



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO
AMAZONAS CAMPUS MANAUS – ZONA LESTE
DEPARTAMENTO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

KALYANDRA RODRIGUES DE ALMEIDA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LEITE BOVINO PROVENIENTE DE
ANIMAIS DA REGIÃO METROPOLITANA DE MANAUS**

**MANAUS – AM
2021**

KALYANDRA RODRIGUES DE ALMEIDA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LEITE BOVINO PROVENIENTE DE ANIMAIS
DA REGIÃO METROPOLITANA DE MANAUS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM) como requisito parcial para obtenção do título de Bacharela em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Edson Francisco do Espírito Santo

**MANAUS – AM
2021**



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

A447a Almeida, Kalyandra Rodrigues de.
Análise Microbiológica do Leite Bovino Proveniente de Animais da Região Metropolitana de Manaus. / Kalyandra Rodrigues de Almeida. -- Manaus, 2021.
32 f.: 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – Campus Manaus Zona Leste, Curso de Medicina Veterinária, 2021.

Orientador: Prof. Edson Francisco do Espírito Santo.

1. Estafilococos. 2. Etiologia 3. Glândula mamária. 4. Inflamação. 5. Produção leiteira. I. Espírito Santo, Edson Francisco do. II. Título.

CDD – 619.23098115

KALYANDRA RODRIGUES DE ALMEIDA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LEITE BOVINO PROVENIENTE DE ANIMAIS
DA REGIÃO METROPOLITANA DE MANAUS**

Este trabalho de conclusão de curso foi julgado e aprovado como requisito parcial para a obtenção do grau de Médica Veterinária no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas.

Orientador: Prof. Dr. Edson Francisco do Espírito Santo.

Aprovado em 05 de Outubro de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. EDSON FRANCISCO DO ESPÍRITO SANTO
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM)



Prof. Dr. PAULO CÉSAR GONÇALVES DE AZEVEDO FILHO
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA)



MSc. ELDA ÉLY GOMES DE SOUZA
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM)

MANAUS - AM
2021

"Só porque você enfrenta adversidades e dificuldades, isso não é nenhuma razão para desistir deste mundo. Uma pessoa, disposta a jogar fora todas as memórias de seus amigos e companheiros, nunca vai encontrar paz de espírito. Se você perseverar e suportar, alguém vai estar lá para apoiá-lo."

Masashi Kishimoto - Naruto

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que fez com que meus objetivos fossem alcançados, durante todos os meus anos de estudos e permitindo que eu tivesse saúde, sanidade mental e determinação para não desanimar durante a realização deste trabalho. E que me deu forças para ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da graduação.

À minha mãe Katia Chaves que me orientou, acolheu, apoiou e fez em muitas orações. Passamos por várias dificuldades e estamos superando cada vez mais.

Ao meu amigo Luis Felype, por todo apoio e pela ajuda durante a nossa parceria em projetos, que muito contribuiu para a realização deste trabalho.

Ao meu companheiro Rafael Matos pela força, carinho, amor, dedicação e pela grande ajuda durante momentos difíceis.

Sou eternamente grata ao professor Edson Francisco do Espírito Santo, por ter sido meu orientador e ter desempenhado tal função com dedicação e amizade. E contribuiu fortemente nas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional.

Aos demais professores que me orientaram durante a graduação, Jomel Francisco dos Santos e Paulo Cesar Gonçalves de Azevedo Filho que me incentivaram dentro da pesquisa e que atuaram fortemente no desenvolvimento deste trabalho.

Queria agradecer à Anne, Técnica do Laboratório de Ciências e da Saúde do IFAM-CMZL, que estava sempre presente para auxiliar nas atividades desempenhadas durante a execução desta pesquisa.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho, enriquecendo o meu processo de aprendizado. Aqueles com quem convivi ao longo desses anos de curso, que me incentivaram e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica. Meu eterno agradecimento!

RESUMO:

A inflamação da glândula mamária, conhecida como mastite, ainda é um grande problema enfrentado no setor leiteiro brasileiro, situação na qual o diagnóstico precoce e o manejo são essenciais para a prevenção dessa patologia e para a garantia de um produto final com qualidade. A produção na região metropolitana de Manaus ainda é realizada principalmente por ordenha manual, e suas características indicam a carência de boas práticas no processo de ordenha, o que pode acarretar o aparecimento e disseminação de mastites infecciosas nas propriedades. Devido a esses fatores, este trabalho objetivou avaliar as condições microbiológicas do leite, proveniente de animais com mastite, produzido na região metropolitana de Manaus. Previamente foram realizadas análises semiológicas da glândula mamária, juntamente com o teste da caneca de fundo preto para a detecção de mastite clínica e o *California Mastitis Test* (CMT) para avaliar o índice de células somáticas, examinou-se 140 tetos de 35 animais, presentes em três propriedades selecionadas. Foram coletadas 98 amostras para análises microbiológicas, em função da apresentação de alterações nos testes. Ao exame semiológico, cinco animais apresentaram ferimentos no úbere e tetos mamários; apenas um (0,71%) teto dos 140 avaliados no teste da caneca de fundo preto apresentou leite com grumos; já ao teste CMT, 139 tetos foram analisados, com 97 (69,79%) dos tetos reagindo positivamente para CCS. Em relação às análises microbiológicas, estas indicaram que o *Staphylococcus* spp. foi o principal agente envolvido nas inflamações da glândula mamária, com 97 (100%), seguido pelo *Streptococcus* spp., com uma (100%) amostra e leite do teste da caneca telada e 64 (65,97%) das amostras reativas ao CMT e o *Enterococcus* spp. também se fez presente em 75 (77,31%). Foi identificada prevalência de leite com as CCS aumentadas e baixo índice de mastite clínica no teste de caneca telada. A presença dos patógenos citados caracteriza problemas de contaminação humana, vetorial e ambiental do produto, levantando-se sérias questões de saúde pública. Espera-se que este trabalho possa colaborar em pesquisas futuras para direcionar sobre boas práticas na produção de leite na região metropolitana de Manaus.

