastite ambiental se manifesta na forma clínica leve ou severa de curta duração, pois geralmente é solucionada pela própria resposta imune da vaca e apresenta resultados negativos na cultura microbiológica.⁴ É praticamente impossível erradicar a mastite ambiental, pois os agentes estão disseminados em todos os ambientes, o desafio de novas infecções é constante em diferentes categorias, onde a manutenção do ambiente seco e limpo e a alta capacidade de resposta imune das vacas são as principais práticas de manejo adotadas na prevenção.⁵

A forma de apresentação característica da mastite contagiosa é a mastite subclínica de longa duração com eventuais episódios clínicos, já que o microrganismo não causa resposta imune aguda. O principal prejuízo está relacionado ao aumento

exponencial da contagem de células somáticas (CCS), que reflete no influxo de células leucocitárias na glândula mamária em decorrência de uma inflamação prévia.⁶

A contagem de células somáticas (CCS) do leite é um dos principais critérios utilizados por indústrias de laticínios, produtores e entidades governamentais para avaliar a saúde da glândula mamária do rebanho e conseqüentemente a qualidade do leite, em amostras de leite de bovinos.⁷

Para mastite subclínica, para avaliar a dinâmica dos casos subclínicos, os testes geralmente usados são o Califórnia Mastite Teste (CMT), realizados no momento da ordenha,⁸ e a contagem de células somáticas (CCS), realizados em laboratórios.⁹

No caso da mastite clínica, o exame da caneca de fundo escuro realizado em todos os animais em lactação no momento da ordenha é rápido e de fácil execução, servindo para realizar o monitoramento, mas não informa o padrão de infecção. A cultura microbiológica realizada na fazenda ou em laboratório além de permitir realizar o monitoramento da dinâmica da mastite clínica, identifica o padrão de infecção dos casos clínicos.¹⁰

Devido a mastite ser uma doença endêmica dos rebanhos leiteiros e causada por diferentes tipos de bactérias (contagiosas e ambientais), para obter sucesso no controle e prevenção da doença é necessário conhecer a dinâmica¹¹ e o padrão das infecções intramamárias subclínica e clínica por meio de exames indiretos e diretos para diagnóstico da mastite subclínica e clínica, que podem ser realizados em laboratório ou na fazenda.¹²

Com base no exposto, é importante destacar que o sucesso dos sistemas de produção de leite onde as vacas ficam confinadas em galpões com camas de compostagem depende principalmente do manejo da cama. O manejo consiste no revolvimento da cama pelo menos duas vezes ao dia, geralmente nos horários de ordenha das vacas. Para a manutenção de uma cama considerada adequada com temperatura de 54°C a 65°C e umidade de 40% a 65%.¹³ Outros fatores que devem ser considerados são a escolha do local da instalação, para ter boa ventilação natural, observação do deslocamento do sol, e drenagem da água em períodos chuvosos, além de evitar a superlotação do local. O manejo inadequado pode levar a condições indesejáveis da cama, resultando em vacas sujas e aumento da incidência de mastite clínica e subclínica e conseqüentemente aumento da contagem de células somáticas (CCS).¹⁴

O objetivo deste trabalho foi avaliar o padrão de infecção dos casos de mastite clínica e subclínica em um rebanho bovino da raça holandesa mantida em sistema de compost barn no período de junho de 2022 a maio de 2023.

MÉTODOS

Seleção do rebanho

O estudo foi realizado em um rebanho bovino leiteiro de 90 animais da Embrapa Gado de Leite mantido em confinamento em sistema de cama de compostagem com túnel de vento, situado no município de Coronel Pacheco, MG. O rebanho era composto em média por 90 vacas holandesas em lactação por mês. A produção média por dia é de 33 a 35 litros de leite por vaca. Foram realizadas três ordenhas por dia utilizando ordenha mecanizada do tipo espinha de peixe e com linha alta de leite.

