



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Relatório de Estágio Supervisionado Obrigatório e Trabalho de Conclusão de
Curso nas Áreas da Bovinocultura Leiteira e Microbiologia Veterinária.

Diferenciação bioquímica de patógenos em diagnóstico microbiológico de
mastite bovina

LÍVIA SILVA SANTOS

NOSSA SENHORA DA GLÓRIA, SERGIPE

2024

Lívia Silva Santos

Trabalho de Conclusão de Curso

Relatório de Estágio Supervisionado Obrigatório

Diferenciação bioquímica de patógenos em diagnóstico microbiológico de
mastite bovina

Trabalho apresentado à Coordenação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Vinicius Costa Nascimento.

Nossa Senhora da Glória, Sergipe

2024

LÍVIA SILVA SANTOS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

Aprovado em: ____/____/____ Nota: ____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Thiago Vinicius Costa Nascimento.
Departamento de Medicina Veterinária – UFS SERTÃO.
(Orientador)

Prof.^a Dr.^a Glenda Lídice de Oliveira Cortez Marinho.
Departamento de Medicina Veterinária – UFS SERTÃO.
(2º membro)

Prof.^a Dr.^a Juliana Paula Felipe de Oliveira.
Departamento de Zootecnia – UFS SERTÃO.
(3º membro)

Nossa Senhora da Glória, Sergipe

2024

IDENTIFICAÇÃO

Discente: Lívia Silva Santos.

Matrícula: 201900122037.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Vinicius Costa Nascimento.

LOCAIS DE ESTÁGIO

1. Jalcilene e Eduardo Barreto Ltda (Casa do Fazendeiro).

Endereço: Rua Monte Alegre, 000, Nossa Senhora da Glória, Sergipe.

Carga horária: 626 horas.

2. Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (EMDAGRO).

Endereço: Rua Antônio Francisco de Souza, 219, Nossa Senhora da Glória, Sergipe.

Carga horária: 128 horas.

COMISSÃO DE ESTÁGIO DO CURSO:

Prof.^a Dr.^a Paula Regina Barros de Lima.

Prof.^a Dr. Débora Passos Hinojosa Schäffer.

Profa. Dra. Kalina Medeiros Gomes Simplício.

Prof.^a Dr.^a Glenda Lídice de Oliveira Cortez Marinho.

Prof. Dr. Thiago Vinicius Costa Nascimento.

Dedico este trabalho a meus pais, Josefina e Antônio, minha irmã, Luany, minhas filhas, Malu e Luma, e meu companheiro, Jônatas. Obrigada por todo suporte e inspiração. Conseguimos!

AGRADECIMENTOS

Foram anos de luta, noites em claro e perseverança por acreditar no dia que alcançaria minha graduação em Medicina Veterinária, e posso então dizer que finalmente consegui, mas não teria alcançado se estivesse sozinha.

Por toda proteção, sabedoria, e permissão em acreditar que momentos difíceis passariam. Obrigada senhor!

Aos meus pais, Josefina e Antônio, fonte de todo incentivo desde criança, vocês são responsáveis por onde cheguei, obrigada por tudo. À minha irmã, Luany, torço pela sua vitória e estarei aqui sempre que precisar.

Às minhas filhas, Malu e Luma, tudo é por vocês e para vocês, meus tesouros por quem persisto em continuar. Mamãe ama muito.

Ao meu amor, Jônatas, obrigada por todo carinho, cuidado e apoio essenciais na conclusão desse ciclo. Você é incrível. Obrigada por tudo!

Aos meus avós, Josefa e José Vieira (*in memoriam*), Maria e Rosalvo (*in memoriam*), de onde tenho origem, agradeço por existirem e pela vida dos meus pais. Os meus tios próximos, Nininho, que desde criança, me chamava de “Veterinária”, parecia sonho distante, mas hoje eu consegui, Tia/Madrinha Sileide e Tia Carminha, desejo saúde e prosperidade.

Aos primos que comigo cresceram, Bruna e Kauan, toda conquista de vocês é minha também, assim como por todo lugar onde eu chegar, quero levar os vossos nomes. Aos primos mais novos, Lucas, Evellin e Larissa, estudem e abracem as oportunidades, torço por vocês. Minha irmã Liliane, torço demais pelo seu progresso, conte comigo sempre que precisar.

Aos meus amigos conterrâneos Lagartenses, minha comadre e amiga Isabel, meus amigos José Guilherme e Larissa, em meio à distância, os encontros tornaram-se atípicos, mas saibam da singularidade que possuem pra mim e permanecem em meu coração.

Não poderia deixar de agradecer à cidade de Nossa Senhora da Glória, que me acolheu desde que cheguei, e aos amigos que nela conquistei, entre estes, dos quais calorosamente me abraçaram e moram em meu coração, Marcos, Jailson, Neto, Douglas e Vanessa.

Aos amigos que compartilhei momentos na graduação, tive o prazer em conhecer e torço, Paulo Henrique, Danilo Souza, Tadeu Alves, Jéssica Layane, Lays Santos, Vanderlei Torres, e em especial ao meu trio de todos os momentos ao qual fiz parte junto à Rodolfo Fabrício e Matheus de Paula, desde o início e até o fim! Vocês são incríveis e eu os amo! Conseguimos!

Aos amigos que a Emdagro me apresentou, Dra. Rita, Victor, Izamor, Marccone, Edimilson, Yara, Albério, Evalto e Jozelita, foi um privilégio acompanhar o trabalho de vocês. Obrigada por todo conhecimento compartilhado. Desejo saúde e prosperidade a cada um.

Aos amigos que a Casa do Fazendeiro me concedeu, Márcia Cleide, Márcia do Carmo, Daniela, Rogéria, Léo, Vanderson, Tiago, Gil, Victor, Diego, meu pequeno amigo Bento, desejo sucesso. Agradeço também a dona Jalcilene, Rafaela, Eduardo, Bruna, e ao meu supervisor Marcelo, pela oportunidade!

Agradeço ainda a todos os meus professores e orientadores do Departamento de Medicina Veterinária do Sertão, por todo conhecimento, conselho e contribuições ao meu futuro pessoal e profissional, jamais serão esquecidos.

Do corpo docente, em especial agradeço a minha orientadora acadêmica, Prof.^a Dr.^a Kalina Simplício, Prof.^a Dr.^a Glenda Marinho, que chegou no final da graduação e me apresentou a área que eu tive a certeza que levaria pra a vida, e ao meu orientador Prof.^o Dr.^o Thiago Vinicius, pelo apoio rumo ao êxito e todas contribuições agregadas a mim.

À Universidade Federal de Sergipe, Campus do Sertão, que foi minha casa durante esses 5 anos de aprendizado profissional e emocional, foi lindo viver tudo isso nesse lugar tão acolhedor, muito obrigada!

*“Um passo à frente e não estará
mais no mesmo lugar.”
- Chico Science.*

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Doenças em maiores queixas dos produtores, durante período de estágio na Casa do Fazendeiro.....	4
Gráfico 2: Espécies entre as queixas de produtores que buscaram ajuda na Casa do Fazendeiro.....	5
Gráfico 3: Rotina de atividades internas realizadas durante estágio.....	7
Gráfico 4: Rotina de atividades externas realizadas durante estágio.....	8
Gráfico 5: Quantidade de leite produzida por município Sergipano.....	9
Gráfico 6: Número de amostras mensais, inoculadas no laboratório da Casa do Fazendeiro, durante o ano 2023.....	20
Gráfico 7: Tipos de resultados entre amostras de leite inoculadas durante 2023.....	21
Gráfico 8: Quantidade de cepas encontradas de cada microrganismo.....	22
Gráfico 9: Quantidade de animais com diagnósticos para mastite clínica ou Subclínica.....	22
Gráfico 10: Quantidade de vacas infectadas com patógenos contagiosos.....	23
Gráfico 11: Quantidade de vacas infectadas com patógenos ambientais.....	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Loja matriz da empresa Casa do Fazendeiro.....	2
Figura 2: Visita técnica para acompanhamento de ordenha em propriedade com casos de mastite no rebanho.....	3
Figura 3: Laboratório instalado na Casa do Fazendeiro, onde foram inoculadas as amostras.....	4
Figura 4: Sede da Emdagro em Nossa Senhora da Glória, Sergipe.....	6
Figura 5: Visita para inquérito de tuberculose, em propriedade com suspeita da doença no rebanho.....	8
Figura 6: Estruturas que compreendem a morfologia da glândula mamária.....	10
Figura 7: Laboratório “SmartLab” (A) e placa de cultura “SmartColor” (B) posicionada na cabine do “SmartLab”.....	17
Figura 8: Inoculação na placa, com auxílio em Swab mergulhado em leite, na amostra A da etapa 3 da placa SmartColor.....	18
Figura 9: A - Kit de diferenciação “SmartStrep”. B - Reagentes A e B do kit “SmartStrep”.....	19
Figura 10: Ilustração da coloração final dos reagentes do Kit SmartStrep.....	20
Figura 11: Placas com resultados positivos para A - <i>Streptococcus uberis</i> na etapa 1, e <i>Staphylococcus não aureus</i> na etapa 3; B - <i>Escherichia coli</i> , na etapa 2 e C - <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus não aureus</i> , na etapa 3.....	22
Figura 12: A - Resultado positivo para bactéria <i>S. agalactiae</i> ou <i>S. dysgalactiae</i> , B – Raspagem de cepas para realização de teste diferencial e C – Diferenciação com resposta positiva para presença de <i>Streptococcus agalactiae</i>	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CMT: California Mastitis Test.

CCS: Contagem de Células Somáticas.

CPP: Contagem Padrão em Placas.

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

EMDAGRO: Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe.

ESO: Estágio Supervisionado Obrigatório.

FAESE: Federação de Agricultura e Pecuária do Estado de Sergipe

FAO: Food and Agriculture Organization (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura).

GTA: Guia de Trânsito Animal.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

IN: Instrução Normativa.

MAPA: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

Onfarm: Empresa de cultura na fazenda.

SIAPEC: Sistema de Integração Agropecuária.

SmartLab: Laboratório de cultura na fazenda.

SmartColor: Placa de cultura na fazenda.

SmartStrep: Teste diferencial pós cultura positiva para gêneros *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae*.

TCC: Trabalho de Conclusão de Curso.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO.....	2
2.1. Casa do Fazendeiro (Jalcilene e Eduardo Barreto Ltda).....	2
2.1.1. Descrição do local.....	2
2.1.2. Atividades.....	3
2.1.3. Casuística.....	4
2.2. Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (EMDAGRO).....	7
2.2.1. Descrição do local.....	7
2.2.2. Atividades.....	7
2.2.3. Casuística.....	8
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	10
3.1. Panorama da bovinocultura leiteira.....	10
3.2. Morfofisiologia da glândula mamária.....	11
3.3. Considerações sobre a mastite em bovinos.....	12
3.4. Atividade dos patógenos causadores da mastite bovina.....	13
3.5. Diagnóstico microbiológico.....	14
3.6. Teste bioquímico de hipurato de sódio.....	15
3.7. Controle da mastite no rebanho.....	15
4. TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO.....	17
4.1. Introdução.....	17
4.2. Metodologia.....	18
4.3. Resultados e discussão.....	21
4.4. Conclusão.....	25
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

RESUMO

O presente trabalho tem por finalidade descrever atividades desenvolvidas pela discente, durante Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), e Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), disciplinas essenciais do último ano de graduação no curso de Medicina Veterinária, como requisito para a obtenção do título de graduação. O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), foi distribuído em duas empresas da cidade de Nossa Senhora da Glória, Sergipe, sendo elas a Casa do Fazendeiro, onde foram desenvolvidas 626 horas, e a Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe, onde foram desenvolvidas 128 horas. As atividades foram desenvolvidas com bovinos leiteiros, nas áreas da bovinocultura e microbiologia. Diante do grande contato com incidências de mastite, uma inflamação da glândula mamária responsável por perdas econômicas aos produtores, que estavam com dificuldades no estabelecimento de medidas de controle dos patógenos, o presente trabalho apresenta a diferenciação bioquímica entre patógenos causadores da mastite bovina, pós o diagnóstico microbiológico da enfermidade, ressaltando a importância e contribuição da rotina de testagens para o controle eficiente de mastite nos rebanhos leiteiros.

