

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO - UFES  
CENTRO DE CIÊNCIAS ÁGRARIAS E ENGENHARIAS - CCAE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS - PGCV**

**ALCLECIR BITENCOURT SERAFIM JÚNIOR**

**IMPACTO DA *Haematobia irritans* NA PREVALÊNCIA DA  
MASTITE SUBCLÍNICA EM REBANHOS LEITEIROS**

**ALEGRE**

**2025**

ALCLECIR BITENCOURT SERAFIM JÚNIOR

**O IMPACTO DA *Haematobia irritans* NA PREVALÊNCIA DA  
MASTITE SUBCLÍNICA EM REBANHOS LEITEIROS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Pós da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Biociência Aplicada à Produção e Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marco Túlio Costa Almeida.

ALEGRE

2025

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

S481      Serafim Júnior, Alclecir Bitencourt, 1996-  
i      O impacto da *Haematobia irritans* na prevalência da mastite subclínica em rebanhos leiteiros / Alclecir Bitencourt Serafim Júnior. - 2025.  
(recurso não paginado). : il.

Orientador: Marco Túlio Costa Almeida.  
Coorientador: Rodrigo de Nazaré Santos Torres.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)

-  
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Mosca-do-chifre. 2. Mastite. 3. Vetores artrópodes. I. Almeida, Marco Túlio Costa. II. Torres, Rodrigo de Nazaré Santos. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 619

---

ALCLECIR BITENCOURT SERAFIM JÚNIOR

**O IMPACTO DA *Haematobia irritans* NA PREVALÊNCIA DA  
MASTITE SUBCLÍNICA EM REBANHOS LEITEIROS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa Biociência Aplicada à Produção e Saúde Animal.

Aprovado em 12 do março de 2025.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Marco Túlio Costa Almeida. Orientador**  
**UFES**

---

**Profa. Dra. Roberta de Lima Valença. Avaliadora**  
**UFES**

---

**Profa. Dra. Maria Aparecida da Silva. Avaliadora**  
**UFES**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus primeiramente por me proporcionar saúde, força e oportunidades em minha vida, sendo uma delas a realização deste projeto.

À Instituição Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV)

Ao meu Orientador, Professor, Doutor, Marco Túlio Costa Almeida, por me direcionar e auxiliar em todas as etapas desta caminhada alcançando nossos objetivos.

A minha mãe que me criou com dedicação, me proporcionando educação, qualidade de vida e mostrou o amor verdadeiro e uma fé inabalável.

A minha irmã que esteve sempre ao meu lado, contribuindo e me apoiando sempre.

Aos amigos e amigas do Laboratório de inspeção de produtos de origem animal (LIPOA) e especialmente ao professor Dirlei Molinari Donatele, responsável pelo laboratório pôs-se a disposição para colaboração do estudo.

Ao CNPq pela concessão da bolsa a nível de mestrado para realização deste projeto. Dessa forma, o presente trabalho foi realizado com apoio da Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) - Processo: 132363/2024-0.

## RESUMO

BITENCOURT SERAFIM JÚNIOR, ALCLECIR. **IMPACTO DA *Haematobia irritans* NA PREVALÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA EM REBANHOS LEITEIROS**. 2025. 60p. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Alegre, ES, 2025. **RESUMO:** O presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres) de veicular agentes bacterianos causadores de mastite subclínica em bovinos, relacionando a microbiota presente na superfície desses insetos à identificação de bactérias em amostras de leite e *swabs* da superfície dos tetos de vacas com diagnóstico subclínico da enfermidade. O estudo foi conduzido em duas propriedades leiteiras no município de Alegre, Espírito Santo, onde foram realizadas visitas técnicas para avaliação das condições sanitárias e do manejo da produção. A identificação de vacas com mastite subclínica foi realizada por meio do California Mastitis Test (CMT), sendo coletadas amostras de leite e *swabs* da superfície dos tetos dos animais positivos. As moscas-dos-chifres foram capturadas na área da ordenha, próximas aos animais. As amostras foram submetidas a cultivos bacteriológicos em Agar MacConkey, Agar Infusão Cérebro Coração (BHI) e Agar Sabouraud, e as colônias isoladas foram caracterizadas com base em morfologia colonial, coloração de Gram e testes bioquímicos de catalase e coagulase. Os resultados indicaram que *Staphylococcus aureus* foi o principal agente etiológico isolado, estando presente na maioria das amostras de leite e *swab* de teto de vacas com mastite subclínica. Além disso, a análise microbiológica das moscas revelou a presença de *S. aureus*, bacilos Gram-positivos e Gram-negativos, demonstrando que esses insetos podem atuar como vetores mecânicos de transmissão de patógenos no ambiente de ordenha. A análise estatística de componentes principais (PCA) evidenciou forte associação entre a microbiota das moscas e a presença de *S. aureus* nas amostras de leite e tetos, especialmente na Propriedade 1, onde o patógeno foi predominante. Enquanto na Propriedade 2, *Streptococcus* spp. foi identificado em maior frequência, sugerindo relação mais estreita entre a higiene da ordenha e a presença desses microrganismos. Com base nesses achados, conclui-se que *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres) atua como vetor de agentes bacterianos associados à mastite subclínica em bovinos, sendo um fator epidemiológico relevante na cadeia produtiva do leite. Dessa forma, o controle efetivo desse ectoparasita é essencial para reduzir a disseminação de microrganismos no ambiente de ordenha e mitigar o impacto da mastite subclínica na produtividade leiteira. Além disso, o monitoramento contínuo das bactérias isoladas pode subsidiar estratégias de manejo sanitário mais eficazes nas propriedades leiteiras, minimizando perdas econômicas e melhorando a qualidade do leite produzido.

