

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JATAÍ (UFJ)
UNIDADE ACADÊMICA ESPECIAL DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

PAULA SIQUEIRA MARTINS

**Tratamento seletivo e controle da mastite clínica em
bovinos leiteiros baseado em cultura microbiológica a
campo**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
UNIDADE ACADÊMICA ESPECIAL DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFJ

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Jataí (UFJ) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFJ), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data. O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFJ é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

☒ Dissertação ☐ Tese

2. Nome completo do autora: PAULA SIQUEIRA MARTINS

3. Título do trabalho: TRATAMENTO SELETIVO E CONTROLE DE MASTITE CLÍNICA EM BOVINOS LEITEIROS BASEADO EM CULTURA MICROBIOLÓGICA A CAMPO

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento [☐] SIM [☒] NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa.

Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Edgar Alain Collao Saenz, Orientador**, em 02/12/2021, às 18:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **PAULA SIQUEIRA MARTINS, Discente**, em 02/12/2021, às 18:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2544453** e o código CRC **9009FE9D**.

PAULA SIQUEIRA MARTINS

**Tratamento seletivo e controle da mastite clínica em
bovinos leiteiros baseado em cultura microbiológica a
campo**

Dissertação apresentada ao Programa de
Biociência Animal da Universidade Federal de
Jataí, como pré-requisito para obtenção do título
de Mestre em Biociência Animal.

Area de concentração: Saúde e Produção
Animal

Linha de Pesquisa: Biotecnologias Aplicadas à
Biociência e Produção Animal Sustentável

Orientador: Prof. Dr Edgar Alain Collao Saenz

Coorientador: Prof. Dr. Ariel Eurídes Stella

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFJ.

Martins, Paula Siqueira

TRATAMENTO SELETIVO E CONTROLE DA MASTITE
CLÍNICA EM BOVINOS LEITEIROS BASEADO EM CULTURA
MICROBIOLÓGICA A CAMPO / Paula Siqueira Martins. - .
X, 25 f.

Orientador: Prof. Dr. Edgar Alain Collao Saenz; co-orientador Prof.
Ariel Eurides Stella.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Jataí, Unidade
Acadêmica Especial de Ciências Agrárias, Jataí, Programa de
Pós-Graduação em Biociência Animal, Jataí, .

Inclui abreviaturas, gráfico, tabelas.

1. antimicrobianos. 2. E. coli. 3. Klebsiella spp.. I. Saenz,
Edgar Alain Collao, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
UNIDADE ACADÊMICA ESPECIAL DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº **023/2021-PPGBA** da sessão de Defesa de Dissertação de **PAULA SIQUEIRA MARTINS**, que confere o título de Mestra no Programa de Pós-Graduação em **BIOCIÊNCIA ANIMAL**, área de concentração em Saúde e Produção Animal.

Ao vigésimo oitavo dia, do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e um, a partir das 08:30 horas, realizou-se por meio de videoconferência a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada "TRATAMENTO SELETIVO DE MASTITE CLÍNICA EM BOVINOS LEITEIROS BASEADO EM CULTURA MICROBIANA A CAMPO". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor Edgar Alain Collao Saenz (UACIAGRA/UFJ - Universidade Federal de Jataí/GO) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora Cecília Nunes Moreira (UACIAGRA/UFJ - Universidade Federal de Jataí/GO) - membro titular interno e Professora Doutora Vera Lúcia Banyas (UACIAGRA/UFJ - Universidade Federal de Jataí/GO) - membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca **fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora se reuniu em sessão secreta, a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor Edgar Alain Collao Saenz, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, ao vigésimo oitavo dia, do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e um.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

TRATAMENTO SELETIVO E CONTROLE DE MASTITE CLÍNICA EM BOVINOS LEITEIROS
BASEADO EM CULTURA MICROBIOLÓGICA A CAMPO



Documento assinado eletronicamente por **Edgar Alain Collao Saenz, Orientador**, em 28/10/2021, às 10:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cecília Nunes Moreira, Professora do Magistério Superior**, em 28/10/2021, às 10:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vera Lucia Banyas, Professora do Magistério Superior**, em 28/10/2021, às 10:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2409382** e o código CRC **496981B3**.

Referência: Processonº 23070.051704/2021-55
2409382

SEI nº

FOLHA DE MENÇÃO

Os Programas de Pós-Graduação stricto sensu, ora em funcionamento na Universidade Federal de Jataí (UFJ), em virtude de procedimentos técnicos relacionados à CAPES, continuam provisoriamente vinculados à Universidade Federal de Goiás (UFG), no entanto, todos os elementos pré-textuais do trabalho apresentado estão identificados como Universidade Federal de Jataí, em função da migração da BDTD ter ocorrido a partir de 16 de agosto de 2021, e pelo fato das pesquisas e produções estarem sendo realizadas na UFJ.

SUMÁRIO

<u>RESUMO</u>	1
<u>ABSTRACT</u>	2
<u>1.INTRODUÇÃO</u>	3
<u>2.REFERENCIAL TEÓRICO</u>	4
<u>2.1. Definição de mastite e seu impacto na produção e qualidade do leite</u>	4
<u>2.2 Classificação de mastite e formas de contaminação</u>	4
<u>2.3 Antimicrobianos e presença de resíduos</u>	5
<u>2.4 Cultura microbiológica realizada a campo</u>	5
<u>3. MATERIAL E MÉTODOS</u>	8
<u>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	13
<u>5. CONCLUSÕES</u>	20
<u>6. REFERÊNCIAS</u>	21

LISTA DE ABREVIATURAS

MC	Mastite clínica
MS	Mastite subclínica
CCS	Contagem de células somáticas
SCN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo
SCF	Sistema de cultura na fazenda
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

TRATAMENTO SELETIVO E CONTROLE DA MASTITE CLÍNICA EM BOVINOS LEITEIROS BASEADO EM CULTURA MICROBIOLÓGICA A CAMPO

MARTINS, P.S.¹, STELLA, A.E.¹, SAENZ, E.A.C.¹

¹ *Programa de Pós Graduação em Biociência Animal. Departamento de Pós Graduação em Biociência animal, Universidade Federal de Jataí, Rodovia BR 364, Km 192, caixa postal 03, CEP 75801-615 Jataí – GO*