Palavras-chave: Bovinos leiteiros; Diagnóstico microbiológico; Diferenciação; Mastite bovina; Resistência antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

A Medicina Veterinária é uma profissão exercida em mais de oitenta áreas de atuação, reconhecida por sua importância econômica e social ao país, ao longo de cinco décadas de exercícios contribuídos à população (CFMV, 2020). Na Universidade Federal de Sergipe, Campus do Sertão, o discente que almeja a graduação no curso, dedica 5 anos em metodologia ativa para a obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária, sendo o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), uma das disciplinas presentes na grade curricular do último ano para conclusão, com exigência de carga mínima de 630 horas, considerado um momento imprescindível, onde o aluno tem a oportunidade de coadunar a teoria à prática.

Durante a experiência de ESO, foi possível observar a atuação do profissional Médico Veterinário, em duas empresas que contribuem ao desenvolvimento agropecuário do Estado de Sergipe. Entre os principais desafios enfrentados por produtores visitados no período, estavam a dificuldade de obtenção de leite com padrões de qualidade para comercialização e consumo, produto considerado a principal fonte de renda dessas famílias, vulneráveis a problemas sanitários e conseqüentemente econômicos na rotina dos seus rebanhos, como a presença de enfermidades, entre elas a mastite (Simões e Oliveira, 2012).

A mastite, é uma enfermidade da glândula mamária, caracterizada pela inflamação da glândula, sendo responsável por grandes perdas econômicas (Bernardes, 2020), ligadas principalmente a perdas com queda quantitativa e qualitativa do leite, descarte deste e de animais crônicos, bem como custos com tratamento e mão de obra profissional. O controle conta com a identificação da etiologia da mastite, contribuindo no diagnóstico rápido e tratamento eficaz ao combate do invasor. Entre os métodos de diagnóstico esteve a cultura microbiológica, através da inoculação de amostras de leite em meio de cultura, favorecendo o crescimento de microrganismos específicos, que têm potencial de reduzir pela metade o uso de antibiótico sem comprometer a saúde do animal (Ganda *et al.*, 2016).

Entre os patógenos identificados microbiologicamente em amostras de leite oriundas de animais de propriedades com histórico de mastite bovina no rebanho, foram encontrados em números expressivos as espécies *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae*, patógenos visualmente idênticos, no entanto, distintamente patogênicos, o que dificultava o tratamento assertivo e reafirmava a importância de diagnóstico diferencial, como objetivo de estudo do presente trabalho.

2. RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

2.1. Casa do Fazendeiro (Jalcilene e Eduardo Barreto Ltda).

2.1.1. Descrição do local

Inaugurada em 1983, a empresa de razão social Jalcilene e Eduardo Barreto Ltda, e nome fantasia Casa do Fazendeiro, é referência no setor de qualidade e modernização leiteira do estado, rede que vem aperfeiçoando ainda mais os trabalhos com parcerias a empresas que trazem tecnologias de qualidade e apoio aos clientes produtores na lida com o campo e enfrentamento de possíveis adversidades. A empresa fica localizada na cidade de Nossa Senhora da Glória, em dois endereços. A loja matriz (figura 1), onde foram desenvolvidas as atividades de estágio na sua maior parte, estava localizada na Rua Monte Alegre, número 609.



Figura 1: Loja matriz da empresa Casa do Fazendeiro. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O estabelecimento comercial conta com vendas em atacado e varejo, desde vendas em balcão até vendas online, além de prestações de serviços externos, como assistência técnica a produtores assistidos pelas empresas, em suas propriedades, desde as regiões do estado de Sergipe, até região sertão do estado da Bahia.

O local possui estrutura que conta com amplo galpão com mostruário de fármacos veterinários, produtos agropecuários, vestimentas rurais, equipamentos de ordenha, ferramentas de manutenção de ordenha, produtos, suplementos de finalidade terapêutica, nutricional e sanitária, acessórios de utilidade no rebanho e do seu produtor, duas salas de estocagem de medicamentos veterinários, produtos de higiene de ordenha e nutrição animal, laboratório para inoculação de culturas microbiológicas, garagem para transportes de entregas das mercadorias,

escritórios, setor financeiro, sala de reuniões, sala de espera de clientes, espaço de café e banheiro.

O corpo técnico contava 19 profissionais, sendo 4 Médicos(as) Veterinários(as), 2 Zootecnista, 1 consultor, 2 técnicos em manutenção de ordenhas, 3 responsáveis administrativos, 2 responsáveis financeiros, 1 estoquista e 4 responsáveis por carga/descarga de mercadorias, bem como entregas destas.

2.1.2. Atividades desenvolvidas

O estágio teve início no dia 10 de agosto de 2023 e finalizou dia 19 de janeiro de 2024, com carga horária total de 626 horas, sob supervisão geral do Médico Veterinário Marcelo Barreto Souza, e Médicas Veterinárias Rafaela Lima Barreto Souza e Daniela Meneses Cruz, período o qual foi possível absorver inúmeras informações dos produtores, bem como dos profissionais da empresa que os assistiam.

Entre as atividades desenvolvidas, estavam: Atendimento comercial em loja, atendimento comercial em propriedades, assistência técnica, coleta de leite em propriedades, treinamentos com equipes de ordenha das propriedades, testagens microbiológicas, reuniões com produtores para alinhamento de metas e apresentações de resultados, eventos agropecuários, manutenções de medicamentos e palestras fornecidas pelas empresas farmacêuticas parceiras da empresa.

O papel dos profissionais técnicos, zootecnistas e médicos veterinários do estabelecimento, baseavam-se em atender os clientes produtores que relataram os problemas enfrentados em suas propriedades, fornecer assistência técnica em suas propriedades, quando necessário, e à campo ou em loja analisar as possíveis causas das enfermidades que acometiam, orientando-os com protocolos de prevenção, controle e tratamento.

A empresa conta ainda com a tecnologia OnFarm, de diagnóstico através de cultura microbiológica, que possibilitou, fornecimento de equipamentos para realização de testes, como a cultura microbiológica, para identificar os patógenos causadores. A identificação partia de inoculação de leite a partir de amostras de fêmeas bovinas. As amostras podiam ser levadas à empresa, bem como solicitada pelo produtor, onde o técnico presencialmente realizava as coletas (Figura 2 – A), acondicionava em isopor com gelo (Figura 2 - B), e levava as amostras até a loja para inoculação (Figura 2 - C).



Figura 2: A- Coleta realizada em propriedade com casos de mastite no rebanho; B – Amostras coletadas, acondicionadas em isopor térmico; C – Inoculação das amostras coletadas, no equipamento de cultura, implementado na Casa do Fazendeiro. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

além de testes de diagnóstico diferencial, como a diferenciação bioquímica entre patógenos, com a prova do hipurato de sódio, quando necessário, contribuindo na eficácia medicamentosa (Figura 3).



Figura 3: Equipamento de realização de culturas microbiológicas, instalado na Casa do Fazendeiro. Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

2.1.3. Casuística

Durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) na Casa do Fazendeiro, foram assistidos comercialmente aproximadamente 570 produtores na loja física. Uma vez que o atendimento não era somente presencial, em função do atendimento online, por aplicativo de WhatsApp, que contribuiu para que os atendimentos ultrapassassem a soma de mais de 700.

Entre as queixas, foi possível observar maiores queixas com diagnósticos de mastite bovina, e em ordem decrescente, prevalências de ectoparasitas (carrapatos), diagnóstico de tristeza parasitária bovina, problemas de casco, retenção placentária, diarreia neonatal, entre outras queixas e/ou procuras, conforme ilustra o gráfico 1.

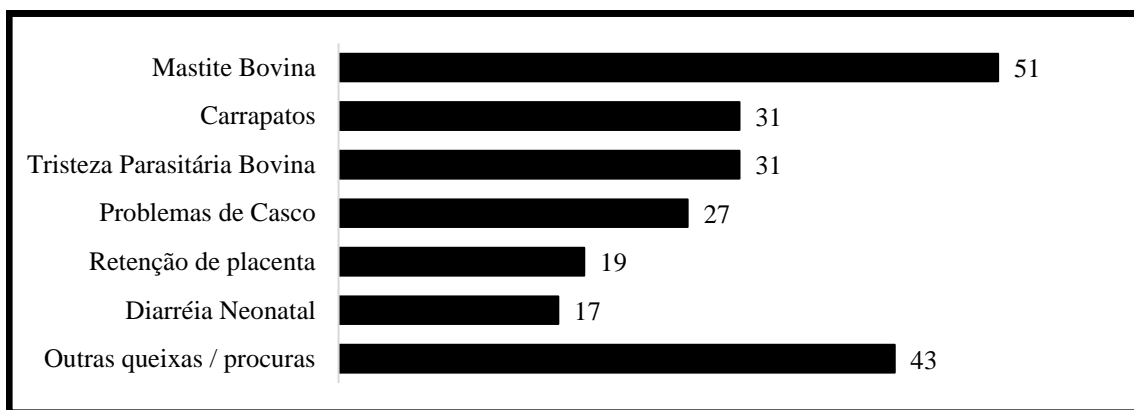


Gráfico 1: Dados numéricos das queixas dos produtores, durante o período de estágio na Casa do Fazendeiro.

Entre as queixas dos produtores, que buscavam a loja agropecuária em busca de diagnósticos, avaliações e protocolos de tratamentos para os casos clínicos apresentados, um número expressivo chamou atenção para a espécie bovina, e posteriormente estavam os caprinos, suínos, equinos, ovinos, aves, cães e gatos, como descreve o gráfico 2.