Palavras-chave: Estafilococos, Etiologia, Glândula mamária, Inflamação, Produção leiteira.

ABSTRACT:

Inflammation of the mammary gland, known as mastitis, is still a major problem faced in the Brazilian dairy sector, a situation in which early diagnosis and management are essential to prevent this pathology and to guarantee a quality final product. Production in the metropolitan region of Manaus is still carried out mainly by manual milking, and its characteristics indicate the lack of good practices in the milking process, which can lead to the appearance and spread of infectious mastitis in the properties. Due to these factors, this study aimed to evaluate the microbiological conditions of milk from animals with mastitis produced in the metropolitan region of Manaus. Previously, semiological analyzes of the mammary gland were performed, together with the black-bottom mug test for the detection of clinical mastitis and the California Mastitis Test (CMT) to assess the somatic cell index, 140 teats of 35 animals present were examined in three selected properties. 98 samples were collected for microbiological analysis, depending on the presentation of changes in the tests. On semiological examination, five animals presented injuries to the udder and breast teats; only one (0,71%) teat of the 140 evaluated in the black-bottom mug test had lumpy milk; in the CMT test, 139 teats were analyzed, with 97 (69,79%) of the teats reacting positively to CCS. Regarding microbiological analysis, these indicated that *Staphylococcus* spp. was the main agent involved in inflammation of the mammary gland, with 97 (100%), followed by *Streptococcus* spp., with one (100%) sample and milk from the screen mug test and 64 (65,97%) of the samples reactive to CMT and *Enterococcus* spp. it was also present in 75 (77,31%). A prevalence of milk with increased CCS and a low index of clinical mastitis was identified in the screen cup test. The presence of the mentioned pathogens characterizes problems of human, vector and environmental contamination of the product, raising serious public health issues. It is expected that this work can collaborate in future research to guide on good practices in milk production in the metropolitan region of Manaus.

Keywords: Staphylococci, Etiology, Mammary gland, Inflammation, Dairy production.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Bovinos a pasto em propriedade do município de Rio Preto da Eva.....	16
Figura 2. Contenção dos animais para realização das coletas e exames de inspeção e palpação.....	17
Figura 3. Identificação de mastite clínica através do Teste da caneca de fundo preto.....	17
Figura 4. Teste CMT para detecção de mastite subclínica.....	18
Figura 5. Análise microbiológica das amostras de leite no laboratório do IFAM-CMZL.....	20
Figura 6. Amostras em placas com ágar sangue de ovino 5% em estufa bacteriológica no laboratório do IFAM-CMZL.....	20
Figura 7. Meio de cultura ágar sal manitol apresentando mudanças na coloração.....	21
Figura 8. Lesão em teto mamário.....	22
Gráfico 1. Resultados do Teste CMT das amostras de leite bovino proveniente de propriedades da região metropolitana de Manaus, durante o período de março a outubro de 2019.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Escore do CMT.....	19
Tabela 2. Micro-organismos presentes nas amostras de leite provenientes da região metropolitana de Manaus, analisadas de março a outubro de 2019.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCS – Contagem de células somáticas

CMT – *California Mastitis Test*

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

SENAR – Serviço Nacional de Aprendizagem Rural

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 JUSTIFICATIVA	14
3 OBJETIVOS	15
3.1 OBJETIVO GERAL.....	15
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
4 MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 LOCAIS PARA A OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE LEITE	16
4.2 EXAME SEMIOLÓGICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA.....	16
4.3 TESTE DA CANECA DE FUNDO PRETO OU TELADO	17
4.4 CMT (<i>CALIFORNIA MASTITIS TEST</i>)	18
4.5 COLETA DAS AMOSTRAS.....	19
4.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	20
4.7 TABULAÇÃO E PROCESSAMENTO DOS DADOS.....	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1 ACHADOS DO EXAME SEMIOLÓGICO DA GLANDULA MAMÁRIA.....	22
5.2 TESTE DA CANECA DE FUNDO PRETO (MASTITE CLÍNICA)	23
5.3 <i>CALIFORNIAN MASTITIS TEST</i> (ÍNDICE DE CELULAS SOMÁTICAS) .	23
5.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO LEITE MASTÍTICO	24
CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

O leite bovino é um produto com uma grande importância econômica e social em países em desenvolvimento, em sua maioria relacionada à produção de agricultura familiar (MARX et al., 2021). Segundo estudo da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a qual analisou dados relacionados a custos de produção e da rentabilidade entre os anos de 2014 e 2017, o Brasil correspondeu a 7% de toda produção leiteira mundial, ocupando a quinta posição, com um volume de 33,8 bilhões de litros de leite no ano de 2018 (MEZZADRI, 2020).