RESUMO

A mastite é considerada a doença de maior custo e frequência nas fazendas de gado leiteiro. Entre as perdas relacionadas a doença estão o descarte do leite, gastos com tratamento, redução da produção, diminuição da vida produtiva do animal, mudanças físicas e químicas no leite que influenciam diretamente a cadeia agroindustrial. O objetivo deste estudo foi investigar a eficácia da utilização de um sistema de cultura microbiológica a campo através do leite de animais com mastite clínica em duas propriedades no Sudoeste Goiano, orientando as decisões estratégicas de tratamento, visando a redução do custo e risco potencial de desenvolvimento de resistência a antimicrobianos em patógenos causadores da mastite. A avaliação dos resultados foi baseada em comparações com resultados anteriores das duas propriedades, onde o tratamento antimicrobianos ocorria em 100% de animais acometidos pela doença. Conclui-se a eficácia do sistema na identificação de patógenos causadores de MC e redução da terapia antimicrobiana em 34% na Fazenda 1 e 52% na Fazenda 2, sem casos de mortalidade e prejuízos econômicos, além de facilitar a elaboração protocolos de tratamento de acordo identificação de agentes envolvidos e selecionar possíveis animais para descarte.

Palavras chave: antimicrobianos, *E. coli*, *Klebsiella spp.*

ABSTRACT

Mastitis is considered the most costly and frequent disease on dairy farms. Among the losses related to the disease are the disposal of milk, treatment expenses, reduction in production, reduction in the productive life of the animal, physical and chemical changes in the milk that directly influence the agro-industrial chain. The aim of this study was to investigate the effectiveness of using a microbiological field culture system through the milk of animals with clinical mastitis in two farms in Southwest Goiás, guiding strategic treatment decisions, aiming to reduce the cost and potential risk of development of antimicrobial resistance in pathogens causing mastitis. The evaluation of the results was based on comparisons with previous results of the two properties, where the treatment occurred in 100% of animals affected by the disease. It is concluded that the system is effective in identifying pathogens causing CM and reducing antimicrobial therapy by 34% on Farm 1 and 52% on Farm 2, without cases of mortality and economic losses, in addition to facilitating the development of treatment protocols according to the identification of agents involved and to select possible animals for disposal.

Keywords: antimicrobial, *E. coli*, *Klebsiella spp.*

1 INTRODUÇÃO

A mastite é uma inflamação da glândula mamária, que pode vir ou não acompanhada de uma infecção. É considerada uma das doenças mais prevalentes e onerosas em rebanhos leiteiros e embora a maioria dos casos tenham envolvimento bacteriano, sua etiologia pode variar, dificultando o controle e profilaxia da doença, em casos graves, pode levar os animais a óbito e aumentar o índice de descarte prematuro de animais do rebanho (RUEGG, 2018).

As perdas econômicas incrementam-se pelo uso de antimicrobianos, além dos gastos com a sua utilização, o uso intensivo pode desenvolver surgimento de bactérias resistentes e consequente não responsividade dos animais aos tratamentos (ACOSTA et al., 2016; HOSSAIN et al., 2017).

Visando a redução de custos e consequências negativas com o tratamento de mastite, LAGO et al. (2011a) propuseram um sistema estratégico de identificação a campo do agente causador, baseando-se no uso de culturas microbiológicas diretamente nas propriedades rurais aonde é feita a identificação de fêmeas doentes através dos sinais clínicos. O leite desses animais é analisado em pequenos laboratórios equipados com estufa (LAGO et al., 2011b), assim só será realizado o tratamento nos casos necessários e com medicamento específico de acordo com cada agente etiológico e considerando que a cura pode estar diretamente relacionada ao sistema imunológico do animal (LAGO et al. 2011a) .

Além da redução do uso dos medicamentos, os autores observaram que os sintomas clínicos na maioria dos animais não evoluíam rapidamente. Logo, o tempo de espera, de aproximadamente 24 horas, para que se obtenha o resultado do exame não acarreta perdas significativas e reduz os custos com medicamentos (LAGO et al., 2011b).

Objetivou-se, no presente estudo, avaliar a viabilidade de um sistema de cultura microbiológica a campo em vacas com sinais clínicos de

mastite, para tentar reduzir o uso de antimicrobianos e, direcionar o tratamento baseado no crescimento e na identificação dos patógenos pela cultura microbiológica '*on farm*'.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Definição de mastite e seu impacto na produção e qualidade do leite

A mastite é uma doença de múltipla etiologia, definida pela inflamação da glândula mamária, pode ser caracterizada por alterações patológicas no tecido glandular do úbere e alterações físico-químicas no leite (ULSENHEIMER et al., 2021).

Sua importância em termos econômicos, seu tratamento e prevenção são amplamente relatados como a razão mais comum para o uso de medicamentos antimicrobianos em fazendas leiteiras (BRADLEY et al., 2017), afeta a lucratividade dos produtores e leva a perdas na produção do setor de laticínios em todo o mundo (DAS et al., 2018), tendo efeito negativo na composição do leite, bem como em seu valor nutricional (KALINSKA et al., 2017).

2.2 Classificação da mastite e formas de contaminação

A mastite pode ser considerada clínica (MC) quando manifesta alterações visíveis no leite acompanhadas ou não de sinais sistêmicos ou inflamatórios na glândula mamária (GASPAROTTO et al., 2016). A mastite subclínica (MS) é caracterizada pela ausência de sinais clínicos, porém resulta em efeitos prejudiciais como redução da produção e qualidade do leite (BUSANELO et al., 2016).

Os microrganismos causadores da mastite são classicamente divididos em espécies contagiosas, quando causada por microrganismos presentes na glândula mamária, ocorrendo a transmissão para outros animais ou entre quartos infectados durante a ordenha, seja a partir da mão do ordenhador, toalhas de uso múltiplo ou pelas teteiras; ou ambientais quando o perfil de transmissão é caracterizado por agentes considerados oportunistas, que são encontrados no ambiente, como no esterco, cama, solo e água (SERPA, 2020).

Mastites contagiosas são associadas com redução da produção e aumento na CCS do leite de tanque. Como a transmissão de vaca para vaca é a fonte primária de

novas infecções intramamárias, práticas de manejo como desinfecção dos tetos pós ordenha, segregação de vacas, tratamento durante a lactação e protocolos de secagem e descarte de vacas infectadas fazem parte de programas de prevenção contra mastite contagiosa (TOMAZI E SANTOS, 2012).