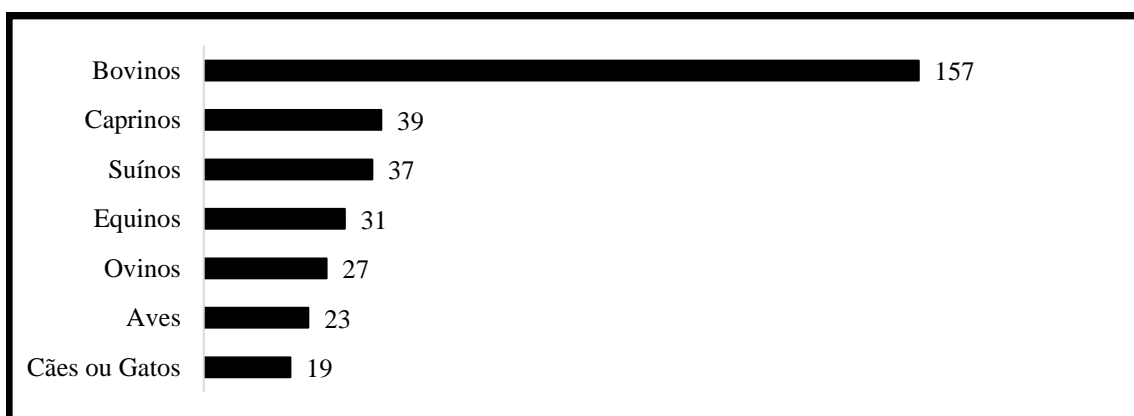


Gráfico 2: Dados numéricos das espécies citadas entre as queixas de produtores que buscaram ajuda na Casa do Fazendeiro.

A loja também atendeu clientes em serviços técnicos ou veterinários, ferramentas de manutenção de ordenha e máquinas, acessórios para manuseio e identificação de rebanho, bem como acessórios de uso pessoal do produtor, além de produtos de manejo sanitário do rebanho

e da propriedade, suplementações nutricionais para bovinos leiteiros e bezerros, produtos para proteção e fermentação de silagens.

Foi relevante também, a busca de produtores por testes de cultura microbiológica, em um total de comercialização de 423 testes anuais, seguidos da comercialização de 107 testes diferenciais, quando necessários, e protocolos de tratamento para as particularidades de cada animal e situação da propriedade, assim como houveram clientes ou populares em busca de informações ou consultorias dos profissionais.

2.2. Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (EMDAGRO).

2.2.1. Descrição do local

A EMDAGRO é a Empresa de Desenvolvimento Agropecuário do Estado de Sergipe, vinculada à Secretaria de Estado da Agricultura Desenvolvimento Agrário e Pesca, e tem ação em linhas de assistência técnica a produtores, extensão rural, pesquisa, defesa animal, vegetal, e ações ligadas a produtores fundiários e agricultura familiar (EMDAGRO, 2023).

A empresa estadual conta com quatro escritórios regionais, subsequentes e responsáveis por 36 escritórios locais. O escritório regional Nossa Senhora da Glória, conta com a responsabilidade de 9 escritórios locais. O ESO foi desempenhado na sede de Nossa Senhora da Glória, localizado na Rua Antônio Francisco de Souza, 219 (Figura 4).

O ambiente da empresa é composto por uma garagem, cinco salas para recepcionar produtores nas mais diversas funcionalidades que buscam, uma sala do setor administrativo da empresa, uma sala de uso da Médica Veterinária responsável pela sede, um almoxarifado de materiais de uso administrativo, um depósito de materiais de uso externo, dois banheiros e uma copa.



Figura 4: Sede da Emdagro em Nossa Senhora da Glória, Sergipe. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

2.2.2. Atividades desempenhadas

O estágio supervisionado obrigatório (ESO) na Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (EMDAGRO), teve supervisão da Médica Veterinária Rita Selene Quixadá Bezerra, do período de 02 de outubro de 2023 a 17 de novembro de 2023, sendo finalizado com carga horária total de 128 horas.

Em ligação direta ao Profissional Técnico Médico Veterinário, o trabalho realizado foi principalmente sob assistência técnica e extensão rural, bem como defesa sanitária animal, onde esteve o maior trabalho do Médico Veterinário, sob execução de programas nacionais sanitários, epidemiológicos, serviços de inspeção, controle e educação sanitária. A rotina a campo, desempenhou-se em assistência técnicas a produtores, controles vacinais de rebanhos, inquéritos a respeito de doenças de notificação obrigatória, até vistorias de locais de eventos que precisavam de autorização para uso de animais.

2.2.3. Casuística

Durante o período de atividades na empresa, foram realizadas atividades internas, no escritório, e atividades externas, como visitas de assistência técnica a propriedades.

Na sede, a rotina baseava-se em assistência a produtores quanto a informações ou inscrições em programas como Mão Amiga Leite, Garantia Safra, programas do Sistema de Integração Agropecuária (SIAPEC), que auxiliava na emissão de Guia de Trânsito Animal (GTA), emissão de Ficha Sanitária Animal, declarações de vacinação contra Febre Aftosa, entre outros (Figura 5 – A)

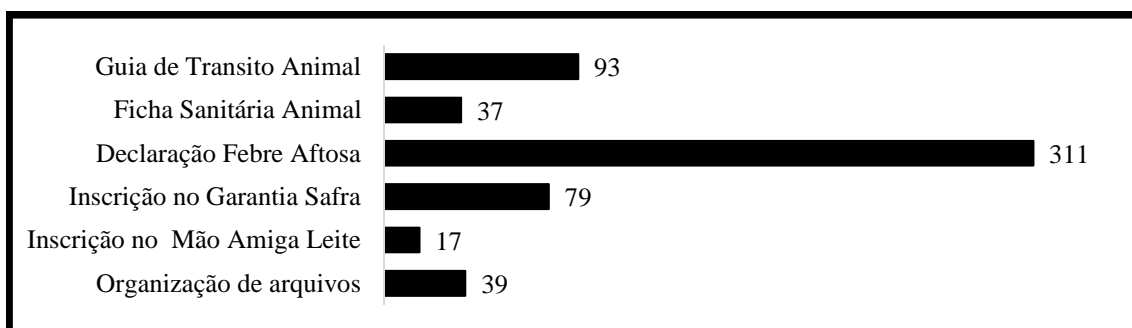


Gráfico 3: Dados numéricos da rotina de atividades internas realizadas durante o estágio.

À campo, foi possível acompanhar atividades como fiscalização em eventos de exposições de animais, como a que aconteceu no parque de exposições “Cidade do leite”, em Nossa Senhora da Glória, Sergipe, no intuito de analisar a condição do ambiente para recepção de animais que seriam expostos, além do toldo montado para receber produtores e visitantes, com o dever de prestar informações e sanar dúvidas sobre as vertentes de responsabilidade técnica da empresa, onde a estagiária teve suporte da Médica Veterinária e Supervisora de estágio, Dra. Rita Selene (Figura 5 - B).



Figura 5: A - Atendimento a produtores no escritório da regional, em Nossa Senhora da Glória, Sergipe. B – Visita para inquérito de tuberculose, em propriedade com suspeita da doença no rebanho. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

No período, foi possível acompanhar também visitas a propriedades com suspeita de tuberculose para realizar inquérito, no intuito de informar o produtor sobre os riscos e convencer a realizar testagem, além de vistorias em lojas agropecuárias, para fiscalização de geladeiras de vacinas e armazenamento de medicamentos que devem ser alocados a baixas temperaturas., conforme descreve o gráfico 4.



Gráfico 4: Dados numéricos da rotina de atividades externas realizadas durante o estágio.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Panorama da bovinocultura leiteira.

A bovinocultura leiteira, é criação de bovinos de leite com finalidade para tal produção. A ordenha, prática de obtenção do leite, é um setor de grande importância comercial e cultural no Brasil, considerado o terceiro maior produtor mundial de leite (FAO, 2019) e em 2022, ultrapassou a produção de 34 bilhões de litros (MAPA, 2023). A região do nordeste brasileiro, foi considerada a terceira maior região em índices de produção de leite (IBGE, 2022). No mesmo ano, o estado de Sergipe, seguindo crescimento, adquiriu 97 milhões de litros de leite, chegando ao 10º lugar nacional e 2º no Nordeste (IBGE, 2022).

O estado de Sergipe apresenta crescimento na produção de leite, de acordo com dados do primeiro trimestre de 2023, que revelam evolução de 23 milhões de litros em relação ao mesmo período de 2022 (IBGE, 2022). O crescimento da produção leiteira no estado ocorre devido à dedicação e investimento dos produtores na atividade, desde desenvolvimento de tecnologias, até o manejo sanitário e reprodutivo, levando a produção com leite quantitativamente e qualitativamente melhor (FAESE, 2022).

No território do Alto Sertão Sergipano, boa parte das indústrias lácteas que abastecem o comércio da região (IBGE, 2022), leite oriundo de propriedades de pequenos, médios e grandes produtores, como ilustram os dados do gráfico 5.

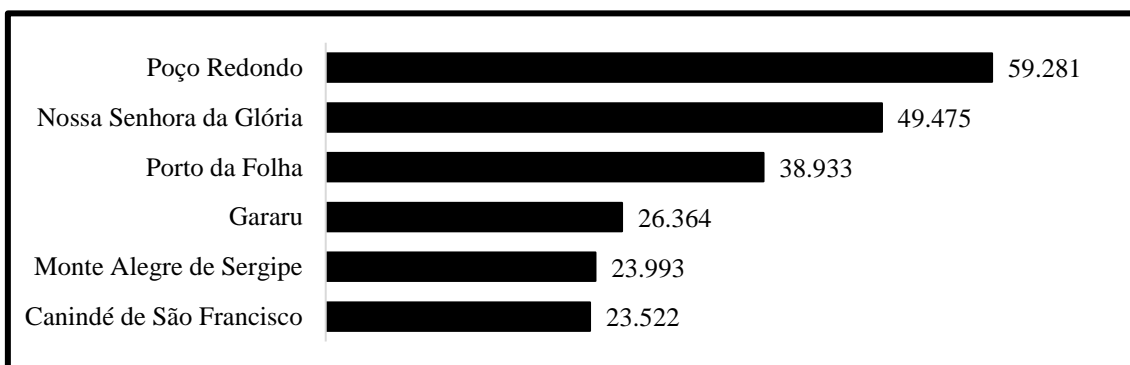


Gráfico 5: Quantidade numérica de litros de leite produzida anualmente, por alguns municípios Sergipanos.

Fonte: IBGE, 2020.

Segundo a IN (Instrução Normativa) 76 e 77, do MAPA (2018), o leite é o produto oriundo da ordenha completa, em condições de higiene, de vacas sadias. A produção leiteira é uma busca constante e em crescimento (Zoccal, 2017), e além de fonte de renda a muitos produtores, o produto é fonte de nutrientes essenciais e indispensáveis ao organismo, a exemplo

do cálcio, fósforo, magnésio e potássio, o que leva a importância de obtenção de um produto de qualidade sob condições higiênicas que assegurem a integridade de quem o consome (Moraes, 2016). As exigências de qualidade e higiene para o leite e derivados, como parâmetros de composição química, características físico-químicas e higiene, são definidas para a proteção da saúde humana e preservação das propriedades nutritivas desses alimentos (Silva e Mota, 2019).

3.2. Morfofisiologia da glândula mamária

O sistema mamário da fêmea bovina é popularmente conhecido pela responsabilidade de transformação de nutrientes ingeridos pelo animal, em leite, o qual é armazenado no úbere, por onde é ejetado a partir do estímulo, seja do bezerro, das mãos do ordenhador, ou da ordenha mecânica, induzindo a atuação da ocitocina na ejeção do leite armazenado no local (Brito e Sales, 2007).

O úbere é o conjunto que comporta as principais estruturas responsáveis pelo armazenamento e ejeção do leite, sendo estas as glândulas mamárias ou quartos mamários (Moraes, 2016). Os principais tecidos que constituem a glândula mamária, são o conjuntivo (estroma), responsável pela sustentação, e secretor (parênquima), responsável pela secreção (Araújo *et al.*, 2012).