O rebanho bovino do Brasil é de 2014.893.800 animais, sendo que destes, o estado do Amazonas participa com cerca de 1.455.842 animais, porém possuindo apenas 93.310 vacas pertencentes ao rebanho leiteiro, produzindo 43.844 litros em 2019 (IBGE, 2020). O estado do Amazonas apresenta uma produção leiteira concentrada em alguns municípios, como a sub-região Rio Negro/Solimões, onde todos possuem produção leiteira, exceto Novo Airão. Neste contexto, o município de Autazes é considerado o maior produtor desta sub-região, com uma produção de 2.914,06 mil litros, seguido de Careiro da Várzea com 2.805,15 mil litros (BELTRÃO, 2018).

O leite pode ser compreendido por uma mistura homogênea com grande número de componentes como lactose, glicérides, proteínas, sais, vitaminas, enzimas, gordura e caseínas ligadas a sais minerais (ORDÓÑEZ et al., 2004). Dentre os alimentos considerados de alto valor biológico, o leite ocupa um lugar de destaque devido sua riqueza em constituintes nutritivos e energéticos, características que o tornam recomendável para o consumo (PEREIRA et al., 2010). Entretanto, devido à sua composição físico-química, este produto é considerado um excelente meio de cultivo para diversos micro-organismos como coliformes fecais, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. (TEIXEIRA; FIGUEIREDO, 2019; MÜLLER; REMPEL, 2021).

No tocante às enfermidades que afetam a produção animal, a mastite é considerada a doença mais importante que acomete os rebanhos leiteiros, o que leva a um grande impacto econômico, pois desencadeia gastos com medicamentos, diminuição da produção e da qualidade do leite, e conseqüentemente, descarte precoce de animais (FERRONATO et al., 2018).

A mastite clínica resulta em anormalidades visíveis no leite e nos quartos mamários, onde estas alterações são facilmente detectadas durante o exame físico de rotina. Quanto à mastite subclínica, esta diverge da forma clínica pela não visualização e identificação das manifestações, e dessa forma se faz necessário a realização de testes complementares para o diagnóstico (ALMEIDA et al., 2020). Esta forma é identificada pela presença de agentes inflamatórios, onde estes são biomarcadores ou patógenos de mastite em secreções glandulares quando uma infecção intramamária está presente (KANDEEL et al., 2017).

As perdas econômicas acontecem devido ao alto custo produtivo frente à queda de produtividade, que pode chegar a ser de 50%, além do custo no tratamento e descarte dos animais com mastite (SILVA et al., 2018). O produtor tem ainda que levar em conta, os índices de contagem de células somáticas (CCS), sendo esta uma das formas de monitorar a qualidade do leite e a saúde dos quartos mamários. Esta análise está diretamente relacionada com a ação de micro-organismos ocasionando processo inflamatório, e por conseguinte a perda progressiva do epitélio secretor das glândulas mamárias, assim, diminuindo a produção de leite. Como consequência direta, acarreta prejuízo no preço pago pelo litro de leite, devido à baixa qualidade do produto (ROMÃ; MADUREIRA, 2020; LOPES et al., 2011).

Com todo o impacto socioeconômico e cultural na produção de leite, o controle da mastite nos rebanhos bovinos se faz necessário para que se possa produzir um alimento de boa qualidade, e dessa forma se consiga entregar ao consumidor um produto que atenda às suas expectativas, além de garantir segurança à saúde pública. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do leite bovino com mastite produzido na região metropolitana de Manaus.

2 JUSTIFICATIVA

A produção leiteira na região metropolitana de Manaus, em sua maioria, ainda é realizada por meio de ordenha manual, e possui características que demonstram a falta de boas práticas durante a ordenha e a baixa adoção de tecnologias na produção. Com isso, pode se tornar um risco para o surgimento e disseminação das mastites e assim comprometer a qualidade final do leite.

Para garantir a qualidade deste alimento, o qual contempla grande importância econômica e sociocultural para a região, são necessários procedimentos que visem a sua caracterização microbiológica adequada, bem como a caracterização das mastites que acometem os rebanhos da região devido à grande contaminação dos animais por micro-organismos presentes no ambiente de ordenha. Dessa forma, um detalhamento de características das mastites que acometem a produção e qualidade do leite bovino é fundamental para subsidiar medidas corretivas de problemas básicos, como os observados na produção leiteira convencional dos bovinos de leite.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as condições microbiológicas do leite produzido na região metropolitana de Manaus.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar pontos críticos da contaminação do leite;
- Detectar mastite clínica e subclínica nos animais ordenhados;
- Verificar agentes microbiológicos envolvidos nas inflamações mamárias;
- Avaliar riscos à saúde pública pelo consumo de leite contaminado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAIS PARA A OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE LEITE

Durante o período de maio a novembro de 2019, três propriedades com sistemas de ordenha manual pertencentes à região metropolitana de Manaus foram selecionadas para a realização da pesquisa. Em relação aos municípios, a primeira e a segunda, localizavam-se em Manacapuru, nos Km 55-AM 070, Ramal Bela Vista Km 8, respectivamente. Já a terceira propriedade localizava-se no Km 79-AM, no município de Rio Preto da Eva. Os bovinos de aptidão leiteira eram provenientes de criações semi-intensivas e encontravam-se soltos a pasto nas propriedades visitadas, conforme a Figura 1.