**Palavras-chave:** controle de vetores; microbiologia veterinária; produção leiteira.

## ABSTRACT

BITENCOURT SERAFIM JUNIOR, ALCLECIR. **IMPACT OF *Haematobia irritans* ON THE PREVALENCE OF SUBCLINICAL MASTITIS IN DAIRY HERDS**. 2025. 60p. Master's Dissertation in Veterinary Sciences - Center for Agricultural Sciences and Engineering - CCAE, Federal University of Espírito Santo - UFES, Alegre, ES, 2025. ABSTRACT: The present study aimed to evaluate the ability of the horn fly (*Haematobia irritans*) to carry bacterial agents causing subclinical mastitis in cattle, relating the microbiota present on the surface of these insects to the identification of bacteria in milk samples and swabs from the teat surfaces of cows diagnosed with subclinical mastitis. The study was conducted on two dairy farms in the municipality of Alegre, Espírito Santo, Brazil, where technical visits were carried out to assess sanitary conditions and milk production management. The identification of cows with subclinical mastitis was performed using the California Mastitis Test (CMT), and milk and teat surface swab samples were collected from positive animals. Horn flies were captured in the milking area, near the animals. The samples were subjected to bacteriological cultures on MacConkey Agar, Brain Heart Infusion (BHI) Agar, and Sabouraud Agar, and the isolated colonies were characterized based on colony morphology, Gram staining, and biochemical tests for catalase and coagulase. The results indicated that *Staphylococcus aureus* was the main etiological agent isolated, being present in most milk and teat swab samples from cows with subclinical mastitis. Additionally, microbiological analysis of the flies revealed the presence of *S. aureus*, Gram-positive bacilli, and Gram-negative bacilli, demonstrating that these insects can act as mechanical vectors for pathogen transmission in the milking environment. The multivariate statistical analysis (PCA) revealed a strong association between the fly microbiota and the presence of *S. aureus* in milk and teat samples, especially in Farm 1, where the pathogen was predominant. In Farm 2, *Streptococcus* spp. was identified more frequently, suggesting a closer relationship between milking hygiene and the presence of these microorganisms. Based on these findings, it is concluded that the horn fly acts as a vector for bacterial agents associated with subclinical mastitis in cattle, making it an epidemiologically relevant factor in the dairy production chain. Thus, effective control of this ectoparasite is essential to reduce the spread of microorganisms in the milking environment and mitigate the impact of subclinical mastitis on dairy productivity. Furthermore, continuous monitoring of the isolated bacteria can support more effective sanitary management strategies on dairy farms, minimizing economic losses and improving milk quality.