Cada glândula mamária divide-se em porção alveolar e porção cisternal. A porção alveolar compõe pequenos ductos e alvéolos, com função de produzir e secretar o leite. A porção cisternal é composta por ductos e cisternas, responsáveis pelo armazenamento e secreção do leite (Brito e Sales, 2007).

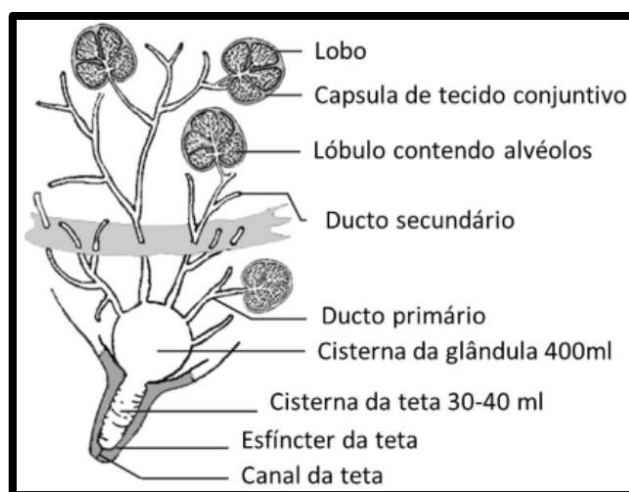


Figura 6: Estruturas que compreendem a morfologia da glândula mamária. Fonte: Brito e Sales, 2007.

O canal do teto permanece fechado por conta do esfíncter, músculo responsável pelo relaxamento do canal para descida do leite (Araújo *et al.*, 2012). Devido a ação do esfíncter, o canal do teto tornou-se a principal barreira contra infecções que possam atingir a glândula mamária. Ainda assim, por muitos descuidos ou incidentes, microrganismos acabam por adentrar o canal do teto, causando infecções na glândula mamária, como é o caso da mastite, que compromete diretamente a saúde do úbere (Alves *et al.*, 2013).

3.3. Considerações sobre a mastite em bovinos

O termo mastite, deriva do grego “mastos”, que significa mamária e sufixo “ite” que se refere a inflamação, que em bovinos, é o resultado da invasão de microrganismos na glândula mamária, embora a forma infecciosa não seja a única manifestação da mastite, que pode ser traumática, metabólica, fisiológica, alérgica e/ou psicológica (Costa, 1998).

A mastite está associada aos principais impactos sanitários e econômicos enfrentados na indústria leiteira mundial (Massote *et al.*, 2019). No contexto sanitário, a presença de microrganismos no animal, acarretam em quadros clínicos que podem comprometer o seu bem-estar, além de riscos de alastramento sistêmico dos sinais, ou em casos mais severos, como os animais em estados crônicos ou com casos recorrentes, necessidade de descarte (Salina *et al.*, 2017).

No produto, os principais riscos sanitários envolvem infecções alimentares por toxinas produzidas e liberadas por microrganismos e comprometimento quantitativo e qualitativo do leite e seus derivados devido ao aumento das células somáticas (Carvalho *et al.*, 2021).

Do ponto de vista econômico, a mastite em uma propriedade, pode gerar consequências como diminuição da produção e qualidade do leite, descarte deste, perda na produção, além de custos com serviços veterinários, protocolos de tratamento e necessidade de descarte de animais (Costa *et al.*, 2017).

O caráter da enfermidade é complexo e multifatorial (Tomazi *et al.*, 2014), e preocupa por afetar diretamente a saúde do animal, qualidade e quantidade do leite produzido (Reksen, 2006), comprometendo a composição do produto final e estado físico do animal, o que torna necessária a atenção a um controle profilático, como higiene dos ambientes, animal e equipamentos, que em conjunto a boas práticas agropecuárias e manejo, iniba novas infecções e respeite o tratamento quanto à carência, posologia e tempo de uso (Benedette *et al.*, 2008), evitando resistência antimicrobiana aos animais.

A mastite bovina pode ser apresentada quanto à forma de manifestação, a mastite pode ser clínica ou subclínica. A mastite subclínica é caracterizada pela ausência de alterações

visíveis no quarto mamário ou leite produzido pelo animal, sendo necessários testes para detectar se há presença da enfermidade, como California Mastitis Test (CMT), que pode ser realizado no momento da ordenha, na propriedade, ou a exemplo da Contagem de Células Somáticas), tecnologia de diagnóstico realizada em laboratório (Ribeiro *et al.*, 2003). A mastite clínica é caracterizada pela presença de sinais evidentes de infecção (Cortez, 2008), que pode ser um dos métodos diagnósticos, realizados na fazenda, onde através da análise física do úbere, pode-se notar edema, rubor, inflamação, sensibilidade ao toque, no animal, ou através de teste de caneca de fundo escuro, a presença de grumos, pus e outras alterações no leite (Dias *et al.*, 2020).

Quanto à transmissão, pode ser contagiosa, infecção que ocorre principalmente a partir de equipamentos de ordenha e mãos do ordenhador, se contaminados (Cortez, 2008), ou contaminação ambiental, por disseminação de microrganismos no ambiente da fazenda, como na cama, pele, úbere, água e fezes contaminados (Brito e Sales, 2007).

3.4. Atividade dos patógenos causadores da mastite bovina

A etiologia da mastite é considerada complexa e multivariada (Ribeiro *et al.*, 2003), pode ser causada por bactérias, vírus ou fungos, embora bactérias sejam as principais responsáveis pelo maior número de casos da infecção. Segundo Brito e Sales (2007), em 95% dos casos, é bacteriana, sendo 5% causados por outros microrganismos (Brito e Sales, 2007). A determinação da etiologia da mastite é importante pois permite estabelecer os pontos críticos e medidas preventivas de controle da enfermidade em rebanhos leiteiros (Walcher, 2011).

A classificação das bactérias causadoras da mastite, como contagiosas ou ambientais, depende do local onde o patógeno normalmente habita (Brito e Sales, 2007). Estes agentes atuam penetrando a glândula mamária, e à medida que as células notam presença do patógeno, as células de defesa agem, causando os sinais clínicos, como inchaço, vermelhidão, aumento de temperatura, sensibilidade ao toque e alterações no leite, como cor, textura e presença de pus ou grumos.

Bactérias contagiosas como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, são as mais frequentemente responsáveis pelos casos de mastites contagiosas em rebanhos, manifestadas na forma subclínica, no entanto, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma sp.*, também se encontram juntamente frequentemente no úbere (Brito e Sales, 2007).

Bactérias ambientais como *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Serratia sp.* e *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas spp.* e *Enterococcus spp* podem ser obtidas no contato com ambiente que vem a infectar o úbere, desde instalações, ambiente

úmido, presença de material fecal e ordenha contaminada, causando os principais casos clínicos da infecção (Brito e Sales, 2007).

O estabelecimento desses microrganismos na glândula mamária, caracteriza-se por três processos principais: invasão, infecção e inflamação. A invasão é caracterizada pela penetração no canal do teto, passando pela cisterna do teto, onde entra em contato com o leite e o usa como mecanismo de multiplicação, alcançando a cisterna do úbere, adentrando o seio lactífero dos ductos coletores e alvéolos, e quando então multiplicam-se, no processo conhecido por infecção, atraem leucócitos, desenvolvendo sinais em alguns casos, o que caracteriza ao processo de inflamação, e em muitos casos de cura, a substituição do tecido secretor glandular em conjuntivo fibroso (Silva, 2010).

Ainda que o microrganismo adentre o órgão alvo da infecção, alguns fatores são necessários para que o processo seja iniciado, sendo estes, fatores ligados ao microrganismo, como os fatores de virulência; ao hospedeiro (animal infectado), como os mecanismos de defesa; e ao ambiente, como o clima do ambiente, nutrição do animal e funcionamento inadequado da ordenhadeira (Costa, 1998).

3.5. Diagnóstico microbiológico

Os mais comuns diagnósticos detectores de mastite, baseiam-se em testes rápidos, como exame físico do úbere, teste de caneca de fundo preto e California Mastitis Test (CMT); Análise de leite, como a Contagem de Células Somáticas (CCS), que identificam processo infeccioso; Além de exames laboratoriais como cultura microbiológica.

Os Programas de Cultura na Fazenda são estratégias de controle para identificação rápida de mastite, através de uso de meios de cultura, implementando o meio seletivo para tratamento de vacas com resultado positivo para mastite (Bicalho *et al.*, 2020).

O meio seletivo consiste no diagnóstico microbiológico assertivo para evitar uso racional de antimicrobianos, pois nem todos os casos necessitam destas substâncias no tratamento (Veiga, 1998). Considerando que, além de casos que se curam espontaneamente, nem toda inflamação pode ser sinal de infecção, mas agressão ao úbere, seja por atrito físico ou produtos químicos.

O exame microbiológico realizado a partir da cultura de leite, é um método essencial para implementações de estratégias de controle mais precisas, cujo objetivo é identificar bactérias, para segurança na escolha do protocolo de tratamento eficaz (Langoni, 2013).

3.6. Teste bioquímico de hipurato de sódio

O diagnóstico microbiológico, embora eficiente em tempo e resultados, não é eficaz na diferenciação entre alguns tipos de bactérias, como é o caso dos patógenos *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae*.

Segundo Salina *et al.* (2017), a bactéria *Streptococcus agalactiae*, associada a mastites subclínicas, possui alta contagiosidade, transmitindo a mastite entre animais, principalmente no momento da ordenha.

Já a bactéria *Streptococcus dysgalactiae* possui comportamento ambiental e contagioso, normalmente associada a mastite clínica, principalmente pela ocorrência de infecções intramamárias persistentes e de sinais clínicos variados (Santos *et al.*, 2017).

Contando com a diferença entre as atividades dos patógenos, e consequentes implementações distintas quanto às práticas de controle, devido às diferentes formas de transmissão dos mesmos, torna-se importante a investigação através da realização de testes bioquímicos, que leva além da assertividade na implementação de protocolos de controle, otimização do tempo em busca de estratégias, menores gastos com animais que não precisam ser tratados, além de menores riscos de resistência antimicrobiana a bactérias aos animais que tiveram tratamento inadequado ao caso específico (Salina *et al.*, 2017).

O teste bioquímico do hipurato de sódio, é um teste de diferenciação entre patógenos do gênero *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae*, considerado um aprimoramento de diferenciação e consequentemente identificação desses patógenos. O teste conta com duas substâncias, o hipurato de sódio e a ninidrina que agem e em contato com a bactéria, desenvolvendo coloração específica para cada uma, facilitando a diferenciação entre patógenos, e consequentemente protocolos de controle direcionados aos casos específicos (Paiva e Brito, 1999).

3.7. Controle da mastite no rebanho

O princípio básico do controle da mastite é reduzir infecções existentes e prevenir novas infecções, monitorando o estado de saúde do rebanho (Benedette *et al.*, 2008), analisando padrões definidos em legislação para monitoramento de limites para qualidade do leite, como Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Padrão em Placas (CPP), contribuindo para o diagnóstico precoce de possíveis animais infectados, considerada a principal forma de minimizar futuros impactos negativos à propriedade (Costa, 1998).

Condições ambientais precárias, práticas mal executadas no manejo e genética do animal, podem ser influenciadores das prevalências de determinada bactéria em uma propriedade (Walcher, 2011).