Por outro lado, as mastites ambientais são transitórias, sendo comum em propriedades com baixa CCS do leite de tanque e ocorrência relevante de coliformes. A manutenção do ambiente seco e limpo e a estimulação da resposta imune das vacas são as principais práticas de manejo adotadas em programas de prevenção deste tipo de mastite (SANTOS E FONSECA, 2019).

2.3 Antimicrobianos e presença de resíduos

Os protocolos terapêuticos devem ser usados sob supervisão do médico veterinário, porém os antimicrobianos utilizados em animais de produção podem ser adquiridos legalmente no Brasil sem prescrição médica, facilitando ainda mais o uso excessivo e imprudente em rebanhos leiteiros (TOMAZI E SANTOS, 2020).

Os antimicrobianos necessitam tempo de ação prolongado, concentração suficiente para eliminar os agentes e prevenir novas infecções e apresentar boa difusão do tecido na glândula mamária. No entanto sua utilização de forma não prudente para tratamento de doenças tanto em humanos como em animais pode ser um fator contribuinte associado ao surgimento de resistência antimicrobiana. (VAN BOECKEL ET AL., 2017). Da mesma maneira, a presença de resíduos no leite ocasiona problemas irreversíveis como seleção de cepas bacterianas resistentes no ambiente e aumento gradativo das dosagens de antibióticos utilizadas na terapia de animais doentes possibilitando a seleção de bactérias resistentes (SANTOS E BARCELOS, 2018).

Devido a busca por um produto de maior qualidade e segurança, tanto para a indústria quanto para o consumidor, foram criadas e implantadas as Instruções Normativas 76 e 77 que regulamentam procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru, além de identidade e características que o leite deve apresentar (BRASIL, 2018a; BRASIL, 2018b).

2.4 Cultura microbiológica realizada a campo

Considerando a complexa etiologia da doença, dificuldade do diagnóstico de cada caso e da resistência microbiana, a instauração de um tratamento satisfatório fica limitado. Com o objetivo de facilitar a tomada de decisão no tratamento da MC surge a proposta de utilizar a terapia seletiva, sendo necessária a utilização de técnicas de diagnósticos como a cultura microbiológica, histórico de CCS individual e histórico de ocorrência de mastite durante a lactação (SANTOS E BARCELOS, 2018; SANTOS E FONSECA, 2019).

Estudos têm demonstrado que os resultados obtidos são precisos, indicando o agente causador da doença, reduzindo custos, facilitando o manejo dos animais e também diminuindo o tempo de descarte do leite, visto que o animal quando tratado, o é de forma efetiva e com antibioticoterapia adequada (SANTOS E FONSECA, 2019).

LAGO et al., 2011a, afirmam que o uso de uma cultura na fazenda para orientar o tratamento estratégico de mastite reduziu o uso de antibióticos intramamários pela metade. Isso ocorreu devido a diminuição do tempo de retenção ou descarte do leite pela ação residual dos antimicrobianos, sem que fossem observadas diferenças significativas para a cura clínica em vacas com quadros clínicos leves e moderados de mastite.

Atualmente existe uma grande preocupação da sociedade com o bem-estar animal e com o uso em larga escala de medicamentos como antibióticos e afins (CARDOSO et al., 2015). Dessa forma, visando a sustentabilidade da pecuária leiteira, práticas modernas que reduzam o uso indiscriminado de antibióticos se fazem necessárias.

Com a cultura microbiana realizada a campo, apenas os casos mais graves e que produzem uma cultura gram-positiva ou mista são tratados com medicamentos antimicrobianos, resultando em muitos casos de mastite clínica sem tratamento (LAGO et al., 2011a)

Deve haver um aumento no esforço diagnóstico para que o uso desnecessário de antimicrobianos possa ser evitado (KROMKER e LEIMBACH, 2017) e, o uso prudente deve ser exercido tendo em vista não só a redução dos custos, como também benefícios potenciais relacionados a resistência antimicrobiana (DOERING e SUNDRUM, 2019).

Segundo GANDA et al., 2016, a utilização da placa de cultura microbiana comparada ao tratamento sem cultivo de bactérias, resultou em uma redução na utilização de antibióticos em 30 %, aumento da taxa de cura de 5,7 % em 21 dias e aumento da taxa de sobrevivência dos animais em 12,1% aos 60 dias, viabilizando sua utilização na tomada de decisão quanto ao tratamento seletivo baseado em antibióticos.

Nesse contexto, estão em evidência os programas que visam a rápida identificação etiológica dos agentes causadores de MC, facilitando o tratamento seletivo dos casos que realmente se beneficiem com o uso de antimicrobianos. O sistema de cultura na fazenda apresenta potencial expressivo de redução no uso de medicamentos, resultando em benefícios tanto para os produtores quanto para os animais (LAGO et al., 2011a, 2011b, VASQUEZ et al., 2017).

3. Material e Métodos

O estudo foi realizado com dados coletados entre 2018 e 2021 em duas propriedades rurais na região Sudeste do Estado de Goiás. Embora a análise tenha utilizado dados coletados durante a ordenha e dentro da rotina diária das fazendas, foi solicitada a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal de Jataí - UFJ, sob o nº 019/20.

As propriedades foram identificadas como Fazenda 1, localizada no Município de Castelândia com vacas confinadas em sistema de tipo *Free Stall* (animais utilizando cama individual com corredores e acesso a pista de trato, com clima e alimentação controladas), onde foram analisadas casos clínicos de 651 vacas correspondente a 3,70% dos animais ordenhados; e Fazenda 2, no Município de Quirinópolis, onde foram avaliados casos clínicos de 479 vacas, correspondente a 3,70% de animais ordenhados, confinadas em sistema de *Compost Barn* (animais permanecem em galpão com ventilação e alimentação controladas).

Ambas as propriedades possuem animais da raça Hostein, com média de lactação superior a 32 kg de leite/vaca/dia em ordenha automatizada e dieta composta por silagem de milho e pré secado de *Cynodon dactylon* e *Panicum maximum* produzidos nas referidas propriedades. A mistura total é preparada nas fazendas, com a utilização de ingredientes e insumos fornecidos por empresas registradas no MAPA.