Figura 1. Bovinos a pasto em propriedade do município de Rio Preto da Eva. Fonte: Arquivo pessoal.

4.2 EXAME SEMIOLÓGICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA

Para esta ação, os animais foram conduzidos pelos tratadores aos currais ou troncos de contenção, onde era realizada a ordenha diária. Em seguida, os membros posteriores eram contidos com a utilização de cordas, sendo que o seu uso consiste em contornar, com uma corda, os membros pélvicos dos animais na região acima do jarrete, com uma volta simples e outra cruzada em forma de oito. Essa contenção possui uma laçada que é facilmente desatada e permite prender a cauda dos animais nos casos de se ordenhar manualmente as vacas, possibilitando, assim, a redução da contaminação do leite pelo contato com a sujeira que, normalmente, encontra-se aderida na vassoura da cauda (SENAR, 2017). Depois que os animais eram contidos,

o exame semiológico ocorria através da palpação e inspeção dos quartos mamários, a fim de se observar a presença de edema, de lesões e de outros achados característicos de inflamação dos tetos e do úbere, conforme a Figura 2.



Figura 2. Contenção dos animais para realização das coletas e exames de inspeção e palpação. Fonte: Arquivo pessoal.

4.3 TESTE DA CANECA DE FUNDO PRETO OU TELADO

Após a realização do exame semiológico, foi feito o teste da caneca de fundo preto ou telado, com o objetivo de se diagnosticar a mastite clínica (COSER et al., 2012). Segundo Campos e Tulio (2018), este teste consiste em despejar os três primeiros jatos de leite de cada teto na caneca de fundo preto e, posteriormente, observar possíveis alterações na cor, consistência, bem como a presença de grumos, pus ou sangue na amostra, conforme a Figura 3.



Figura 3. Identificação de mastite clínica através do Teste da caneca de fundo preto. Fonte: Arquivo pessoal.

4.4 CMT (CALIFORNIA MASTITIS TEST)

Após o teste da caneca de fundo escuro ou telado, o CMT foi realizado, com o objetivo de diagnosticar mastite subclínica, sendo que apenas os tetos que apresentavam mastite clínica ao reagir no teste de caneca telada não eram submetidos ao presente teste.

Para a execução do CMT, utiliza-se raquete e reagente CMT. O teste consiste em depositar 2 mL de leite, nas quatro câmaras da raquete, por meio do estímulo da glândula mamária (ordenha) de forma apropriada e individual de cada um dos tetos. Em seguida era adicionado 2 mL de reagente CMT na raquete em temperatura ambiente, com homogeneização da solução com o leite, em movimentos circulares e suaves da raquete, como demonstrados na Figura 4.



Figura 4. Teste CMT para detecção de mastite subclínica.
Fonte: Arquivo Pessoal.

Após a homogeneização, a solução resultante era classificada de acordo com as características da reação, sendo correlacionada à contagem média de células somáticas (MELLENBERGER, 2001). O CMT foi interpretado conforme descrito por BELACHEW et al. (2018) que descrevem os parâmetros em escalas de cinco pontos, as quais são mensuradas conforme o grau de viscosidade, onde podem existir as seguintes possibilidades de resultados: negativo (a mistura permanece líquida sem evidência de formação de precipitado); traço (um ligeiro precipitado evidente que tende a desaparecer com o movimento contínuo da raquete); CMT + (ligeiro aumento de densidade da solução, mas sem tendência à formação de gel); CMT ++ (a mistura geleifica imediatamente com alguma formação de gel e com o movimento, tendendo

a se mover em direção ao centro, deixando o fundo da borda externa do copo exposta, e novamente cobrindo o fundo do copo se o movimento parar); e CMT +++ (forma-se o gel que tende a aderir ao fundo da raquete e um pico central distinto durante a agitação). A Tabela 1 demonstra os graus do resultado do teste e como estão diretamente correlacionados à reação.

Tabela 1. Escore do CMT.

Escore CMT	Quantitativo de células somáticas estimado	Interpretação
N (Negativo)	0 – 200	Sem alterações
T (Traços)	200 – 400	Mastite subclínica
+	400 – 1.200	Mastite subclínica
++	1.200 – 5.000	Mastite subclínica grave
+++	> 5.000	Mastite subclínica severa

Legenda: (+) grau 1, (++) grau 2 e (+++) grau 3.

Fonte: Adaptado de BELACHEW (2018).

4.5 COLETA DAS AMOSTRAS

Previamente à coleta, os tetos mamários foram submetidos à assepsia, com algodão hidrofílico e embebido com álcool 70%, a fim de minimizar a contaminação da amostra. O leite foi obtido através de ordenha manual, com o depósito dos jatos de leite em tubos de ensaio estéreis de 10 ml. Em seguida, estes tubos foram identificados, para assim serem acondicionados em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável. Dessa forma, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Ciências Biológicas e da Saúde do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – Campus Manaus Zona Leste (IFAM-CMZL) para análise microbiológica, conforme a Figura 5.