Diagnóstico da mastite subclínica e clínica

Contagem de Células Somáticas (CCS)

O monitoramento da CCS foi realizado mensalmente nos animais em lactação e no leite do tanque de expansão pelo método de citometria de fluxo.⁹

Cultura Microbiológica dos Casos Subclínicos

Foram realizadas coletas de amostras de leite das vacas em lactação em intervalos de 3 a 4 meses para diagnóstico microbiológico da mastite subclínica de acordo com o National Mastitis Council.¹⁵ Os patógenos da mastite foram identificados no Laboratório de Microbiologia do Leite da Embrapa Gado de Leite. Foi semeada 0,01ml de cada amostra de leite, com alça calibrada descartável, em cada quadrante de uma placa de ágar-sangue preparado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. As placas serão incubadas a 37°C por 24 horas quando será feita a primeira leitura, seguindo-se nova incubação por mais 24 horas para a segunda leitura. As colônias isoladas no ágar-sangue serão observadas quanto à morfologia, tamanho, pigmentação e presença de hemólise. As colônias isoladas foram observadas ao microscópio por meio de esfregaços corados pelo método de Gram. A significância do número de colônias dos microrganismos isolados foi interpretada segundo critérios propostos pelo *National Mastitis Council*.¹⁵

Os microrganismos foram identificados a partir de subcultivos em placas de ágar-soja tripticaseína, de acordo com recomendações do *National Mastitis Council*.¹⁵ Bactérias do gênero *Streptococcus* serão identificadas pela ausência de produção de catalase e pelos testes de CAMP (Christie, Atkins e Munch-Peterson), hidrólise do hipurato de sódio, crescimento em meio com 6,5% de NaCl e hidrólise da esculina. A classificação foi feita da seguinte maneira.⁹ (1) *S. agalactiae*: reação positiva nos testes de CAMP e hidrólise do hipurato de sódio, crescimento variável em meio com 6,5% de NaCl e reação negativa no teste de hidrólise da esculina, (2) *Streptococcus* spp. esculina positivos (ESCPOS): reação variável no teste de CAMP, na hidrólise do hipurato e em meio com 6,5% de NaCl e hidrólise da esculina. Neste grupo eram incluídas *S. uberis*, *S. bovis*, espécies de *Enterococcus* e outras espécies de *Streptococcus* que hidrolisam a esculina e (3) *Streptococcus* spp. esculina negativos (ESCNEG): reação negativa no teste de CAMP, de hidrólise da esculina e do hipurato de sódio e ausência de crescimento em presença de 6,5% de NaCl. Neste grupo estavam incluídos *S. dysgalactiae* e outros *Streptococcus* spp. esculina-negativos. As bactérias do gênero *Staphylococcus* foram classificadas em coagulase negativos e *Staphylococcus aureus* de acordo com a produção de catalase, coagulação do plasma de coelho e produção de acetoina. Bactérias do gênero *Pseudomonas* foram identificadas pela reação positiva nas provas de catalase e oxidase, produção de pigmento em meio de ágar-soja tripticaseína e reação oxidativa em meio de Hugh e Leifson.

Bastonetes Gram-positivos pequenos, pleomórficos e não esporulados, com morfologia semelhante aos difteróides, foram identificados como *Corynebacterium bovis* pela ausência de inibição no teste de CAMP, reação negativa nos testes de hidrólise da gelatina e do amido e produção de urease e catalase. Estes testes foram realizados para todos os isolados com características de difteróides. Para isso, as seguintes características foram observadas: colônias pequenas, circulares, esbranquiçadas ou cremosas, apresentando superfície rugosa, com 1 a 2 mm de diâmetro, visíveis somente após 48 horas de incubação e encontradas nas áreas mais gordurosas onde se semeava o leite, ausência de hemólise no ágar-sangue e produção de catalase. Os esfregaços dessas culturas corados pelo Gram evidenciaram bastonetes Gram-positivos com morfologia típica de difteróides. Amostras consideradas contaminadas serão aquelas em que houver crescimento de três ou mais colônias diferentes no isolamento primário, sem o predomínio de nenhuma delas.

Realização do teste da caneca de fundo escuro

No momento da ordenha, todos os quartos mamários das vacas em lactação foram avaliados pelo teste da caneca de fundo escuro que consiste no descarte dos primeiros jatos de leite para avaliação da viscosidade para diagnóstico da mastite clínica. Após a identificação de casos clínicos de quartos mamários pela caneca de fundo escuro, amostras de leite destes quartos mamários foram coletadas para realização da cultura microbiológica na fazenda.

Cultura Microbiológica Casos Clínicos

Todas as vacas com sinais de mastite clínica tiveram as amostras de leite de quartos mamários afetados coletados para realização da cultura na fazenda para identificação de bactérias de acordo com a Universidade de Minnesota.¹⁶

As amostras de leite foram coletadas assepticamente dos quartos mamários afetados e encaminhadas para cultivo em laboratório na própria fazenda. Esta metodologia de cultura na fazenda consistiu em uma placa dupla, que é uma placa de Petri com dois tipos diferentes de ágar: ágar MacConkey em uma metade, para crescimento seletivo de microrganismos Gram-negativos e em outra metade, ágar Factor, semelhante ao ágar KLMB,¹⁷ para crescimento seletivo de microrganismos Gram-positivos enquanto inibe o crescimento de bactérias Gram-negativas com antibióticos (Universidade de Minnesota, St. Paul, MN).