Foram selecionados animais em lactação que apresentaram sinais clínicos de mastite como alterações de coloração e consistência e presença de flocos, coágulos ou grumos em teste de caneca telada. Da mesma maneira, foram amostrados animais com inchaço, vermelhidão e sensibilidade da glândula mamária. A amostragem foi realizada assepticamente por funcionário da propriedade, devidamente treinado e capacitado para essa função, com colheitas dos quartos mamários afetados. O procedimento foi realizado na sala de ordenha, evitando estresse dos animais, após a higienização e desinfecção dos tetos utilizando álcool 70% e papel toalha. Os três jatos iniciais de leite foram descartados. O material amostrado, considerando quartos mamários individuais, foi acondicionado em frascos plásticos estéreis e encaminhado imediatamente ao laboratório na própria propriedade para a realização da semeadura.

Para a cultura microbiológica utilizou-se a placa cromogênica AccuMast® (FERA, Diagnostics and Biologicals, EUA) que apresenta três seções distintas (triplaca), contendo em cada uma ágar específico seletivo. Cada seção identifica um grupo de microrganismo, sendo: Seção 1, apenas crescimento de bactérias gram

negativas (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*) e *Pseudomonas*; seção 2: crescimento de *Streptococcus sp.* (*S. agalactiae/dysgalactiae*, *S. uberis*, *Lactococcus spp.*) e *Enterococcus spp* e seção 3 com crescimento apenas de *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. coagulase negativa*; GANDA et al., 2016).

A inoculação das placas foi realizada através da imersão de swab estéril na amostra homogeneizada, por 2 a 5 segundos, aplicação em forma de zigue-zague em cada uma das seções, seguida de incubação aeróbica em estufa de cultura bacteriológica SolidSteel® com temperatura controlada a 37° C pelo período de 18 a 24 horas. Todo o manuseio, desde a colheita do material até a leitura e descarte das placas, foi realizado com a utilização de equipamentos de proteção individual, como jalecos, luvas, óculos de proteção e máscara.

A leitura das placas foi realizada após o período de incubação e a interpretação realizada por meio de alterações da coloração em casos de crescimento de patógenos no meio de cultura (Figura 1), utilizando a metodologia proposta pelo fabricante. Conforme preconizado pelo MAPA, as placas utilizadas são monitoradas e encaminhadas para a autoclave, sendo descartadas após esse procedimento em lixo seletivo, evitando riscos biológicos e contaminações através de exposição direta.



Figura 1: Imagem da placa de cultura Accumast® e tabela de leitura para diagnósticos 'on farm'. Fonte: <https://lojainnovatescience.com.br/products/placa-accumast>

Visando facilitar o manejo dos animais enfermos e direcionar a equipe, foi adotado nas propriedades sistema de classificação quanto a gravidade e evolução dos sintomas da MC (Tabela 1) e protocolo de direcionamento e tratamento conforme os agentes causadores da doença (Tabela 2).

Tabela 1: Classificação dos graus de mastite clínica e metodologia para tratamento seletivo e manejo dos animais em casos de piora clínica.

Classificação	Metodologia
Grau 1 - leve	- Coletar leite para a cultura em placas
Presença de grumos no leite, leite ralo e com coloração alterada	- Marcar o animal com bastão amarelo - Após leitura da placa proceder conforme identificação do agente
Grau 2 - moderada	- Coletar leite para a cultura em placas
Inchaço, sensibilidade ao toque, sinais de inflamação	- Administrar AINE - Meloxicam - Marcar o animal com bastão amarelo - Após leitura proceder conforme identificação do agente <i>Obs. Em caso de piora clínica após a amostragem para Grau 3, utilizar protocolo D</i>
Grau 3 - grave	- Coletar leite para a cultura em placas
Febre, apatia, visivelmente doente	- Marcar o animal com bastão amarelo - Tratar imediatamente utilizando o Protocolo D

Tabela 2: Protocolo de tratamento de MC considerando sintomas clínicos e patógenos identificados pela cultura microbiológica realizada na fazenda.

Protocolo	Agente Etiológico	Tratamento
A	<i>Aerococcus viridans</i> <i>Enterococcus spp</i> <i>Lactococcus spp</i> <i>Staphylococcus coagulase negativo (SCN)</i> <i>Staphylococcus haemolyticus</i> <i>Streptococcus agalactie</i> <i>Streptococcus bovis</i> <i>Streptococcus dysgalactie</i>	Hidriodeto de penetamato 5g ¹ - dose única - intramuscular Cloridrato de Ceftiofur 125 mg ² - 3 dias - intramamário
B	<i>Klebsiela spp</i> <i>Pseudomonas spp</i> <i>Streptococcus</i>	Hidriodeto de penetamato ¹ - 3 dias - intramuscular Cloridrato de Ceftiofur 125 mg ² - 6 dias (MC) - intramamário
C	<i>Enterobacter spp</i> <i>Escherichia coli</i>	 Meloxicam ³ 2% - 3 dias - intramuscular
D	Independente do agente causador - Mastite Grau 3	Cloridrato de Ceftiofur ⁴ 10 g - dose única - intramuscular

		Flunixin meglumine ³ 5% – 3 dias - intramuscular Fluidoterapia – Ringer com Lactato + vitaminas - intravenoso Drench por 3 dias - oral
E	<i>Levedura spp</i> <i>Prototheca spp</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Notificar o Médico Veterinário

¹- Ester de benzilpenicilina
²- Cefalosporina de terceira geração

Todos os animais foram acompanhados até o término dos sintomas, observando sinais de outras possíveis desordens metabólicas, queda de consumo, febre, apatia, ataxia, retenção de placenta, ou qualquer outra desordem em relação ao desempenho e a saúde.

Para a análise dos dados, foi utilizado o software estatístico SPSS 20.0 (IBM®) que inclui estatística descritiva como tabulação e frequências de crossover e comparação de médias de duas variáveis através do teste T.

3. Resultados e discussão

Conforme dados coletados, antes da implantação do sistema de cultura microbiana, foram ordenhados 5771 animais em um período de 14 meses na Fazenda 1 e 3097 animais em 10 meses na Fazenda 2, observando-se sintomas de MC em 5,87% (339) e 11,1% (345), respectivamente. Todos os animais que apresentaram sintomas de MC durante esse período foram tratados com antimicrobianos, independente da gravidade do caso.

A mastite é uma doença causada por um grupo diversificado de patógenos bacterianos com distribuições diferentes entre as fazendas. Em rebanhos manejados intensivamente muitos casos de MC são negativos para cultura quando detectados ou

são causados por patógenos com altas taxas de cura espontânea, sendo, portanto, desnecessário a maioria dos tratamentos com antimicrobianos o que incentiva os produtores a adotarem protocolos de tratamento baseado em cultura limitando o uso de tais medicamentos a casos que realmente se beneficiarão (RUEGG, 2018).