Figura 5. Análise microbiológica das amostras de leite no laboratório do IFAM-CMZL. Fonte: Arquivo pessoal.

4.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As amostras foram inoculadas em ágar base enriquecido com 5% de sangue ovino pelo método de estriamento em placas de Petri e incubadas em estufa microbiológica a 37°C (Figura 6), com leituras feitas em intervalos de 24 horas até completarem 72 horas. Os micro-organismos isolados após o crescimento foram identificados através da análise de suas características morfológicas e tintoriais, conforme a técnica de Gram (QUINN et al., 2007).



Figura 6. Amostras em placas com ágar sangue de ovino 5% em estufa bacteriológica no laboratório do IFAM-CMZL. Fonte: Arquivo pessoal.

Posteriormente, as colônias isoladas e descritas pelas suas características morfológicas e tintoriais foram submetidas ao teste da catalase, que permite separar os estreptococos catalase negativos de outros cocos Gram-positivos produtores de catalase, como por exemplo, certos tipos de estafilococos (MURRAY, 2007). As colônias foram alocadas em lâminas de vidro, com aplicação de uma gota de peróxido de hidrogênio 10 volumes, a fim de observar a presença ou ausência de reação através da formação de bolhas (OPLUSTIL et al., 2010). A enzima catalase converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, e este ao ser liberado promove a formação de bolhas. Quando esta formação não ocorre, contata-se a negatividade do teste e o indicativo de alguns de *Streptococcus* spp. (TRABULSI; ALTERTHUM, 2009).

As colônias foram cultivadas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), por 24 horas em temperatura de $37^{\circ}\text{C}\pm 1$. O caldo BHI é um meio de cultura nutritivo, não seletivo, para isolamento e manutenção de micro-organismos em geral (GÁMEZ; ARGOTI, 2017). Depois da recuperação das colônias isoladas em BHI, as cepas foram inoculadas em ágar sal manitol pelo método de estriamento em placas de Petri. O ágar sal manitol é um meio seletivo para o isolamento presuntivo, com isso outras bactérias são inibidas pela alta concentração de cloreto de sódio. As linhagens de estafilococos crescem bem em ambientes salinos, sendo capazes de fermentar manitol para produzir ácido láctico, que pode ser detectado com o uso de um indicador de pH, modificando o meio de cultura do rosado para o amarelo devido à liberação de ácido, conforme a Figura 7 (ZURITA et al., 2010; SANTOS et al., 2007).



Figura 7. Meio de cultura ágar sal manitol apresentando mudanças na coloração. Fonte: Arquivo pessoal.

4.7 TABULAÇÃO E PROCESSAMENTO DOS DADOS

Para a análise dos dados usou-se a estatística descritiva com números relativos e absolutos. Os dados coletados foram compilados em planilha no programa Microsoft Excel® 2019, com posterior elaboração de gráficos e tabelas para melhor visualização.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ACHADOS DO EXAME SEMIOLÓGICO DA GLANDULA MAMÁRIA

Foram avaliados 35 animais nas propriedades visitadas e 140 tetos mamários foram analisados. Ao realizar o exame semiológico, foram identificados cinco (3,33%) tetos com ferimentos, como demonstrado na Figura 8. O percentual de lesões encontrado nesse estudo é semelhante ao encontrado por Arantes (2014) que avaliou vacas com aptidão leiteira destinadas ao abate, situação em que analisou 625 tetos mamários e apenas 35 (5,60%) apresentaram lesões durante a inspeção.

Os efeitos das mastites na produção de leite estão diretamente relacionados ao grau de lesão do tecido mamário, dessa forma, quanto maiores as alterações nos componentes do leite, maior será o número de CCS (LANGONI et al., 2017). As lesões no tecido mamário são consideradas portas de entrada para a proliferação de microorganismos patogênicos, assim desencadeando processos inflamatórios por causa da colonização presente (MEDEIROS, 2017).



Figura 8. Lesão em teto mamário. Fonte: Arquivo pessoal.

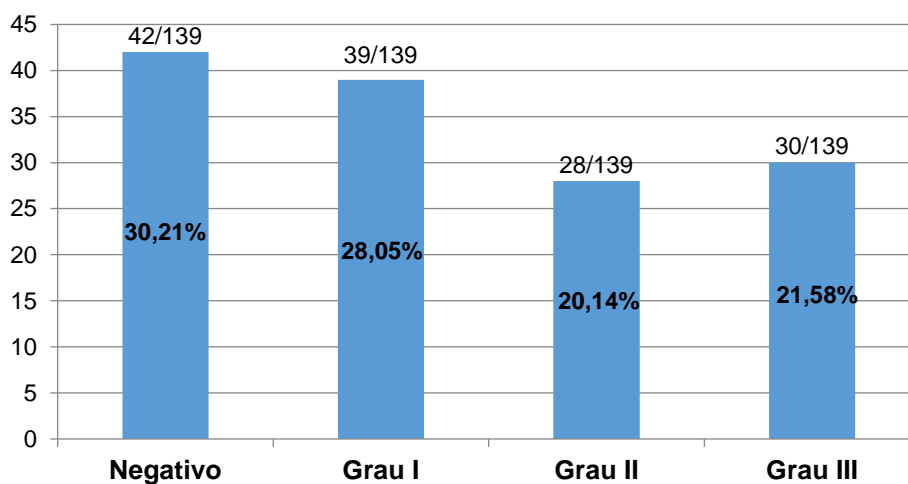
5.2 TESTE DA CANECA DE FUNDO PRETO (MASTITE CLÍNICA)