Nos casos positivos para presença de mastite em seu estado clínico (Pinheiro, 2020), o tratamento eficaz preconiza uso de antimicrobianos (Tozzetti *et al.*, 2008), principalmente pela via Intramamária (IMam), com uso de bisnagas. Antimicrobianos são substâncias capazes de eliminar ou inibir crescimento e posterior atividade de um microrganismo.

Um dos principais motivos da resistência antimicrobiana está ligado ao uso indiscriminado (Acosta *et al.*, 2016), sem requerimento de diagnóstico correto e identificação da etiologia. Para a eliminação da infecção, é necessária sensibilidade do patógeno ao antibiótico (Ganda *et al.*, 2016), o que torna necessária a identificação correta do agente etiológico, e conseqüentemente sua patogenicidade (Finco, 2020), direcionando assertividade na posologia e aplicação correta, evitando resistência destes à droga a ser utilizada (Dereti *et al.*, 2022).

Aos casos subclínicos da enfermidade, a recomendação é concluir a fase de lactação, com terapia de secagem do animal (Souza, 2013), no entanto, a antibioticoterapia não é a única alternativa para o problema, o que sugere a precisão de tratamento seletivo de mastite em rebanhos (Bicalho *et al.*, 2020). Se necessário, fica a critério do profissional a recomendação de uso de anti-inflamatórios aos casos sintomáticos da inflamação (Macedo *et al.*, 2013).

Já o trabalho preventivo, consiste em boas práticas aplicadas à rotina propriedade, que foquem no manejo sanitário, limpeza do ambiente de ordenha, manutenção e limpeza de equipamentos e instalações, além do monitoramento de saúde do rebanho (Coser *et al.*, 2012), intervenções medicamentosas são formas eficazes de controle, no entanto, recomenda-se a prescrição do profissional veterinário responsável pela propriedade (Santos *et al.*, 2017).

4. TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Diferenciação bioquímica de patógenos em diagnóstico microbiológico de mastite bovina.

4.1. Introdução

Sergipe ocupa o terceiro lugar entre os estados do Nordeste que mais produzem leite, com destaque para os municípios do Alto Sertão, que concentram o maior número de vacas ordenhadas no estado (IBGE, 2022). A atividade, além de cultura, é fonte de emprego e sustento a pequenos produtores que tem a produção de leite como principal fonte de renda.

A obtenção do produto com padrões de qualidade para comercialização e consumo, como previsto em lei, através da implementação da legislação vigente, Instrução Normativa IN 76 e 77 (2018), do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), está entre as principais dificuldades enfrentadas por produtores rurais, que encontram entre os principais problemas econômicos e sanitários presentes na rotina dos seus rebanhos bovinos, a mastite (Simões e Oliveira, 2012).

O protocolo de controle e tratamento eficazes, aponta agilidade e eficácia em identificar o agente etiológico causador da enfermidade (Sá *et al.*, 2018), uma vez que, as características do patógeno sugerem melhor antimicrobiano a ser aplicado, bem como níveis de chances cura e contagiosidade (Maiochi *et al.*, 2019).

Entre os métodos diagnósticos da mastite, está a cultura microbiológica através de amostra de leite de animais infectados com a enfermidade, que foca no cultivo de bactérias que garantam diagnóstico correto e eficaz na escolha do protocolo de tratamento com antimicrobianos. No entanto, as espécies *agalactiae* e *dysgalactiae* dos gêneros *Streptococcus*, são visualmente idênticas, após teste de cultura em meio cromogênico, embora com patogenicidades distintas (Onfarm, 2020).

Uma vez que, ambas podem se manifestar de formas diferentes, alterando práticas de manejo e protocolo de combate e prevenção à adversidade na propriedade, a empresa “OnFarm” desenvolveu, o teste diagnóstico diferencial em *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae*, nomeado “SmartStrep” (Onfarm, 2020).

Portanto, com a necessidade de diferenciação entre as espécies, o objetivo do presente estudo é ressaltar a importância da distinção entre estes patógenos com uso do teste diferencial, após identificação da presença do gênero através de meio cromogênico de cultura de amostras de leite oriundo de propriedades com histórico de mastite bovina.

4.2. Metodologia

O estudo foi realizado a partir da análise de resultados obtidos de 423 amostras de leite inoculadas entre janeiro e dezembro de 2023, oriundas de animais 251 fêmeas bovinas submetidas à testes diagnósticos rápidos, em propriedades, onde obtiveram resultados positivos para mastite clínica ou subclínica. Entre amostras coletadas de tetos individuais, e amostras do tipo composta, quando há jato de mais de um teto em único recipiente.

“SmartLab” é o equipamento onde foram realizadas inoculações em meio de cultura (Figura 8), que conta com uma estufa acoplada à cabine de manuseio das amostras a serem inoculadas na placa de cultura, chamadas de “SmartColor”.

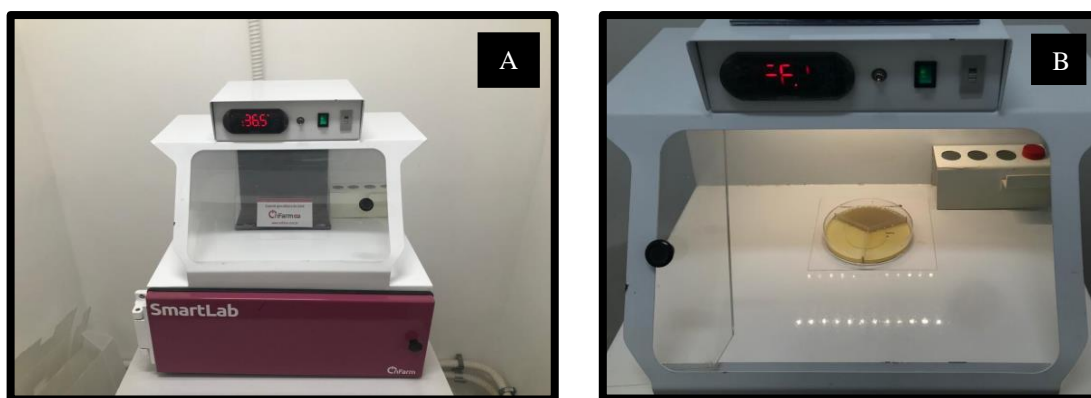


Figura 7: Laboratório “SmartLab” (A) e placa de cultura “SmartColor” (B) posicionada na cabine do “SmartLab”. Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

A coleta foi realizada a partir de dois tipos principais de amostras. A amostra por quarto mamário é a coleta individual do leite de cada teto, que permite identificar se o patógeno está presente em um ou mais tetos. A amostra composta, é a retirada de jatos de diferentes tetos em único recipiente, permitindo então identificar todas as bactérias presentes no animal.

Era fornecido um kit de coleta ao produtor, contendo pares de luvas descartáveis para manipulação, lenço umedecido em álcool 70% para higienização dos tetos, e tubos de coleta a nível da necessidade do produtor. Para realização da coleta simples, o produtor era recomendado a realizar assepsia das mãos, fazer uso das luvas, identificar tubos com brinco da vaca, quarto mamário e grau da mastite. Higienizar a ponta do teto com lenço umedecido em álcool 70%, desprezar 3 primeiros jatos e coletar os próximos no tubo, acondicionando em seguida em meio refrigerado, e transportando a amostra ao laboratório, em isopor com gelo, até o limite de 1 hora (Onfarm, 2020).

Com a chegada da amostra de leite em loja, o manipulador habilitado, realizava a inoculação o mais breve possível, para evitar alteração nas características físico-químicas do leite. A amostra era homogeneizada, para abrir o tubo e a placa. A placa sempre ficava posicionada ao centro do laboratório, e com a ajuda do Swab, eram coletados o leite dos tubos, retirados o excesso e depositados na placa, em 3 diferentes áreas, responsáveis, por “etapas” de desenvolvimento de diferentes tipos de patógenos, identificados na interpretação.

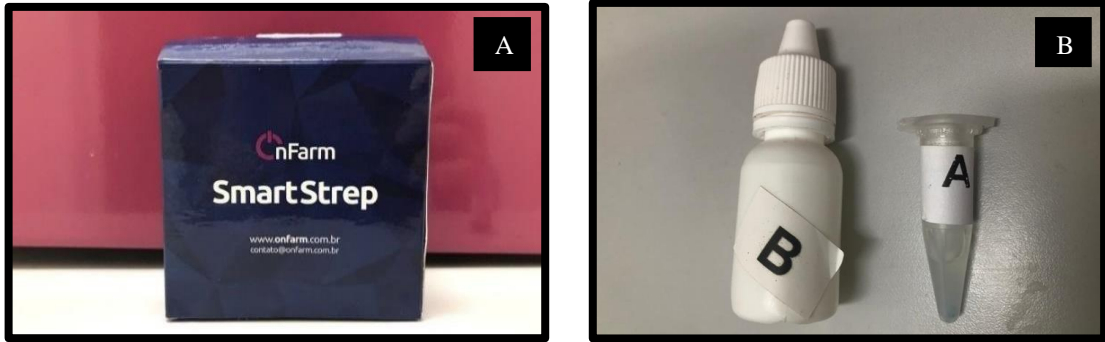


Figura 8: Inoculação na placa, com auxílio em Swab mergulhado em leite, na amostra A da etapa 3 da placa SmartColor. Fonte: OnFarm, 2020.

Ao concluir a etapa 1 do trabalho, etapa de inoculação na placa, a mesma era levada a uma estufa a 37 graus, por 24 horas, que possibilita o ambiente ideal ao crescimento das culturas, caso estivessem presentes. Após o intervalo de tempo supracitado, os resultados eram interpretados através de características visuais da colônia, como cor e morfologia.

A atividade da placa consiste em, através do seu meio cromogênico, permitir que enzimas produzidas pelo microrganismo desenvolvem a criação de cromóforos e consequente coloração do meio, a qual permite distinguir espécies presentes na amostragem (Pinheiro, 2020).

Para casos positivos para presença das espécies *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae* do gênero *Streptococcus*, era realizada a etapa 2 do trabalho, o teste de diferenciação bioquímica do hipurato de sódio (Figura 9), pois bactérias morfofuncionais diferentes, possuíam características visuais semelhantes, impossíveis de identificação somente com uso de inoculação microbiológica.



Figuras 9: A - Kit de diferenciação “SmartStrep”. B - Reagentes A e B do kit “SmartStrep”. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O primeiro passo da diferenciação consistiu na inoculação da colônia no agente A. A placa foi aberta, e com auxílio de Swab foram coletados aproximadamente 5 a 8 colônias do interesse. Posteriormente, o Swab com as colônias era mergulhado na solução do agente A, a qual era incubada por mais duas horas na estufa do SmartLab.

Após 2 horas de incubação do reagente A com a colônia, o segundo passo foi a inclusão do reagente B. Retirou-se reagente A da estufa, e foram depositadas 10 gotas do reagente B no frasco A, o qual foi incubado por mais 10 minutos na estufa do equipamento de cultura (SmartLab), ao final do tempo, é o momento de realizar a leitura. Toda reação com coloração roxa claro ou lilás, foi considerada reação fraca e resultante para presença de *Streptococcus dysgalactiae*. Já as reações com coloração final roxo escuro foram resultados positivos para *Streptococcus agalactiae*.