Após a implantação da cultura microbiana “*on farm*”, em um período de 24 meses foram ordenhados 11812 animais na fazenda 1 e 9831 animais na fazenda 2, destes 2,64% (312) e 1,36% (134) apresentaram sintomas de MC. Os casos de MC foram classificados conforme a gravidade da doença (Tabela 1), sendo 57% considerados grau 1, 18% grau 2 e 25% grau 3 – Fazenda 1 e 37% grau 1, 53% grau 2 e 10% grau 3 – Fazenda 2. Todos os animais com sintomas clínicos foram encaminhados para amostragem e cultura e o tratamento foi recomendado de acordo com a gravidade da doença e/ou crescimento ou não de patógenos isolados através da cultura (Tabela 2).

Em um total de 551 amostras coletadas na Fazenda 1, foram identificados crescimento de patógenos em 73% das amostras, sendo 54,2% bactérias gram positivas, 45,5% bactérias gram negativas e 0,2% algas, manteve-se uma média de 66,4% de animais com CCS inferior a 200×10^3 cel/mL de leite. Na Fazenda 2, em 334 amostras, houve crescimento de patógenos em 66%, sendo 61,7% bactérias gram positivas, 36,9% bactérias gram negativas e 1,4% algas, com uma média de 72% de CCS abaixo de 200×10^3 cel/mL de leite. As amostras sem nenhum crescimento bacteriano aeróbio nas primeiras 24 horas de incubação foram consideradas negativas, e quando mais de um patógeno foi detectado em um padrão de crescimento bem distribuído, as amostras foram consideradas mistas.

Foram identificadas através da cultura microbiológica na Fazenda 1 54,4% de bactérias gram positivas, 45,5% de gram negativas e 0,2 % de algas. Dentre as bactérias gram positivas destacou-se a presença de *S. dysgalactie* (15,4%), *S. uberis* (9,5%), *S. agalactie* (8,5%), *S. haemolyticus* (7,5%), *S. coagulase negativo* (6,2%), *S. aureus* (4,2%), *Enterococcus spp.* (1,2%), *Lactococcus spp.* (2,1%) e *Aerococcus viridans* (1%). Dentre as bactérias gram negativas houve incidência de *Klebsiella spp.* (28,4%), *E.coli* (13,2%), *Pseudomonas spp.* (2,2%) e *Enterobacter spp.* (1,7%); e algas 0,2% de *Prototheca spp.*, conforme Tabela 3.

Tabela 3: Percentual de patógenos isolados através da cultura microbiológica em um período de 24 meses na Fazenda 1.

Gram Positivos	%
<i>S. dysgalactie</i>	15,4
<i>S. uberis</i>	9,50
<i>S. agalactie</i>	8,50
<i>S. haemolyticus</i>	7,50
<i>S. coagulase negativo</i>	6,20
<i>S. aureus</i>	4,20
<i>Lactococcus spp.</i>	2,10
<i>Enterococcus spp.</i>	1,20
<i>Aerococcus viridans</i>	1,00
Gram Negativos	
<i>Klebsiella spp.</i>	28,4
<i>E.coli</i>	13,2
<i>Pseudomonas spp.</i>	2,20
<i>Enterobacter spp.</i>	1,70
Algas	
<i>Prototheca spp.</i>	0,20

Na Fazenda 2 foram identificadas 61,9% de bactérias gram positivas, 36,9% de gram negativas e 1,4 % de algas. Dentre as bactérias gram positivas destacou-se a presença de *S. dysgalactie* (18%), *S. coagulase negativo* (14,9%), *S. haemolyticus* (12,6%), *S. agalactie* (5,4%), *Enterococcus spp.* (3,2%), *S. aureus* (2,7%), *Aerococcus viridans* (2,3%), *S. uberis* (1,4%) e *Lactococcus spp.* (1,4%). E dentre as bactérias gram negativas houve incidência de *E.coli* (27%), *Pseudomonas spp.* (6,3%) e *Klebsiella spp.* (3,6%), e, algas 1,4% de *Prototheca spp.*, conforme Tabela 4.

Tabela 4: Percentual de patógenos isolados através da cultura microbiológica em um período de 24 meses na Fazenda 2.

Gram Positivos	%
<i>S. dysgalactie</i>	18,0
<i>S. coagulase negativo</i>	14,9
<i>S. haemolyticus</i>	12,6
<i>S. agalactie</i>	5,40
<i>Enterococcus spp.</i>	3,20
<i>S. aureus</i>	2,70
<i>Aerococcus viridans</i>	2,30
<i>S. uberis</i>	1,40
<i>Lactococcus spp.</i>	1,40
Gram Negativos	
<i>E.coli</i>	27,0
<i>Pseudomonas spp.</i>	6,30
<i>Klebsiella spp.</i>	3,60
Algas	
<i>Prototheca spp</i>	1,40

Houve redução de recidivas de 11% para 5% na Fazenda 1 (Figura 2) e de 24% para 6% na Fazenda 2 (Figura 3). Casos clínicos recorrentes reduz a produção total da vaca e aumenta os custos do tratamento, além de aumentar o risco de morte e descarte prematuro de animais, que podem ser causados tanto por novas infecções, quanto por infecções persistentes do tratamento anterior, indicando portanto a importância da identificação precoce dos agentes causadores da doença e do direcionamento do tratamento , além da adoção de medidas preventivas eficazes (WENTE et al., 2019).