Após o teste da caneca de fundo escuro, constatou-se que dos 140 (100%) tetos analisados, apenas um teto (0,71%) gerou leite com grumos, situação que caracteriza baixa prevalência de mastite clínica entre os animais avaliados. Segundo Damasceno et al. (2020), que ao investigarem a mastite bovina e sua relação com a qualidade do leite em uma fazenda do Sul de Minas Gerais, constataram que 11 (40,74%) animais avaliados possuíam mastite clínica com presença de sinais como alterações no aspecto do leite, febre e edema de úbere, situação diferente do que foi encontrado no presente estudo.

5.3 CALIFORNIAN MASTITIS TEST (ÍNDICE DE CELULAS SOMÁTICAS)

Quanto ao teste CMT, 139 tetos foram avaliados, com a finalidade de detecção de marcadores inflamatórios, onde se observou que apenas 42 (30,21%) tetos apresentaram reação negativa para o teste. Em relação aos demais tetos, 39 (28,05%) apresentaram grau 1, que de acordo com a correlação estabelecida na leitura por BELACHEW et al. (2018), se encontravam com taxa de CCS entre 400 e 1.200. Amostras provenientes de 28 (20,14%) tetos evidenciaram grau II, o que contempla valores de CCS compreendidos entre 1.200 a 5.000. Para o grau III, estavam presentes em 30 (21,58%) tetos, apresentando correlação com valor de CCS > 5.000. Os valores acima citados estão demonstrados no Gráfico 1. Link et al. (2018) avaliando 355 amostras de bovinos de leite em uma propriedade de Realeza-PR, identificaram que 8,73% das amostras apresentaram grau 1, 12,96% o grau 2, e 9,86% delas, o grau 3.

Gráfico 1. Resultados do Teste CMT das amostras de leite bovino proveniente de propriedades da região metropolitana de Manaus, durante o período de março a outubro de 2019.



5.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO LEITE MASTÍTICO

As amostras reagentes aos testes após serem submetidas a avaliação das condições microbiológicas, totalizaram 98 amostras, destas uma amostra de mastite clínica e 97 com resultado positivo para reação ao CMT, as quais são demonstradas na Tabela 2.

Tabela 2. Micro-organismos presentes nas amostras de leite provenientes da região metropolitana de Manaus, analisadas de março a outubro de 2019.

Agentes etiológicos	Mastite clínica	Mastite subclínica
<i>Staphylococcus</i> spp.	1/1 (100%)	97/97 (100%)
<i>Streptococcus</i> spp.	1/1 (100%)	64/97 (65,97%)
<i>Enterococcus</i> spp.	-	75/97 (77,31%)

Das amostras analisadas, constatou-se que o *Staphylococcus* spp. era o agente mais comum, sendo identificado em 97 (100%) das amostras de mastite clínica e subclínica. Estes achados corroboram com o observado por Mesquita et al. (2019), que encontraram alta prevalência de *Staphylococcus* spp. em amostras de leite do tanque de expansão em 200 propriedades estudadas em Minas Gerais, situação na qual 71% das amostras apresentou o micro-organismo supracitado. Simões et al. (2013) relatam que o *Staphylococcus* spp. apresenta grande importância na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos, devido à sua alta prevalência e o risco de produção de toxinas causadoras de gastroenterites alimentares.

Quanto à presença de *Streptococcus* spp. nas amostras examinadas, esta foi de 100% (1/1) em mastite clínica e 65,97% (64/97) das amostras de mastite subclínica. Teixeira et al. (2016), ao avaliarem 498 amostras de bovinos leiteiros com mastite, identificaram 28,7% de vacas positivas para *Streptococcus* spp., o que difere dos resultados encontrados neste estudo. Segundo Oliveira et al. (2016), os *Streptococcus* spp. são considerados como estreptococos ambientais, os quais participam da microbiota intestinal e são encontrados nos locais em que as vacas são criadas.

Durante a análise, constatou-se a presença de *Enterococcus* spp. Em 75 (77,31%) amostras de leite com mastite. Estes achados diferem dos resultados obtidos por Bettanin et al. (2019), que objetivando identificar a frequência de agentes da mastite na região Sudoeste do Paraná, observaram apenas crescimento de 4,64% dos *Enterococcus* spp., em 490 amostras de leite. Resultados mais próximos foram obtidos através do estudo desenvolvido por Junior (2018), que ao realizar diagnóstico da qualidade higiênico-sanitária de leite cru resfriado ou não no Recôncavo-BA, observou a presença do *Enterococcus* spp. em 88,88% das amostras analisadas.

O predomínio de *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., e *Enterococcus* spp. reforça a necessidade de monitoramento constante da saúde dos quartos mamários dos animais, do manejo, da ordenha e do acondicionamento do leite obtido, assegurando assim, um produto saudável ao consumidor final.