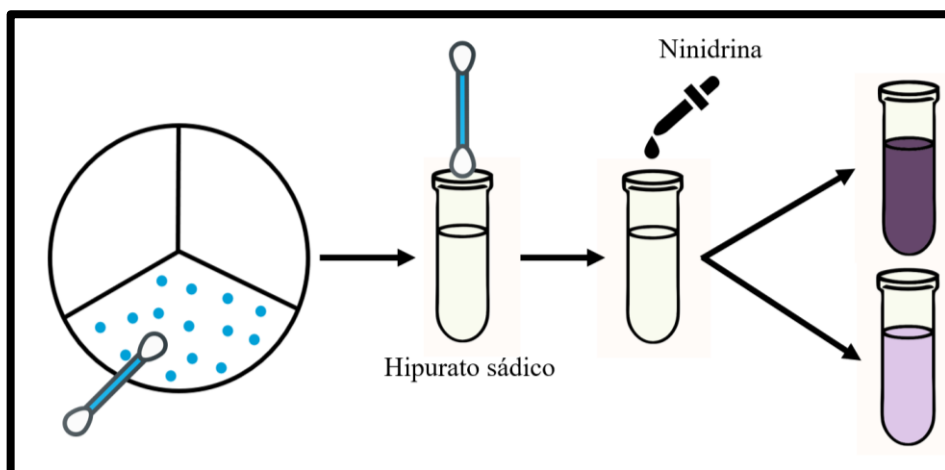


Figura 10: Ilustração do procedimento e coloração final dos reagentes do Kit SmartStrep. Fonte: Autoria própria, 2023.

4.3. Resultados e Discussão

Do quantitativo total de 423 amostras realizadas no ano de 2023, distribuídos entre 12 meses de testagens microbiológicas em meio de cultura, agosto foi o mês com maiores números de culturas, distintamente de abril, que foi o mês com menores procuras pelas testagens, conforme descreve o gráfico 6.

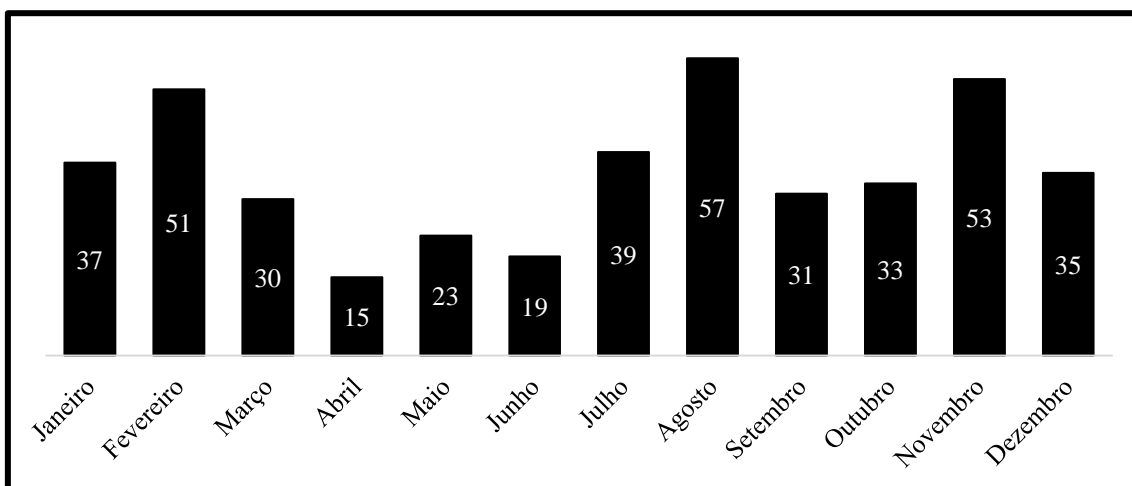


Gráfico 6: Número de amostras mensais, inoculadas no laboratório da Casa do Fazendeiro, durante o ano 2023.

Fonte: Autoria própria, 2023.

Os parâmetros de avaliação primária das amostras, partia da seleção entre resultados em positivos, negativos ou contaminados (gráfico 7), obtido a partir da interpretação de crescimento bacteriano na placa de cultura.

Resultados positivos apontaram presença de pelo menos um patógeno por amostra, resultados negativos apontaram uma amostra sem crescimento de qualquer patógeno, já as amostras consideradas contaminadas, apontavam a presença de mais de três bactérias em uma única amostra, sinal evidente de manuseio incorreto no momento da coleta.

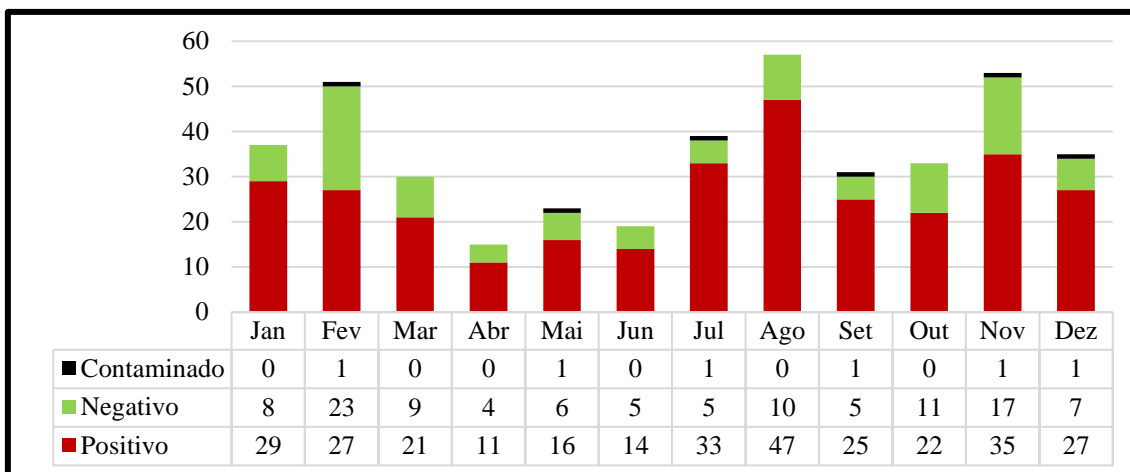


Gráfico 7: Tipos de resultados obtidos, por amostra inoculada, durante o ano de 2023.

Considerando que das 423 amostras analisadas, 6 foram consideradas contaminadas e 110 tiveram resultado negativo, a avaliação de cada grupo de patógenos foi realizada a partir do valor das amostras positivas, que contabilizaram o valor de 307 amostras.

Uma vez que as placas tripartidas possuíam meio de cultura cromogênico, a identificação das cepas era possibilitada através de interpretação por morfologia e cores das mesmas, como é possível visualizar na figura 11.

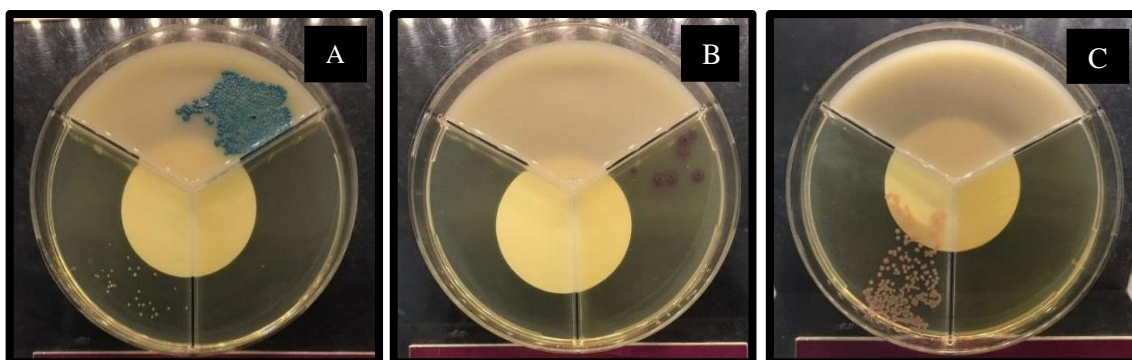


Figura 11: Placas com resultados positivos para A - *Streptococcus uberis* na etapa 1, e *Staphylococcus não aureus* na etapa 3; B - *Escherichia coli*, na etapa 2 e C - *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus não aureus*, na etapa 3. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Entre as cepas de microrganismos, foram identificadas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus não aureus*, *Streptococcus agalactiae/dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Enterococcus spp.*, *Lactococcus spp.*, entre outros gram-positivos, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas spp.*, alga *Prototheca*, entre outros gram-negativos.

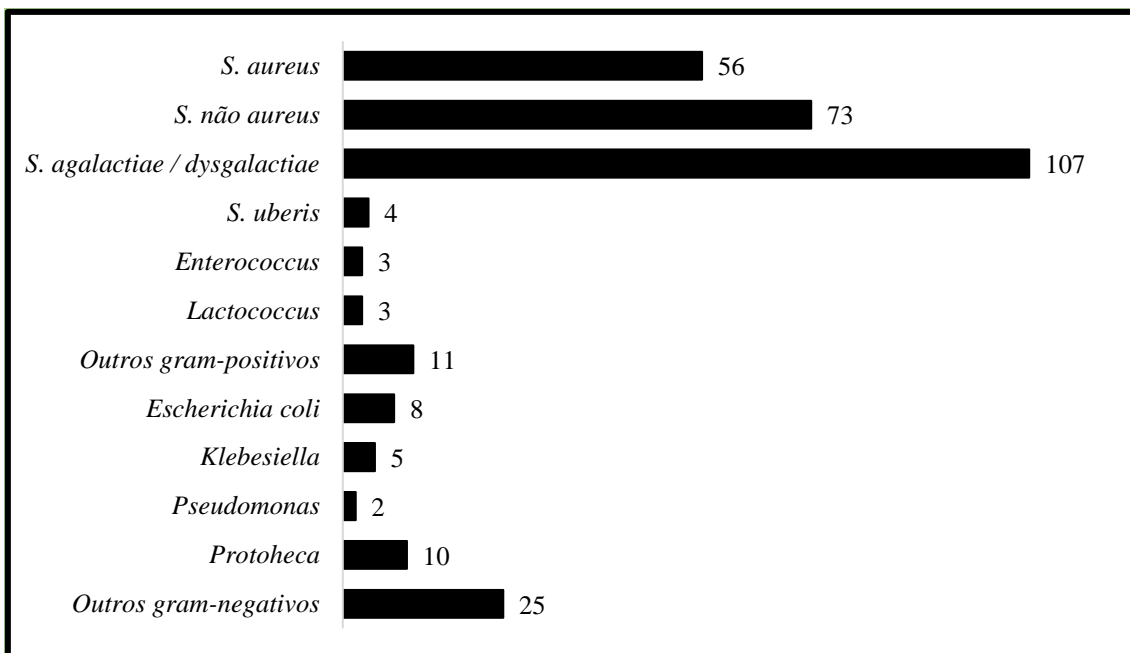


Gráfico 8: Quantidade de cepas encontradas de cada microrganismo. Fonte: Autoria própria, 2023.

Entre as 251 vacas, 175 apresentavam mastite clínica, enquanto 51 eram responsáveis por casos de mastite subclínica. Do total de animais, 19 testaram negativo, 6 tiveram amostras contaminadas, assim, 226 tiveram amostras com resultados positivos.