Um *swab* de algodão estéril foi mergulhado na amostra de leite e, em seguida, transferido para a metade da placa contendo o meio Factor, em seguida, foi mergulhado novamente no leite e aplicado à metade da placa contendo meio MacConkey. A placa então foi colocada em uma incubadora na fazenda e incubada a aproximadamente 37°C por 24 h. No dia seguinte, a placa foi avaliada e interpretada de acordo com as diretrizes fornecidas pelo manual do usuário do II Sistema de Cultura Fácil de Minnesota¹⁷. Se a bactéria não crescesse, a placa era devolvida à incubadora e lida novamente aproximadamente 24 horas depois.

Os resultados de cada placa foram registrados como (1) Gram-positivos, se as bactérias crescessem apenas no meio Fator ágar da placa dupla; (2) Gram-negativas, se as bactérias crescessem apenas no meio ágar MacConkey da biplaca; (3) sem

crescimento, se as bactérias não crescessem em nenhum dos meios; ou (4) infecção mista se as bactérias crescessem em ambos os meios.

Análise de Dados

Indicadores da dinâmica das infecções intramamárias subclínicas e clínicas foram estimados mensalmente e a média relativa aos doze últimos meses para fins de comparação com os indicadores considerados ideais.¹¹ Os indicadores de dinâmica de infecções subclínicas e clínica e que refletem a saúde da glândula mamária do rebanho serão a Contagem de Células Somáticas (CCS) do rebanho e das vacas em lactação, prevalência da mastite subclínica, incidência de mastite subclínica, taxa de eliminação de infecção subclínica, taxa de infecções crônicas subclínicas, incidência da mastite clínica e índice de número de casos de mastite clínica por vaca afetada.

Prevalência de mastite subclínica será definida como o percentual de vacas no mês com CCS > 200.000 células/mL no mês. Incidência de mastite subclínica será definida como o percentual de vacas no mês com CCS < 200.000 células no mês anterior e CCS > 200.000 células no mês atual; Taxa de infecções subclínicas crônicas será definida como o percentual de vacas no mês com CCS > 200.000 células/mL no mês anterior e no mês atual. Incidência de mastite clínica será definida como o número de vacas com mastite clínica em um mês e em um ano dividido pelo número de vacas no mês e no ano e fazendo o ajuste para 100 vacas/mês e 100 vacas/ano, respectivamente.¹¹

O tratamento estatístico dos resultados da cultura no laboratório e da cultura na fazenda foi analisado por meio de distribuição de frequência e a estimativa da probabilidade de reincidência dos casos clínicos de acordo com os quartos mamários (mesmo quarto mamário e quarto mamário diferente).¹⁷

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de junho de 2022 a maio de 2023 foram observados 33 casos de mastite clínica em 25 vacas. Desta forma, o número de casos por vacas afetadas foi de 1,32. De acordo com a literatura¹⁰, a meta a ser alcançada para este tipo de indicador de saúde de glândula mamária é de 1,40. O valor encontrado no presente estudo indica que a reincidência de casos de mastite clínica no mesmo animal está dentro do

esperado e sugere que estes casos de mastite clínica não são crônicos. Entre as 25 vacas que desenvolveram mastite clínica, 6 (24,0%) repetiram casos de mastite clínica, sendo três vacas em quartos mamários distintos e em três vacas no mesmo quarto mamário. A distribuição de frequência dos quartos mamários com mastite clínica esta apresentada na Tabela 1. Com base no intervalo de confiança da proporção, não foi observada maior casuística dos casos de mastite clínica de acordo com os quartos mamários afetados.

Tabela 1. Distribuição de frequência dos casos clínicos em um rebanho mantido em Compost Barn no período de junho de 2022 a maio de 2023 de acordo com o quarto mamário

Quarto mamário	N	% (IC 95%)
Anterior Direito	11	33,3 (17,2 – 49,4)
Anterior Esquerdo	9	27,3 (12,1 – 42,5)
Posterior Direito	6	18,2 (5,0 - 31,4)
Posterior Esquerdo	5	15,2 (3,0 – 27,4)
Sem informação	2	6,0 (0,0 – 14,1)
Total	33	100,0

Do total de 33 casos de mastite clínica, foi observado que 17 casos (51,5%) apresentaram grau 1, ou seja, alteração somente no leite após o exame dos primeiros jatos em caneca de fundo de escuro. Foram classificados como mastite grau 2, 13 casos (39,4%), onde foi observada alteração no leite por meio do teste da caneca de fundo escuro e no úbere das vacas após exame clínico. Foram observadas mastite clínica com alteração no leite, no úbere da vaca e sinais sistêmicos em três vacas (9,1%).