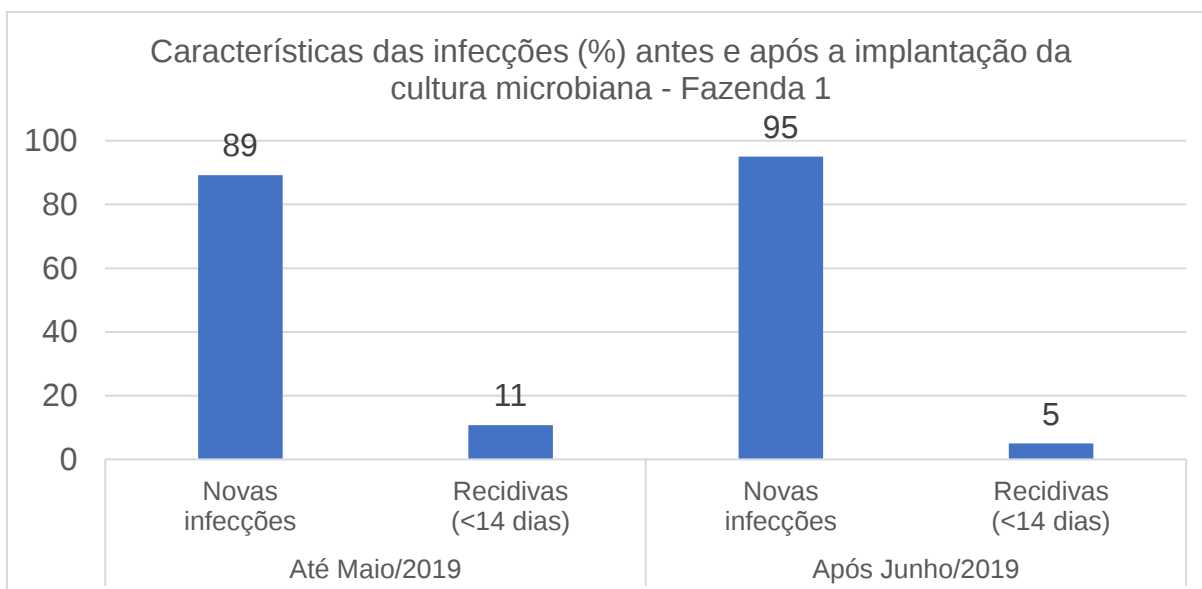


Figura 2: Incidência (%) de novas infecções e recidivas (<14 dias) de abril de 2018 a maio de 2021 – Fazenda 1

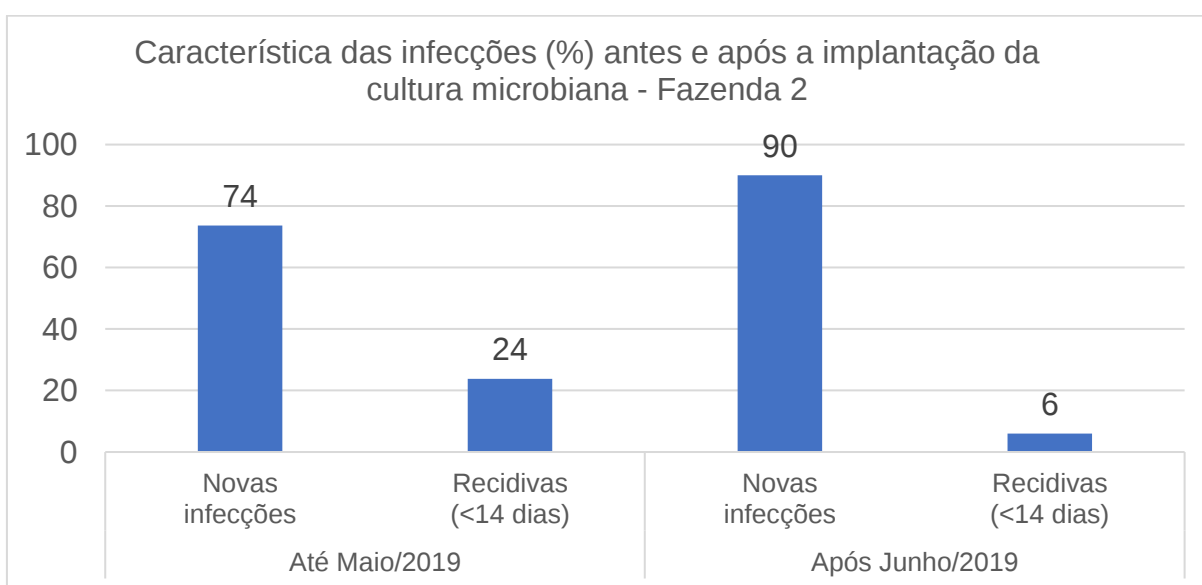


Figura 3: Incidência (%) de novas infecções e recidivas (<14 dias) de julho de 2018 a maio de 2021 – Fazenda 2

As taxas de infecção podem elevar e estar correlacionadas ao ambiente, principalmente em sistemas do tipo Free Stall, onde as vacas permanecem deitadas um período maior, cerca de 12 a 14 h por dia e seu tetos permanecem em contato direto com a cama ou outros materiais. (ZDANOWICZ et al., 2004).

As camas de origem orgânica (como a serragem e a maravalha) usadas no sistema *Compost Barn* permitem maior velocidade de multiplicação de microrganismos do que as camas inorgânicas (areia), pois há a disponibilidade de

substratos para as bactérias presentes no material orgânico (ECKELKAMP et al., 2016).

O uso de protocolos de tratamento seletivo baseado em cultura pode reduzir o uso de antimicrobianos para os casos de cultura gram negativas ou quando não ocorre crescimento de agentes na cultura microbiológica (LAGO et al., 2011a, VASQUEZ et al., 2017, FUENZALIDA e RUEGG, 2019).

Os tratamentos foram prescritos após a identificação do agente envolvido baseado no protocolo desenvolvido (Tabela 2), considerando o histórico dos animais e das propriedades em estudo. Infecções por *E. coli* ou *Enterobacter spp.*, Grau 1 não foram tratadas com antimicrobianos, considerando que são patógenos menos adaptados a sobrevivência no úbere e desencadeiam resposta imune satisfatória ocorrendo a cura espontânea (Ribeiro, 2008) e em casos e piora clínica para Grau 2 receberam suporte terapêutico com AINE por 3 dias. O uso de meloxicam ou flunixin meglumine tem se mostrado benéfico para o alívio da dor e redução dos sinais clínicos de inflamação com resposta satisfatória e aumento do bem estar animal (BANTING et al, 2008).

A mastite causada por bactérias coliformes, como *E. Coli* apresenta incidência maior do que a causada por *Klebsiella spp.*, porém não requer a administração local de antimicrobianos de forma imediata em casos leves, pois são observadas taxas de auto cura significativa, podendo chegar a 98% independente da utilização de antibióticos por 2 ou 8 dias (FUENZALIDA e RUEGG, 2019). Sendo assim as taxas de cura e sobrevivência não aumentam significativamente com o tratamento com antimicrobianos, a menos que sinais sistêmicos de doença clínica sejam detectados (KROMKER e LEIMBACH, 2017).