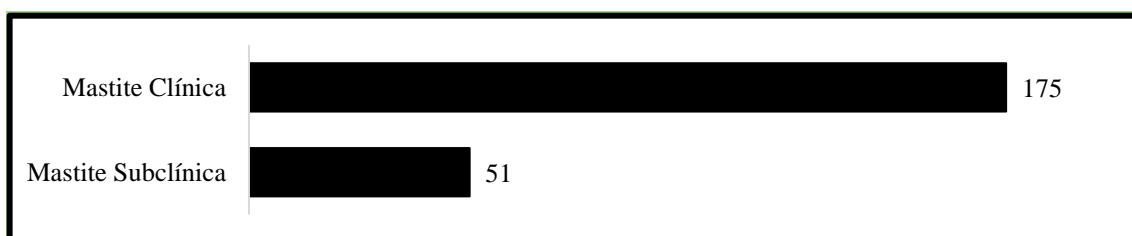


Gráfico 9: Quantidade de animais com diagnósticos para mastite clínica ou Subclínica. Fonte: Autoria própria, 2023.

O número ainda considerável para animais com mastite no estado subclínico enfatiza a importância de rotina de testagens nas propriedades, uma vez que, para cada caso clinicamente visível, deve-se considerar, segundo Lopes (2011), pelo menos 5 casos subclínicos invisíveis clinicamente, contribuindo para a disseminação da doença no rebanho.

Entre as 226 fêmeas bovinas que obtiveram amostras com resultados positivos, 175 contraíram infecções por bactérias contagiosas (gráfico 10), enquanto 51 infecções por bactéria ambiental (gráfico 11).

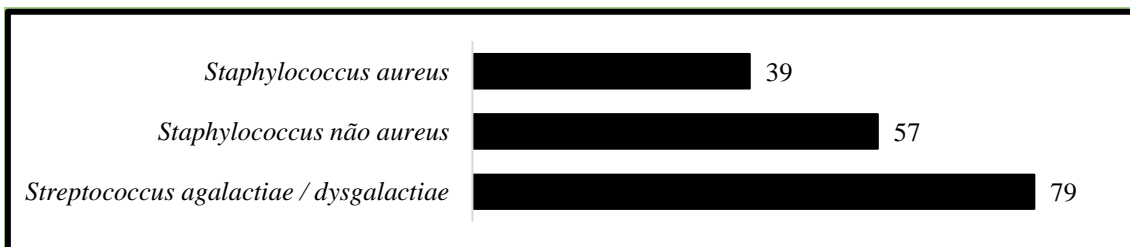


Gráfico 10: Quantidade de vacas infectadas com patógenos contagiosos.

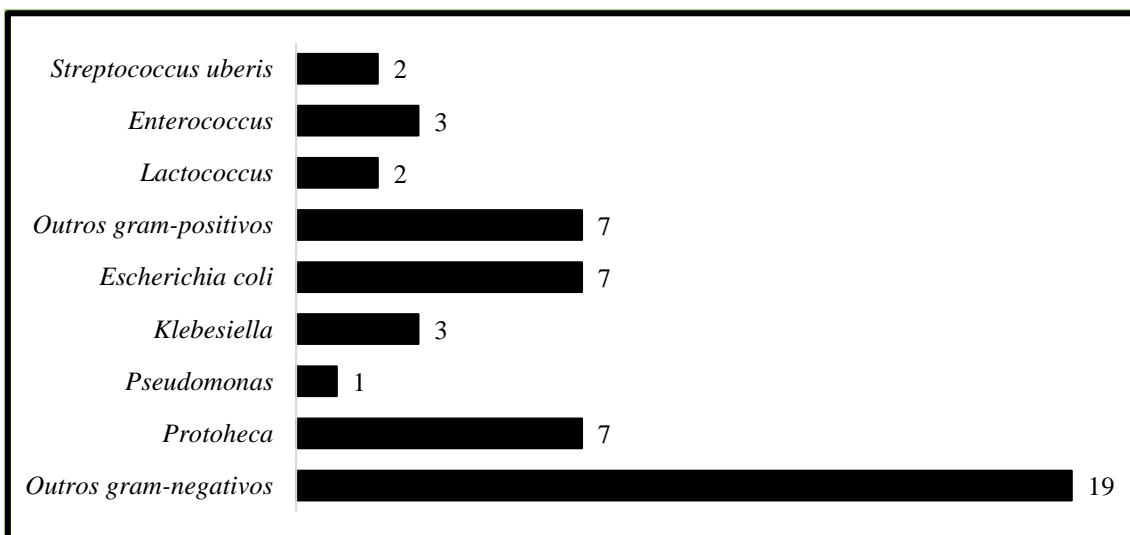


Gráfico 11: Quantidade de vacas infectadas com patógenos ambientais.

Visto que, as bactérias *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae* eram visivelmente idênticas em meio de cultura, e de patogenia distintas, era necessário realização de teste de diferenciação, sempre que identificadas nos resultados das placas, conforme ilustra a figura 12 – A.

Para amostras com coloração azul escura/roxa, o resultado da diferenciação era positivo para *Streptococcus agalactiae* (figura 33), na ausência da forte coloração, era positivo para *Streptococcus dysgalactiae*.

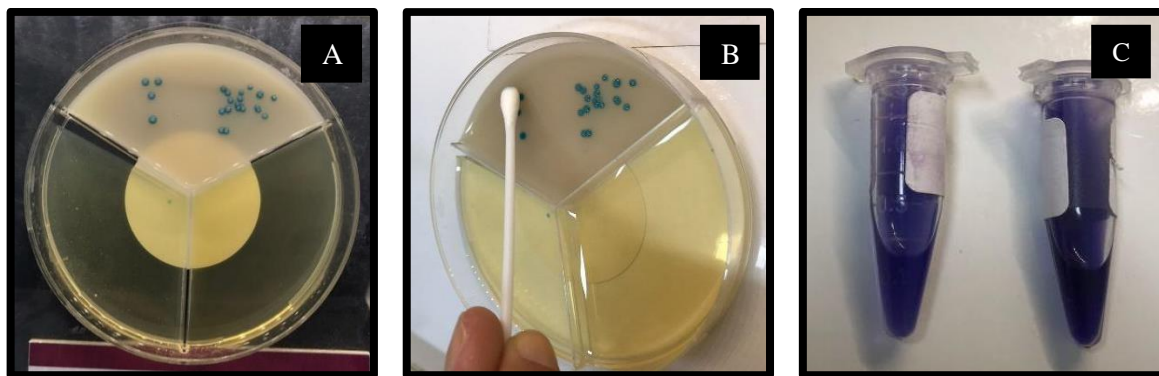


Figura 12: A - Resultado positivo para bactéria *S. agalactiae* ou *S. dysgalactiae*, B – Raspagem de cepas para realização de teste diferencial e C – Diferenciação com resposta positiva para presença de *Streptococcus agalactiae*. Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Entre 107 amostras com resultados positivos para *Streptococcus agalactiae* ou *Streptococcus dysgalactiae*, submetidas a teste de diferenciação bioquímica, 101 obtiveram resultado positivo para *Streptococcus agalactiae*, enquanto 6 obtiveram resultado positivo para *Streptococcus dysgalactiae*.

A presença de grande número de resultados positivos para *Streptococcus agalactiae*, ressalta a importância da rotina de testagens e posteriormente diferenciação pós cultura positiva para a bactéria, contribuindo no diagnóstico e tratamentos eficazes, prevenindo prejuízos futuros na propriedade e à saúde do rebanho.

A bactéria *Streptococcus agalactiae*, além de representante dos maiores números de casos subclínicos, tem potencial contagioso, o que requer tratamento com antibiótico e anti-inflamatório na presença de infecção. Já a bactéria *Streptococcus dysgalactiae*, representa boa parte dos casos clínicos.

A decisão sobre implementação de protocolo de tratamento em lactação, era embasado nas informações obtidas com o teste de cultura, e informações observadas no animal, ou relatadas pelo produtor e características do animal, uma vez que, além do caráter multifatorial da doença, protocolos isolados não tornavam eficientes o protocolo.

Aos resultados contaminados, era solicitado ao produtor uma nova coleta para retestagem do leite do animal. Resultados negativos, se o animal estivesse ausente da presença de inflamações, como rubor, edema, inflamação ou temperatura elevada, não era solicitado qualquer fármaco. Na presença de inflamação, embora o resultado da cultura fosse negativo, era solicitado apenas anti-inflamatório injetável.

Nos casos positivos para mastite, eram analisados fatores ligados ao animal, ao fármaco e ao microrganismo para a escolha da melhor substância e posologia, uma vez que, seja por

patógenos contagiosos ou ambientais, o tratamento era realizado através do uso de bisnagas antibióticas por via intramamária. A aplicação na região, aumenta a concentração no local da aplicação, mas devido ao fármaco ser antibiótico, requer tratamento sem pausa e com devida atenção ao tempo e forma de aplicação.

Para todos os casos, eram recomendadas também, medidas de controle e profiláticas, como boas práticas de manejo sanitário, higiene do animal, do ambiente e equipamentos, além de aperfeiçoamento de procedimentos realizados, se considerados errôneos ou incompletos, sob orientação do técnico habilitado.

4.4. Conclusão

A obtenção do leite é a etapa que em conjunto com boas práticas de manejo e higiene, asseguram requisitos básicos para fornecimento de um leite de qualidade, que garanta segurança alimentar e bem-estar animal. Uma vez que o maior número de bactérias encontradas foi do tipo contagiosa, como o exemplo de *Streptococcus agalactiae*, e a etiologia da enfermidade é diretamente ligada a manejo sanitário incorreto na obtenção do leite, o presente estudo reafirma a suma importância de certificar-se que o rebanho está com seu estado sanitário em níveis adequados, e um dos meios é solicitar exame microbiológico, auxiliando na identificação do patógeno e em casos de dúvida, solicitar exame diferencial, direcionando de forma assertiva a busca de fármaco potencialmente eficaz, na posologia correta, ao combate do microrganismo, regredindo prejuízos econômicos e sanitários à saúde pública por consequência da responsabilidade com a qualidade do leite. Ressalta-se a urgência de fornecimento de informações aos produtores sobre as boas práticas agropecuárias, bem como a implementação de uma rotina de testagens com maior precisão na propriedade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

São diversos os benefícios ao futuro profissional, adquiridos com experiência de estágio supervisionado obrigatório (ESO). além da consolidação de aprendizado adquirido durante a graduação, através da aplicação do conhecimento teórico a situações práticas, a experiência proporciona habilidades, rede de conhecimento, parcerias, conexões, responsabilidade ambiental, responsabilidade social, desenvolvimento e melhoramento de relacionamentos interpessoais, além de maior visibilidade da prática aplicada aos conceitos éticos, condutas profissionais e mercado de trabalho, o que levou a discente a acrescentar a sua bagagem, experiências incríveis e majestosos conhecimentos.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, A. C.; SILVA, L. B. G.; MEDEIROS, E. S.; JÚNIOR, J. W. P.; MOTA, R. A. Mastites em ruminantes no Brasil - Artigo de Revisão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V. 36, n. 7, p. 565-573, 2016.

ALVES, B.G., SILVA, T.H. e IGARASI, M.S. Manejo de ordenha. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. V. 7, n. 6, ed. 229, Art. 1514, 2013.