Do total de 33 casos de mastite clínica, 8 (24,2%) deles não apresentou crescimento de patógenos, sendo observado pelo menos um patógeno em 25 casos. Entre estes casos de isolamento, houve 29 casos (84,0%) com isolamento de um patógeno e 4 casos (16,0%) com isolamento de mais de um patógeno. Ao se avaliar o padrão de infecção dos casos clínicos de mastite, os principais patógenos envolvidos nas infecções intramamárias que causaram casos clínicos foram *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (Tabela 2). Resultados obtidos em estudos¹⁸ com rebanhos brasileiros mantidos no

mesmo sistema de produção mostrou que no rebanho que não tem presença de *S. agalactiae* e prevalência de *S. aureus* de 5,3%, os principais patógenos responsáveis pelos casos clínicos foram *E. coli*, *Streptococcus uberis* e *Streptococcus* spp., mostrando um padrão ambiental de infecção semelhante ao presente estudo.

Tabela 2. Distribuição de frequência dos casos clínicos em um rebanho mantido em Compost Barn no período de junho de 2022 a maio de 2023 de acordo com os resultados do On Farm

Resultados do On Farm	N	%
Sem crescimento	8	24,2
<i>Streptococcus uberis</i>	9	27,3
<i>Escherichia coli</i>	8	24,2
STACN*	3	9,1
STACP	1	3,0
<i>S.uberis</i> + STACN	1	3,0
<i>E.coli</i> + STACN	1	3,0
<i>Klebsiella</i> + <i>Enterobacter</i> + <i>S. uberis</i>	1	3,0
<i>Prototeca</i> + leveduras	1	3,0
Total	33	100,0

* *Staphylococcus* spp. coagulase negativo

Entre os casos de mastite clínica com identificação dos patógenos, foi observado isolamento *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em 11 (44,0%), 10 (36,0%) e 5 (20,0%) casos, respectivamente. Como os patógenos *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* são patógenos ambientais, fica evidente que o padrão de infecção dos casos de mastite clínica foi por patógenos ambientais. Entretanto, ressalta-se que no caso do *Streptococcus uberis*, este patógeno pode agir como ambiental e como contagioso, podendo a fonte de infecção ser do meio ambiente, mas também ser de animais infectados e a transmissão ocorrer no momento da ordenha. Porém, para dirimir a dúvida há necessidade de estudos de epidemiologia molecular para provar esta hipótese.

A incidência de mastite clínica no rebanho estudado foi de 36,7 casos/100 vacas.ano, valor superior a meta considerada ideal¹⁰, de 25 casos/100 vacas.ano.

Porém, os valores relacionados a dinâmica das infecções clínicas, como o número de casos clínicos por vacas afetadas e a incidência de mastite clínica associado ao padrão de infecção observado por meio da cultura na fazenda mostram que apesar de ser observado oportunidade de melhoria, o estado sanitário de saúde da glândula mamária relacionado a mastite clínica pode ser considerado satisfatório.

Ao se avaliar a mastite subclínica do rebanho, foi observado que a média anual da contagem de células somáticas (CCS) no período de junho de 2022 a maio de 2023 foi inferior a 150.000 células/mL. Associado aos valores da CCS do rebanho, por meio da CCS mensal de todas as vacas em lactação, foi observada uma prevalência média no período de 18,0%, variando de 12,0% a 33,5% durante o período observado. Ressalta-se que o valor considerado ideal para prevalência da mastite subclínica é de 20,0%¹⁰. A taxa média de eliminação das infecções subclínicas durante o período foi de 9,2%, sendo considerado o valor ideal maior que 30,0%¹⁰. A taxa de infecções crônicas observadas no período avaliado foi de 7,5%, sendo considerado o valor ideal de no máximo 5,0%¹⁰.