MC causada por *Klebsiella spp.* apresenta queda de produção leiteira significativa devendo ser tratada imediatamente para evitar contaminação de outros animais no rebanho e piora clínica, reduzindo prejuízos econômicos como perda de qualidade do leite e descarte prematuro de animais (FUENZALIDA e RUEGG, 2019). Infecções por *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Streptococcus uberis* seguiram o mesmo protocolo de tratamento, quando classificadas em Grau 1 e o tratamento preconizado foi o hidriodeto de penetamato 5 g intramuscular por 3 dias consecutivos

associados ao cloridrato de ceftiofur 125 mg intramamário, por 3 dias, sendo esse prazo estendido para 6 dias quando a infecção foi classificada como de Grau 2.

Bag et al. (2021), observaram, em seu trabalho que, grande parte da *E. coli* isolada foi multirresistente, o que pode estar associado ao uso excessivo de antimicrobianos utilizados no controle da mastite, indicando risco potencial de transferência ao homem, animais e natureza através da contaminação do leite e seus derivados.

Agentes gram positivos como: *Aerococcus viridans*, *Enterococcus spp.*, *Lactococcus spp.*, *SCN*, *S. haemolyticus spp.*, *S. agalactiae spp.*, *S. bovis spp.* e *S. dysgalactiae spp.* foram tratados com hidroiodeto de pentamato 5 g em dose única e ceftiofur intramamário por 3 dias.

Patógenos invasivos como *S. aureus*, *Prototheca spp.* e *Levedura spp.* são avaliados individualmente e o tratamento instituído é avaliado de acordo com aspectos inerentes a produção, reincidências de infecções e idade produtiva dos animais. LANGONI et al. (2017) ressaltam que do ponto de vista do manejo dos animais, considerando a alta contagiosidade, persistência no rebanho e custo-benefício em relação ao tratamento tem-se priorizado o descarte do animal como forma de controle. DOS ANJOS et al. (2019) e ALVES et al. (2017) ressaltam a escassez de protocolos terapêuticos eficazes em casos de infecção por *Prototheca spp.* também indicando o descarte de animais acometidos.

Animais que apresentaram MC Grau 3 receberam tratamento logo após a colheita das amostras, sendo prescrito ceftiofur em dose única, AINE (flunixin meglumine) por 3 dias, fluidoterapia IV com soro ringer lactato e drench por 3 dias (Banting et al, 2008).

Se a decisão de tratamento dos casos de MC for baseada na identificação precoce de agentes causadores, pode-se diminuir o uso de antimicrobianos, reduzindo, conseqüentemente, de forma significativa o custo de produção. Após a realização da cultura 'on farm', houve uma redução nos tratamentos com antimicrobianos em 34% na Fazenda 1e 52% na Fazenda 2.

O custo médio do tratamento com antimicrobianos antes da implantação da cultura microbiológica nas duas propriedades era de US\$ 105,31/animal, o protocolo adotado consistia em administração de antimicrobiano intramamário durante 3 dias (Ampicilina sódica 75 mg associada a Cloxacilina sódica 200 mg), 100% dos animais doentes eram tratados e o leite descartado durante o tratamento (mínimo de 3 dias) e durante o período residual (72 h após a administração da última dose), sendo contabilizado considerando a produção média dos animais da propriedade e o valor pago ao produtor a US\$ 0,42, tendo como base a cotação regional, resultando no custo final de US\$ 184,08/animal com MC.

Considerando o custo de aquisição da placa de cultura em US\$ 2,68/amostra), constatou-se uma redução significativa no custo geral das propriedades gerando uma economia mensal de US\$ 1579,12 na Fazenda 1 e US\$ 534,44 na Fazenda 2.

Portanto técnicas de diagnóstico e medidas de tratamentos devem ser desenvolvidas lado a lado para que o diagnóstico precoce em nível de fazenda possa ser feito com precisão e eficácia, permitindo uma terapia específica contra o microrganismo diagnosticado, facilitando o controle e manejo da propriedade (SHARUN et al., 2021).

4. CONCLUSÕES

A utilização de ferramentas '*on farm*' de identificação microbiana permitiu o reconhecimento dos patógenos causadores de MC de forma eficaz e favorece a tomada de decisão quanto a utilização ou não de tratamento e tratamento específico. A análise de custos demonstrou que a técnica é economicamente viável permitindo a identificação e direcionamento da terapia antimicrobiana em casos necessários, melhorando a qualidade do leite, reduzindo a utilização de antibióticos eliminando a mortalidade e outros prejuízos à saúde dos animais avaliados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, A.C.; SILVA, L.B.G.; MEDEIROS, E.S.; JUNIOR, J.W.P.; MOTA, R.A. Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, p.565-573, 2016.

ALVES, A.; CAPRA, E.; MORANDI, S.; CREMONESI, P.; PANTOJA, J.; LANGONI, H. VARGAS; A. COSTA; JAGIELSKI, T. In vitro algicidal effect of guanidine on *Prototheca zopfii* genotype 2 strains isolated from clinical and subclinical bovine mastitis. **Letters in Applied Microbiology**, v.64, p.419-423, 2017.

BAG, A.S.; KHAN, S.R.; SAMI, D.H.; BEGUM, F.; ISLAM, S.; RAHMAN, M.; RAHMAN, T.; HASSAN, J. Virulence determinants and antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from bovine clinical mastitis in some selected dairy farms of Bangladesh. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2021. DOI:10.1016/j.sjbs.2021.06.099

BANTING, A.; BANTING, S.; HEINONEN, K.; MUSTONEN, K.; Efficacy of oral and parenteral ketoprofen in lactating cows with endotoxin-induced acute mastitis. **The Veterinary Record**, v.163, n.(17), p.506– 509, 2008.

BRADLEY, A.J.; DOWNA, P.M.; BREENA, M.E; GREENA, M.J. Factors affecting the cost-effectiveness of on-farm culture prior to the treatment of clinical mastitis in dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v.145, p.91-99, 2017.

BRASIL. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018a. Ficam aprovados os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília, Seção 1, p. 9, 2018.

BRASIL. Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018b. Ficam estabelecidos os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos

registrados no serviço de inspeção oficial. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília, Seção 1, p. 10, 2018.

BUSANELLO, M.; ROSSI, R.S.; CASSOLI, L.D.; PANJOTA, J.C.F.; MACHADO, P.F. Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.6545-6553, 2016.

CARDOZO, L. L.; NETO, A.T.; SOUZA, G. N.; PICININ, L. C. A.; FELIPUS, R. N. C.; SCHIMIDT, F. A.; WERNCKE, D.; SIMON, E. E. Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in southern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.7675–7685, 2015.