ARAÚJO, G. D.; SOUZA, K. B.; OLIVEIRA, L. A. S.; RIBEIRO, R. P. Aspectos morfológicos e fisiológicos de glândulas mamárias de fêmeas bovinas – revisão de literatura. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. V. 6, n. 36, ed. 223, Art. 1478, 2012.

BENEDETTE, M. F.; SILVA, D.; ROCHA, F. P. C.; SANTOS, D. A. N.; COSTA, E. A. D'A.; AVANZA, M. F. B. Mastite bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano VI, n. 11, 2008.

BERNARDES, A. Mastite bovina: Saiba o que é mastite clínica e subclínica, como identificar e tratar. **A pecuária de precisão**. 2020. Disponível em: <https://blog.apecuariadeprecisao.com.br/mastite-clinica-o-que-e-causas-como-tratar-e-principais-indicadores/>. Acesso em: 19 nov. 2023.

BICALHO, R. C.; TOMAZI, T.; SIQUEIRA, L. C.; WOLKMER, P.; BATISTA, C. P. **Cultura microbiológica na fazenda para tratamento de mastite clínica reduz o uso de antibióticos sem afetar os índices produtivos**. Circular Técnica do Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural. V.2, n.11, p.11, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Mapa do leite: Políticas públicas e privadas para o leite. 2023. Disponível em? <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite#:~:text=O%20Brasil%20%C3%A9%20o%20terceiro,de%204%20milh%C3%B5es%20de%20pessoas>. Acesso em: 09 nov. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018**. Diário Oficial da União, Brasília, DF. Seção 1, p. 9, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 77 de 26 de novembro de 2018**. Diário Oficial da União, Brasília, DF. Seção 1, p. 10, 2018.

BRITO, J. R. F.; SALES, R. O. Saúde do úbere. Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. V. 1, n. 1, p. 67-90, 2007.

CARVALHO, A. S. S.; MENDES, B. F.; DE FARIA, R. S. A.; PERECMANIS, S.; NOVAIS, E. de P. F.; RODRIGUES, M. M.; DE OLIVEIRA, C. N. M. Estudo e caracterização de

microrganismos causadores de mastite bovina no DF e entorno, sua resistência aos antimicrobianos e os fatores de risco para a ocorrência da doença. **Brazilian Journal of Development**. V. 7, n. 9, p. 86772–86797, 2021.

CFMV - Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Áreas de atuação do médico-veterinário**. 2020. Disponível em: <https://www.cfmv.gov.br/areas-de-atuacao-do-medico-veterinario/medicos-veterinarios/2020/01/29/>. Acesso em 19 set 2023.

CORTEZ, M. A. S; CORTEZ, N. M. S. Qualidade do leite: Boas práticas agropecuárias e ordenha higiênica. Niterói: Editora da **Universidade Federal Fluminense**. 2008. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/15166>. Acesso em: 28 dez. 2023.

COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M. **Mastite Bovina: Controle e Prevenção**. Universidade Federal de Lavras – Departamento de Medicina Veterinária. Boletim Técnico n. 93, p. 1-30, Lavras/MG, 2012. Disponível em: <https://professormarcosaurelio.com.br/wp-content/uploads/2019/08/bt-93-Mastite-prevencao-1.pdf>. Acesso em 19 out. 2023.

COSTA, Elizabeth Oliveira da. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**. V. 1, n. 1, p. 3-9, 1998.

COSTA, H. N.; MOLINA, L. R.; LAGE, C. F. A.; MALACCO, V. M. R.; FILHO, E. J. F.; CARVALHO, A. Ú. Estimativa das perdas de produção leiteira em vacas mestiças Holandês x Zebu com mastite subclínica baseada em duas metodologias de análise. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. V. 69, n. 3, p. 579-586, 2017.

DERETI, R. M.; ZANELA, M. B.; MÉNDEZ, M. G. Uso Prudente de Antimicrobianos para Tratamento da Mastite Bovina. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Comunicado Técnico 391, 2022. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1150007/1/CPACT-COMUNICADO-TECNICO-391.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2023.

DIAS, J. A.; BRITO, M. A. V. P.; SOUZA, G. N. Mastite: Epidemiologia e Controle. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. P. 131-142, 2020.

EMBRAPA. **Anuário do leite 2023**. P. 61. 2023. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1154264/1/Anuario-Leite-2023.pdf>. Acesso em: 5 nov. 2023.

FAESE - Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de Sergipe. **Sergipe apresenta crescimento na produção de leite, enquanto cai na maior parte do país**. 2022. Disponível em: <https://faese.org.br/sergipe-apresenta-crescimento-na-producao-de-leite-enquanto-cai-na-maior-parte-do-pais/#:~:text=Os%20dados%20do%20IBGE%2C%20analisados,maior%20crescimento%20na%20produ%C3%A7%C3%A3o%20leiteira>. Acesso em 19 nov. 2023.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO STAT - Livestock Primary**. Roma, Italy, 2019. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em 3 jan. 2024.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Guia de Boas Práticas na Pecuária de Leite**. Produção e Saúde Animal. Roma, Italy, v. 8, 2013. Disponível em: <https://www.fao.org/documents/card/en/c/bf463a5f-f22d-52a0-bdcc-865b28705294>. Acesso em: 01 jan. 2024.

GANDA, E. K.; BISINOTTO R. S.; DECTER, D. H., BICALHO, R.C. Evaluation of an On-Farm Culture System (Accumast) for Fast Identification of Milk Pathogens Associated with Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Plos One*. v. 11, n. 5, p. 1–16, USA, 2016.

IGB- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de leite**. 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>. Acesso em 19 nov. 2023.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Trimestral do Leite**. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html>. Acesso em: 17 set. 2023.

FINCO, A. **Cultura na Fazenda: muito além da mastite clínica**. Milk Point. Onfarm, 2020. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/canais-empresariais/onfarm-o-produtor-em-primeiro-lugar-sempre/cultura-na-fazenda-muito-alem-da-mastite-clinica-226429/>. Acesso em: 13 dez. 2023.

LANGONI, H. Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência da mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V. 33, p. 620-626, 2013.

LOPES, L. B. Mastite Bovina. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasil, 2011. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1354377/1743406/Mastite+Bovina.pdf/a63da9a0-e6a1-4e57-aa49-4047216b46fe?version=1.0>. Acesso em: 09 nov. 2023.

MACEDO, S. N.; CORTINHAS, C. S.; SANTOS, M. V. Cultura microbiológica do leite na fazenda: uma nova ferramenta para o diagnóstico da mastite. **Revista Leite Integral**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 2013.

MAIOCHI, R. R.; RODRIGUES, R. G. A.; WOSIACKI, S. R. Principais métodos de detecção de mastites clínicas e subclínicas de bovinos. **Enciclopédia biosfera, centro científico conhecer**. V. 16, n. 29, 2019.

MASSOTE, V. P.; ZANATELI, M. B.; ALVES, G. V.; GONÇALVES, E. S.; GUEDES, E. Diagnóstico e controle de mastite bovina: uma revisão de literatura. **Revista Agroveterinária do Sul de Minas**. V. 1, n. 1, p. 41 – 54, 2019.

PINHEIRO, Eduardo. A cultura na fazenda em tempos de crise: menos custos e mais lucratividade. **Onfarm**, 2020. Disponível em: <https://onfarm.com.br/conteudos/cultura-na-fazenda-em-tempos-de-crise/>. Acesso em: 27 dez. 2023.

REKSEN, O.; SOLVEROD, L.; BRANSCUM, A. J.; OSTERAS, O. Relationships between milk culture results and treatment for clinical mastitis or culling in Norwegian dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. V. 89, p. 2928– 2937, 2006.

RIBEIRO, M. E. R.; PETRINI, L. A.; AITA, M. F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF, W. J.; GOMES, J. F.; SCHRAMM, R. C.; MARTINS, P. R., BARBOSA, R. S. Relação entre mastite clínica, subclínica, infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**. V. 9, n.3, 2003.

SÁ, J. P. N. de; FIGUEIREDO, C. H. A. de; SOUSA NETO, O. L. de; ROBERTO, S. B. de A.; GADELHA, H. S.; ALENCAR, M. C. B. de. Os principais microorganismos causadores da mastite bovina e suas consequências na cadeia produtiva de leite. Artigo de revisão. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**. V. 12, n. 1, p. 1–13. 2018.

SALINA, A.; JUNQUEIRA, N.B.; LATOSINSKI, G.S.; OLIVEIRA, G.C.; JOAQUIM, S.F.; PARDO, R.B.; LANGONI, H. Importância da diferenciação dos *Streptococcus agalactiae* e não *agalactiae* nas mastites. **Revista Veterinária e Zootecnia**. V. 24, n. 1, p. 209 – 215, 2017.

SANTOS, W. B. R. S.; OLIVEIRA, N. C.; VIEIRA, M. L.; RIBEIRO, J. C.; CEZÁRIO, A. S.; OLIVEIRA, E. M. B.; CAMARGOS, A. S.; VALENTE, T. N. P. Mastite bovina: Uma revisão. **Colloquium Agrariae**. V. 13, n. Especial, p. 301-314, 2017.

SILVA, A. T. F; MOTA, R. A. **Mastite: perguntas e respostas**. Editora da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Ed. 1, p. 62, 2019. Disponível em: <https://repository.ufrpe.br/handle/123456789/2330>. Acesso em 30 dez. 2023.

SILVA, M. V. M.; NOGUEIRA, J. L. Mastite: controle e profilaxia no rebanho bovino. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. N. 15, 2010.

SIMÕES, T. V. M. D.; OLIVEIRA, A. A. Mastite Bovina, Considerações e Impactos Econômicos. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**. Documentos 170. Ed. 1, 2012. Disponível em: http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2012/doc_170.pdf. Acesso em: 17 nov 2023.

SOUZA, M. B. **Fundamentos do controle e prevenção da mastite na produção de leite**. Relatório de Estágio Curricular Obrigatório (Bacharelado em Zootecnia) - Universidade Federal de Goiás. Jataí, GO, p. 23, 2013. Disponível em: [https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/186/o/Fundamentos do Controle e Preven%C3%A7%C3%A3o da Mastite na Produ%C3%A7%C3%A3o d.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/186/o/Fundamentos_do_Controle_e_Preven%C3%A7%C3%A3o_da_Mastite_na_Produ%C3%A7%C3%A3o_d.pdf). Acesso em: 3 dez. 2023.

TOMAZI, T.; GONÇALVES, J.L.; SANTOS, M.V.; Novas perspectivas e conceitos associados com a prevenção e controle da mastite em rebanhos leiteiros - Revisão de literatura. **Revista de**

Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP. V. 12, n. 2, p. 18 – 27, 2014.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária.** V. 7, n. 10, p. 1-7, 2008.

VEIGA, V. M. O. **Diagnóstico da mastite bovina.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Circular Técnica N° 51. p. 5 – 14, 1998. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/957987/diagnostico-da-mastite-bovina>. Acesso em: 17 set 2023.

WALCHER, U. **Mastite bovina. Revisão bibliográfica.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Medicina Veterinária. p.22, 2011. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/72423>. Acesso em: 19 out. 2023.

ZOCCAL, Rosângela. **A força do agro e do leite no Brasil.** Leite em números. Embrapa, MG, 2017. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1083523/1/A-forca-do-agro-e-do-leite-no-Brasil.pdf>. Acesso em: 17 dez. 2023.