Os resultados dos exames microbiológicos para identificação dos patógenos causadores da mastite subclínica estão apresentados na Tabela 3. Do total de animais examinados, foi observado que 52 (67,5%) não apresentaram isolamento no exame microbiológico. Os resultados mostraram que os dois patógenos mais presentes foram *Streptococcus uberis* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, com 10 (13,0%) e 7 (9,1%) isolados, respectivamente. Os outros patógenos identificados, com um isolamento cada, foram *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Escherichia coli*. Um padrão semelhante de infecção de mastite subclínica foi observado em um mesmo sistema de produção, onde os principais patógenos isolados foram *Streptococcus uberis*, *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo.¹⁸

Cinco amostras (6,5%) foram consideradas contaminadas, pois no exame microbiológico apresentaram mais de três colônias morfologicamente distintas, indicativo de contaminação. Apesar de terem sido identificadas 5 (6,5%) amostras contaminadas, estas não influenciam na determinação do padrão de infecção subclínica do rebanho.

Tabela 3. Distribuição de frequência dos patógenos causados de mastite subclínica em um rebanho mantido em Compost Barn no período de junho de 2022 a maio de 2023

Resultado do exame microbiológico	N	%
Negativo	52	67,5
<i>Streptococcus uberis</i>	10	13,0
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativo	7	9,1
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	1,3
<i>Escherichia coli</i>	1	1,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1,3
Amostra contaminada	5	6,5
Total	77	100,0

Os valores de contagem de células somáticas (CCS) de rebanho e de indivíduos mostraram que apesar de haver oportunidade de melhoria, estes indicam bom estado de saúde da glândula mamária ligada à mastite subclínica. O padrão de infecção subclínica, observado por meio dos exames microbiológicos, pode ser considerado contagioso, apesar do *Streptococcus uberis*, classificado como ambiental, ser o patógeno mais prevalente. O segundo patógeno mais frequente, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, é classificado como contagioso, onde a principal fonte de infecção para os animais sadios são animais infectados e o momento da ordenha é onde ocorre a transmissão deste patógeno.

Entretanto, ressalta-se, que por meio de estudos de biologia molecular, aproximadamente 20% das cepas de *Streptococcus uberis* apresentam um comportamento de contagioso. Foi observado apenas um isolamento de *Escherichia coli*, o que pode indicar que o manejo da cama de compostagem, onde ficam os animais, foi realizada de forma adequada durante o período de estudo. Entretanto, ressalta-se que a cama de compostagem pode ser também a origem de cepas ambientais de *Streptococcus uberis*.

Os valores de contagem de células somáticas (CCS) observados para o rebanho e para os indivíduos associados aos resultados dos exames microbiológicos indicam um padrão de infecção subclínica mista, tendo o envolvimento de bactérias contagiosas e ambientais. Entretanto, os valores observados para a dinâmica da mastite subclínica e clínica condiz com um rebanho de alto padrão sanitário em relação à saúde da glândula mamária. Ressalta-se que neste rebanho não foi identificada a presença de *Streptococcus agalactiae* durante o período de estudo e a prevalência de vacas infectadas por *Staphylococcus aureus* foi inferior de 5,0%, o que indica sucesso no controle dos principais patógenos contagiosos da mastite.

O monitoramento contínuo da dinâmica das infecções e padrão de infecção dos casos subclínicos e clínicos realizados no presente estudo permitiu observar que casos subclínicos de mastite causado por *Streptococcus uberis* e *Staphylococcus* coagulase negativo podem ter causado uma infecção crônica que ao longo do tempo, o que fez com que a doença se manifestasse na forma clínica. Ressalta-se que casos de mastite clínica causados por *Streptococcus uberis* e *Staphylococcus* coagulase negativo apresentam geralmente grande chance de eliminação da infecção por meio da aplicação de antimicrobianos por via intramamária. No caso de mastite subclínica causado por *Staphylococcus* coagulase negativo, de acordo com a literatura¹⁹, foi observada uma taxa de eliminação espontânea da infecção de 31,3% por meio da ação dos neutrófilos que saem do leite vascular e migram para o local da glândula mamária que ocorreu a infecção. Com objetivo de melhorar os indicadores de saúde de glândula mamária, o monitoramento da mastite clínica e subclínica devem continuar sendo realizados, pois este procedimento é fundamental para a tomada de decisão em nível de indivíduo e em nível de rebanho para o controle e prevenção da doença.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados da dinâmica das infecções subclínicas e clínicas no período estudado o rebanho apresentou bom estado sanitário em relação à saúde da glândula mamária. Entretanto, foi observado que há oportunidade de melhorias em relação a alguns indicadores, como por exemplo a redução das infecções crônicas subclínicas. O padrão de infecção contagioso e ambiental tanto para a mastite subclínica como clínica, sendo *Streptococcus uberis* e *Staphylococcus* coagulase negativo os principais patógenos envolvidos, indicaram que casos subclínicos crônicos podem estar se transformando em casos clínicos. Com base nos resultados, ressaltou-se a importância da manutenção dos procedimentos de higiene no momento da ordenha bem como a linha de ordenha, o manejo da cama de compostagem e manutenção do ambiente em condições de higiene adequadas e de conforto para os animais para que os indicadores de saúde de glândula mamária sejam mantidos e até mesmo melhorados.