CORTINHAS, C.S.; TOMAZI, T.; ZONI, M.S.F. Randomized clinical trial comparing ceftiofur hydrochloride with a positive control protocol for intramammary treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1-10, 2016.

DAS, D.; PANDA, S.K.; JENA, B.; SAHOO, A.K. Economic impact of subclinical and clinical mastitis in Odisha, India. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v. 7, p. 3651–3654, 2018.

DOEHRING, C.; SUNDRUM, A. The informative value of an overview on antibiotic consumption, treatment efficacy and cost of clinical mastitis at farm level. **Preventive Veterinary Medicine's**. v.165, p.63–70. 2019.

DOS ANJOS, C.; SELLERA, F.P.; GARGANO, R.G.; LINCOPAN, N.; POGLIANI, F.C.; RIBEIRO, M.G.; JAGIELSKI, T.; SABINO, C.P. Algicidal effect of blue light on pathogenic **Prototheca** species. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**. v.26 p.210–213, 2019.

ECKELKAMP, E. A.; J.L. TARABA; K.A. AKERS; R.J. HARMON; J.M. BEWLEY. Sand bedded freestall and compost bedded pack effects on cow hygiene, locomotion, and mastitis indicators. **Livestock Science**, v. 190, p. 48-57, 2016.

FUENZALIDA, M. J.; RUEGG, P.L. Negatively controlled, randomized clinical trial to evaluate use of intramammary ceftiofur for treatment of nonsevere culture-negative clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**. v.102, p.3321–3338, 2019.

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), e0155314, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155314>.

GASPAROTTO, P.H.G.; WEBER, F.K.; BARBOSA, V.A.A.; MORAES, L.B.; BICALHOS, B.; SOBRAL, F.O.S. Principais gêneros bacterianos causadores de mastite isolados no laboratório de microbiologia veterinária do Hospital Veterinário do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná/RO. **Veterinária em Foco**, v.14, p.60–74, 2016.

HOSSAIN, M.K.; HOSSAIN, M.M.; ISLAM, M.R.; ALAM, M.G.S. Bovine Mastitis and Its Therapeutic Strategy Doing Antibiotic Sensitivity Test. **Austin Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry**. v.4, p.01-12, 2017.

KALINSKA, A.; GOLE, M.R.; WOJCIK, A. Mastitis pathogens in dairy cattle – a review. **World Science News**. v.89, p. 22–31, 2017.

KROMKER, V.; LEIMBACH, S. Mastitis treatment -Reduction in antibiotic usage in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**. v.52, p.21–29, 2017.

LAGO, A.; GODDEN, S.M.; BEY, R.; RUEGG, P.L.; LESLIE, K., The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk with holding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. **Journal of Dairy Science**. v. 94, p.4441–4456, 2011a.

LAGO, A.; GODDEN, S.M.; BEY, R.; RUEGG, P.L.; LESLIE, K. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: II. Effects on lactation performance, including clinical mastitis recurrence, somatic cell count, milk production, and cow survival. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 4457–4467, 2011b.

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, p.1261–1269, 2017.

RIBEIRO, M.G. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia. In: ANDRADE S.F. (Ed.), **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3.^a ed. Roca, São Paulo, p.759-771, 2008.

RUEGG, P.L. Making antibiotic treatment decisions for clinical mastitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.34, p.413–25, 2018.

SANTOS, M. V.; BARCELOS, M. M. Tratamento de vaca seca: uso nas vacas com mastite é mais recomendável, 2018. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/tratamento-de-vaca-seca-usonas-vacas-com-mastite-e-mais-recomendavel-206622/>. Acesso em: 18 de abril de 2021.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. **Editora Manole**. 2007.

SANTOS, M. V; FONSECA, L. F. L. Controle da Mastite e Qualidade do Leite: Desafios e Soluções. Pirassununga: Edição dos Autores. 301 p, 2019.

SHARUN, K.; DHAMA, K.; TIWARI, D.R.; GUGJOO, M.B.; YATOO, M, I.; PATEL, S.K.; PATHAK, M.; KARTHIK, K.; KHURANA, S.K.; SINGH, K.P.; AMARPAL, B.P.; SINGH, R.; SINGH, K.P.; CHAIACUMPA, W. Advances in therapeutic and managerial approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. **Veterinary Quarterly**,. v.41, p.107-136, 2021.

SERPA, M. Mastite Bovina: Definições e Conceitos. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/mastite-bovina-definicoes-e-conceitos-223333/>. Acesso em: 30 de março de 2021, 2020.

TOMAZI, T.; SANTOS, M.V. Antimicrobial use for treatment of clinical mastitis in dairy herds from Brazil and its association with herd-level descriptors. **Preventive Veterinary Medicine**. v.176, 2020.

ULSENHEIMER, B.C.; ZIEGLER, S.J.; VIERO, L.M.; FRAGA, D.R.; BECK, C.; MARTINS, L.R.V. Antimicrobial sensitivity profile of strains *Streptococcus uberis* corrected for bovine mastitis in the Northwest region of the State of Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n.3, p. 22549-22557, 2021.

VAN BOECKEL, T.P.; GLENNON, E.E.; CHEN, D.; GILBERT, M.; ROBINSON, T.P.; GRENFELL, B.T.; LEVIN, S.A.; BONHOEFFER, S.; LAXMINARAYAN, R. Reducing antimicrobial use in food animals. **Science**, v. 357, p. 1350-1352, 2017.

VASQUEZ, A. K.; NYDAM, D. V.; CAPEL, M. B. L.; EICKER, S.; VIRKLER, P. D. Clinical outcome comparison of immediate blanket treatment versus a delayed pathogen-based treatment protocol for clinical mastitis in a New York dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.2992–3003, 2017.

WENTE, N.; KLOCKE, D.; PADUCH, J. H.; ZHANG, Y.; SEETH, M.; GOLOB, V.Z.; REINECKE, F.; MOHR, E.; KRÖMKER, V. Associations between *Streptococcus uberis* strains from the animal environment and clinical bovine mastitis cases. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 9360–9369, 2019.

ZDANOWIC, M.; SHELFORD, J. A.; TUCKER, C. B.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK. Bacterial populations on teat ends of dairy cows housed in free stalls and bedded with either sand or sawdust. **Journal of Dairy Science**. v.87, p.1694–1701, 2004.