**Keywords:** veterinary microbiology; vector control; dairy production.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Localização do município de Alegre - Espírito Santo, no cenário nacional. ....	28
<b>Figura 2.</b> Propriedade rural (1), localizada no município de Alegre-ES, na região de Flores de Aparecida. ....	29
<b>Figura 3.</b> Propriedade rural (2), localizada no município de Alegre – ES, na região do Varjão do Norte. ....	29
<b>Figura 4.</b> Vacas em lactação, CMT sendo realizado antes da ordenha. ....	30
<b>Figura 5.</b> Coleta de 10ml de leite em tubo estéril do quarto mamário que apresentou CMT positivo. ....	32
<b>Figura 6.</b> Coleta de amostra com <i>swab</i> de superfície ao redor do óstio do teto no quarto mamário positivo para mastite subclínica.....	32
<b>Figura 7.</b> Isolamento, na capela de exaustão, no LIPOA, UFES, de mosca em meio de cultura para crescimento bacteriano. ....	34
<b>Figura 8.</b> Identificação da mosca-do-chifre ( <i>Haematobia irritans</i> ), realizado no Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário, UFES.....	34
<b>Figura 9.</b> Semeadura bacteriana da mosca, crescimento em meio de cultura após 24h de incubação em estufa. ....	35
<b>Figura 10.</b> Crescimento microbiano, após semeadura com o <i>swab</i> do teto de vacas com mastite subclínica, na técnica de estrias em meio de cultura BHI, retirado da estufa depois de 24 horas a 37° C, no LIPOA, UFES. ....	36
<b>Figura 11.</b> Realização de identificação das características morfológicas e tintoriais, através de um microscópio com lente de imersão 100x, sobre uma lâmina corada. ....	36
<b>Figura 12.</b> Prevalência de mastite subclínica em duas propriedades leiteiras do município de Alegre-ES. Propriedade 1 localizada em Flores de Aparecida e propriedade 2 localizada em Varjão do Norte. ....	38
<b>Figura 13.</b> Identificação dos quartos mamários afetados e escores do CMT nos animais avaliados.....	40
<b>Figura 14.</b> Identificação dos quartos mamários afetados e escores do CMT nos animais avaliados.....	40
<b>Figura 15.</b> Lâmina corada de <i>Estafilococos</i> no aumento de 100x em microscópio óptico, avaliação por meio da coloração e morfologia, realizado no LIPOA, UFES. ....	43
<b>Figura 16.</b> Teste de catalase da bactéria com identificação positiva, realizado no	

LIPOA, UFES. ....	44
<b>Figura 17.</b> Teste de coagulase da bactéria com identificação positiva, realizado no LIPOA, UFES. ....	44
<b>Figura 18.</b> Lâmina corada identificando Cocos positivo no aumento de 100x no microscópio óptico com lente de imersão, avaliado através da coloração e morfologia. ....	46
<b>Figura 19.</b> Bacillus Gram Positivos e Gram negativos na lâmina corada no aumento de 100x em microscópio óptico com lente de imersão. ....	47
<b>Figura 20.</b> Análise de Componentes Principais (PCA) das variáveis associadas às amostras microbiológicas coletadas nas propriedades avaliadas. ....	48
<b>Figura 21.</b> Clusterização das variáveis microbiológicas identificadas nas amostras de leite, <i>swab</i> e moscas coletadas nas propriedades estudadas. ....	50

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b> Interpretação do <i>Califónia Mastitis Test</i> (CMT).....	30
<b>Tabela 2</b> Resultados das análises do leite coletado e do <i>swab</i> de superfície de teto, dos animais com mastite subclínica.....	41
<b>Tabela 3</b> Resultados da análise microbiológica das superfícies de moscas coletadas nas propriedades avaliadas.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

CCS	Contagem de células somáticas
CMT	<i>California Mastitis Test</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LIPOA	Laboratório de inspeção de produtos de origem animal
MAPA	Ministério da Agropecuária e Abastecimento
PCA	Análise de componentes principais
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Produção de leite no Brasil .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Mastite em rebanhos leiteiros .....</b>	<b>15</b>
2.2.1 Definição e Etiologia .....	15
2.2.2 Epidemiologia e Patogenia .....	16
2.2.3 Sinais clínicos, Diagnóstico e Conduta terapêutica .....	16
<b>2.3 Agentes causadores da mastite subclínica em bovinos .....</b>	<b>17</b>
<b>2.4 Prejuízos causados ao animal e para o produtor .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5 Vetores causadores da mastite subclínica em bovinos .....</b>	<b>19</b>
<b>2.6 Influência de dípteros relacionada à mastite subclínica .....</b>	<b>19</b>
<b>2.7 Comprometimento da sanidade .....</b>	<b>21</b>
<b>2.8 Impactos causados e estratégias .....</b>	<b>22</b>
<b>2.9 Importância como vetor de patógenos .....</b>	<b>23</b>
<b>2.10 Métodos de controle .....</b>	<b>24</b>
<b>2.11 Medidas preventivas .....</b>	<b>25</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
3.1 Objetivo geral .....	27
3.2 Objetivos específicos .....	27
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>28</b>
4.1 Localização e especificações .....	28
4.2 Coleta do leite .....	30
4.3 Coleta com <i>swab</i> .....	32
4.4 Coleta de moscas .....	33
4.5 Processo de isolamento e identificação das moscas .....	35
4.6 Processamento de dados e análises estatísticas .....	37
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
5.1 Análise do leite coletado e análise do <i>swab</i> de superfície .....	42
5.2 Análise microbiológica das moscas .....	45
5.3 Análise dos Componentes Principais e agrupamento das variáveis na contaminação por mastite subclínica .....	48
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>52</b>
<b>7 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma das principais enfermidades que afetam a pecuária leiteira no Brasil, causando prejuízos econômicos significativos devido à redução na produção, descarte de leite e custos com tratamentos. A doença impacta diretamente a qualidade do leite, comprometendo seu valor comercial e a segurança alimentar. Em 2023, a produção nacional de leite atingiu 35,38 bilhões de litros, com Minas Gerais se destacando como o maior produtor (IBGE, 2024). No entanto, a mastite subclínica continua sendo um dos principais desafios sanitários do setor, afetando rebanhos em diferentes sistemas de produção (DA FONSECA *et al.*, 2020).