Os micro-organismos encontrados indicam a presença de mastite contagiosa e ambiental nas propriedades, que por sua vez podem gerar perdas na produção devido à diminuição do volume de leite produzido, além de acarretar riscos à saúde pública. Os achados microbiológicos de mastite são fatores muito importantes, uma vez que um dos principais objetivos na pecuária leiteira é diminuir o descarte involuntário e realizá-lo apenas quando necessário, com a finalidade de manter um rebanho de alto potencial produtivo e adicionalmente a estas ações, consegue-se também garantir o bem-estar físico, mental e clínico do rebanho

CONCLUSÃO

As amostras de leite analisadas demonstram a alta prevalência de leite com CCS e baixo índice de mastite clínica. Essa situação aponta a presença da inflamação de forma silenciosa nas propriedades. Quanto ao agente causador isolado nas amostras microbiológicas, o *Staphylococcus* spp. é o principal agente infeccioso envolvido na etiologia da inflamação da glândula mamária nas propriedades leiteiras da região. O *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. caracteriza a mastite de origem ambiental nas propriedades, sendo acarretada também pela contaminação humana e veiculadas por vetores mecânicos.

Com isso, o leite ordenhado na região supracitada é de baixa qualidade, e conseqüentemente o rendimento do produto se torna menor. Além disso, a presença da mastite subclínica demonstra perdas silenciosas nesses quesitos e no nível de produção dos animais manejados.

Em função dos resultados encontrados neste trabalho, bem como da escassez de informações acerca de assuntos correlatos na região, espera-se que essa pesquisa possa contribuir para o norteamo de ações e práticas de disseminação e de fomento das boas práticas agropecuárias na cadeia produtiva do leite, e de outros trabalhos de pesquisa, visando melhorias na produção da região metropolitana de Manaus.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G. B.; SOUZA, B. L.; PICCININ, A. **Avaliação de mastite em gado leiteiro – Revisão de literatura.** IX JORNACITEC – Jornada Científica e Tecnológica da FATEC de Botucatu-SP, p. 1-3, 2020. Disponível em: <<http://www.jornacitec.fatecbt.edu.br/index.php/IXJTC/IXJTC/paper/viewFile/2153/2696>>. Acesso em: 10 de maio de 2021.

ARANTES, K. A. **Classificação de úberes, tetos e lesões no ducto papilar em vacas com aptidão leiteira.** 2014. 49f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, 2014

BELACHEW, T. Review on California Mastitis Test (CMT). **Journal of Veterinary Science & Research**, v. 3, n. 3, p. 2-3, 2018.

BELTRÃO, E. P. **Perfil socioeconômico da bovinocultura mista e qualidade sanitária do leite UHT comercializado no Estado do Amazonas.** 2018. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.

BETTANIN, J.; VIRMOND, M. P.; FRANCISCATO, C.; NETO, A. F. S. Frequência de Isolamentos dos Agentes Etiológicos da Mastite Bovina no Sudoeste Paranaense. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 13, n. 4, p. 440-45, 2019.

CAMPOS, J. A. C.; TULIO, L. M. Utilização dos testes da caneca de fundo preto telada e California Mastitis Test (CMT) para identificação de mastite em fêmeas bovinas. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v. 1, n. 2, p. 124-137, 2018.

COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M. Mastite bovina: controle e prevenção. **Boletim Técnico Universidade Federal de Lavras**, n. 93, p. 1-30, 2012.

DAMASCENO, V. S.; SILVA, F. M.; SANTOS, H. C. A. S. Análise do perfil microbiológico de agentes causadores de mastite bovina e sua relação com a

qualidade do leite em uma fazenda do Sul de Minas Gerais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 91409-91421, 2020.

FERRONATTO, J. A.; FERRONATTO, T. C.; SCHNEIDER, M.; PESSOA, L. F.; BLAGITZ, M. G.; HEINEMANN, M. B.; LIBERA, A. M. M. P. D.; SOUZA, F. N. Diagnosing mastitis in early lactation: use of Somaticell®, California mastitis test and somatic cell count. **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 3, p. 723–729, 2018.

GÁMEZ, H. J.; ARGOTI, C. F. Determinación del efecto probiótico in vitro de *Lactobacillus gasseri* sobre una cepa de *Staphylococcus epidermidis*. **Revista Biosalud**, v. 16, n. 2, p. 53-69, 2017.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2019. Censo Agropecuário. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 05 de maio de 2021.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2020. Censo Agropecuário. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1086#resultado>>. Acesso em: 05 de maio de 2021.

JUNIOR, L. S. S. **Diagnóstico da qualidade higiênico-sanitária de leite cru destinado a um laticínio do Recôncavo da Bahia**. 2018. 52 f. Dissertação (Mestrado em Defesa Agropecuária na Área de Diagnóstico e Vigilância). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas – BA, 2018. Disponível em: <<http://200.128.85.39/handle/prefix/1044>>. Acesso em: 16 de agosto de 2021.

KANDEEL, S. A.; MORIN, D. E.; CALLOWAY, C. D.; CONSTABLE, P. D. Association of California Mastitis Test Scores with Intramammary Infection Status in Lactating Dairy Cows Admitted to a Veterinary Teaching Hospital. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 1, p. 497–505, 2017.

LANGONI, H.; SALINA, A.; OLIVEIRA, G. C.; JUNQUEIRA, N. B.; MENOZZI, B. D.; JOAQUIM, S. F. Considerações sobre o tratamento das mastites. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1261-1269, 2017.