REFERÊNCIAS

- 1) Leso L, Barbari M, Lopes MA, Damasceno FA, Galama P, Taraba JL, Kuipers A. Invited review: Compost-bedded pack barns for dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2020; 103(2):1072-99.
- 2) Tomazi T, Ferreira GC, Orsi AM, Gonçalves JL, Ospina PA, Nydam DV, Moroni P, Santos MV. *Preventive Veterinary Medicine*. 2018; 161: 9-18.
- 3) Bradley AJ. Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal*. 2002; 164(2):116-28.
- 4) Adkins PRF, Middleton JR. Métodos de diagnóstico de mastite. *Clínicas Veterinárias: Food Animal Practice*. 2018;34(3):479-91.
- 5) Moroni P, Nydam D, Ospina PA, Scillieri-Smith JC, Virkler PD, Watters RD et al. Diseases of the teats and udder. In: Peek, SF, Divers, TJ. *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*. 3a ed. Saint Louis: Elsevier. 2018; p.849.
- 6) Petzer IM, Karzis J, Donkin EF, Webb EC, Etter EMC. Validity of somatic cell count as indicator of pathogen-specific intramammary infections. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2017;88(0):1465.
- 7) Santos MV, Fonseca LFL. Controle da Mastite e Qualidade do Leite: Desafios e Soluções. Edição dos Autores. 2019; p.301.
- 8) Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses*. 10a ed. Saint Louis: Elsevier. 2006; p.2162.
- 9) University of Minnesota Laboratory for Udder Health. *Minnesota Easy Culture System II user's manual*. Saint Paul: University of Minnesota; 2004.
- 10) Schukken YH, Kremer DJ. Monitoring udder health: objectives, material and methods. In: Brand A, Noordhuizen JPTM, Schukken YH, organizadoras. *Herd health and production management in dairy practice*. Wageningen: Wageningen Pers, 1996; 351-60.
- 11) Fávero S, Portilho FVR, Oliveira ACR, Langoni H, Pantoja JCF. Factors associated with mastitis epidemiologic indexes, animal hygiene, and bulk milk bacterial concentrations in dairy herds housed on compost bedding. *Livestock Science*. 2015; 181:220-30.
- 12) Janni KA, Endres MI, Reneau JK, Schoper WW. Compost dairy barn layout and management recommendations. *Applied engineering in agriculture*. 2007; 23(1):97-102.
- 13) Oliveira L, Ruegg PL. Treatments of clinical mastitis occurring in cows on 51 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of dairy science*, 2014;97(9):5426-36.

- 14) Harmon RJ, Eberhart RJ, Jasper DE, Langlois BE, Wilson RA. Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infections, 3a ed. Arlington, VA: National Mastitis Council.1990.
- 15) Hoblet KH, Hueston WD, Angrick E. Mastitis Microbiology Simplified. The Bovine Practitioner.1986;21:77-78.
- 16) Beatty BR, Farnsworth RJ, Lund AJ, Lyon RH, Ward GE. Medium to culture and differentiate coagulase-positive and-negative staphylococci from bovine milk. Journal of food protection. 1985; 48(12):1019-21.
- 17) Lago A, Godden SM, Bey R, Ruegg PL, Leslie K. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. Journal of dairy Science. 2011; 94(9):4441-56.
- 18) Fonseca M, Mendonça LC, Souza GN, Cesar DE, Carneiro JC, Brito EC, Mendonça JF, Brito MAVP, Guimarães AS. Epidemiology of mastitis and interactions of environmental factors on udder health in the compost barn system. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2023; 75(1):14-26.
- 19) Simojoki H, Salomäki T, Taponen S, Iivanainen A, Pyörälä S. Innate immune response in experimentally induced bovine intramammary infection with *Staphylococcus simulans* and *S. epidermidis*. Veterinary Research. 2011; 42(49):1-10.