LINK, A.; CATARINA, A. S.; SCHNEIDER, M.; RIZZO, B. AZEVEDO, M. G. B. Uso do California Mastitis Test como indicador de qualidade do leite de vacas. II Simpósio em Saúde e Alimentação da Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Chapecó, 23 a 24 de agosto de 2018. Disponível em: <<https://portaleventos.ufes.edu.br/index.php/SSA/article/view/8351>>. Acesso em: 16 de agosto de 2021.

LOPES, M. A.; DEMEU, F. A.; COSTA, G. M.; ROCHA, C. M. B. M.; ABREU, L. R.; SANTOS, G.; NETO, A. F. Influência da contagem de células somáticas sobre o impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 494-499, 2011.

MARX, D.; FREITAS, V. M. O.; ALVES, J. N.; MERA, C. M. P. Evolução da bacia leiteira do RS com base nos dados dos censos agropecuários 1996/2017. **Revista Interdisciplinar de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 8, n. 1, p. 400-410, 2021.

MELLENERGER, R. California Mastitis Test (CMT) – An Invaluable Tool for Managing Mastitis. **Department of Animal Sciences, Michigan State University**, USA, p. 9, 2001.

MEDEIROS, B. P. **Caracterização ultrassonográfica e histopatológica de lesões de glândulas mamárias de vacas de descarte**. 2017. 68f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

MESQUITA, A. A.; COSTA, G. M.; OLIVEIRA, M. R.; PINTO, S. M.; CARVALHO, J.; COSTA, D. A.; SILVA, D. B. Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in family-owned dairy herds in the state of Minas Gerais, Brazil. **Veterinária Notícias**, v. 25, n. 2, p.186-205, 2019.

MEZZADRI, F. P. **Prognóstico Pecuária de leite – 15 de janeiro de 2020**. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Estado do Paraná. Departamento de Economia Rural (DERAL). Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-01/leite_2020_0.pdf>. Acesso em: 18 de maio de 2021.

MÜLLER, T.; REMPEL, C. Qualidade do leite bovino produzido no Brasil – parâmetros físico-químicos e microbiológicos: uma revisão integrativa. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2021.

MURRAY, P. R.; BARON, E. J. **Manual of clinical microbiology**. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, p. 205, 2007.

OLIVEIRA, G. C.; JOAQUIM, S. F.; JUNQUEIRA, N. B.; SALINA, A.; MENOZZI, B. D.; DELANEZI, F. M.; VASCONCELOS, C. G. C.; LANGONI, H. Perfil microbiológico de *Streptococcus* spp. como agentes causadores de mastites clínicas em diversas regiões do Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 14, n. 3, p. 74-74, 2016.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Editora Sarvier, 2010.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. São Paulo: Editora Artmed, 2004.

PEREIRA, C. G.; PINTO, S. M.; FONSECA, R. L.; CAMARGO, K. O.; REZENDE, C. P. A.; ABREU, L. R. Caracterização físico-química do leite cru comercializado no município de Lavras – MG. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 372, p. 18-25, 2010.

QUINN, P. J. MARKEY B.; CARTER M. E.; CARTER G. R.; DONELLY W. J.; LEONARD F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. São Paulo: Editora Artmed, 2007.

ROMÃ, L. S.; MADUREIRA, E. M. P. Perdas ocasionadas por mastite em uma propriedade leiteira no município de Cascavel/PR. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v. 3, n. 1, p. 167-177, 2020.

SANTOS, A. L. S.; SANTOS, D. O. S.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; Castro, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SENAR. Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Bovinocultura: contenção de bovinos**. Brasília: SENAR, 2017. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/164-CONTENCAO_BOVINOS.pdf> Acesso em: 14 de maio de 2021.

SILVA, L. F.; RABELO, R. E.; QUEIROZ, P. J. B.; PERON, H. J. M. C.; VINHAL, A. P. A. **Nutrição e sanidade de bezerras leiteiras: da concepção ao primeiro cio**. Goiânia: Editora Kelps, 2018.

SIMÕES, T. V. M. D.; OLIVEIRA, A. A.; TEIXEIRA, K. M.; JÚNIOR, A. S. R.; FREITAS, I, M. Identificação laboratorial de *Staphylococcus aureus* em leite bovino. **Documentos Embrapa Tabuleiros Costeiros**, p. 7-11, 2013.

TEIXEIRA, C. M. S.; FIGUEIREDO, M. A. Qualidade microbiológica do leite bovino no Brasil associada a *Staphylococcus aureus*. **Revista Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 6, n. 1, p. 196-216, 2019.

TEIXEIRA, T. H. D.; CASTRO, R. C. D.; PEREIRA, M. D. A. **Eficiência da blitz terapia na erradicação de *Streptococcus agalactiae* em rebanho bovino leiteiro**. XVIII Encontro de Iniciação Científica e III Mostra de Extensão da UninCor, p. 24, 2016.

Disponível em:
<<http://periodicos.unincor.br/index.php/iniciacaocientifica/article/viewFile/4070/3044>>.

Acesso em: 27 de junho de 2021.

TRABULSI, L. B.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2009.

ZURITA, J.; MEJIA, C.; GUZMAN-BLANCO, M. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 2, p. 97-106, 2010.