No Brasil, estudos indicam que a prevalência da mastite subclínica pode variar entre 20% e 40%, dependendo das condições de manejo, higiene e controle sanitário adotados nas propriedades leiteiras (FERREIRA; RIBEIRO, 2022). Além das perdas diretas na produtividade, a doença aumenta a contagem de células somáticas (CCS), um dos principais parâmetros de qualidade do leite, podendo levar à penalização econômica dos produtores. O diagnóstico precoce e o monitoramento contínuo são essenciais para minimizar os impactos da enfermidade, especialmente diante do aumento da resistência antimicrobiana dos patógenos envolvidos (MASSOTE *et al.*, 2019).

Entre os principais agentes etiológicos da mastite subclínica em rebanhos leiteiros no Brasil, destaca-se *Staphylococcus aureus*, uma bactéria com elevada capacidade de adesão ao epitélio mamário, formação de biofilme e resistência aos tratamentos convencionais (CAMPOS *et al.*, 2023). Além dos fatores infecciosos, aspectos ambientais e a presença de vetores biológicos, como as moscas, também podem favorecer a disseminação da enfermidade (BERTOLINI, 2022). A mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*), espécie hematófaga que pode se alimentar até 38 vezes ao dia, é considerada uma das principais pragas que afetam o gado bovino, sendo este seu hospedeiro primário (BREWER, 2021). Apesar de seu impacto reconhecido no bem-estar e produtividade dos animais, ainda são escassos os estudos que investigam seu papel potencial como vetor na transmissão de microrganismos associados à mastite bovina.

Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade da *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres) em veicular agentes bacterianos causadores de mastite subclínica em vacas leiteiras.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Produção de leite no Brasil

A produção de leite é uma das principais atividades agropecuárias do Brasil, ocupando posição de destaque no cenário mundial. Apesar de avanços significativos em tecnologia e manejo, o setor ainda enfrenta desafios que impactam diretamente a eficiência e a sustentabilidade da produção (LUCCA; AREND, 2020). Em 2023, o Brasil alcançou um recorde de 35,38 bilhões de litros de leite, desde então, a produção vem apresentando uma tendência decrescente, dentre as regiões brasileiras, a região Sul lidera a produção leiteira, seguida pela região Sudeste, sendo Minas Gerais o estado com maior representatividade (IBGE, 2024).

O setor lácteo brasileiro possui grande relevância na geração de valor agregado, especialmente por meio da transformação do leite cru em produtos industrializados, como queijos, iogurtes, manteiga e outros derivados. Esses produtos representam uma parcela expressiva da produção industrial nacional (RIBEIRO, 2021). Além disso, a exportação de derivados lácteos para mercados internacionais tem se expandido, fortalecendo a balança comercial brasileira e posicionando o país como um importante competidor no mercado global de lácteos (HENRIQUE; OLIVEIRA; NUNES, 2020).

A produção de leite está presente em 98% dos municípios brasileiros, predominando em pequenas e médias propriedades, e emprega cerca de quatro milhões de pessoas, o Brasil conta com mais de um milhão de fazendas produtoras. Entretanto, segundo projeções da Secretaria de Política Agrícola, apenas os produtores mais eficientes deverão permanecer na atividade até 2030. A adaptação a essa nova realidade, por meio da adoção de tecnologias, melhorias na gestão e aumento da eficiência técnica e econômica, será fundamental para a sustentabilidade do setor (BRASIL, 2023).

A agricultura familiar desempenha papel central na produção de leite no Brasil, muitos pequenos produtores são responsáveis por uma parcela significativa da produção nacional. Entretanto, esses produtores frequentemente enfrentam dificuldades no acesso a tecnologias e crédito rural, o que limita a modernização e a expansão de suas atividades (VALADARES, 2022).

Outro desafio enfrentado pelo setor refere-se à gestão inadequada da nutrição animal e à infraestrutura limitada em pequenas propriedades, a alimentação dos animais desempenha papel crucial na manutenção da saúde e produtividade do rebanho, e a ausência de manejo nutricional adequado pode levar a deficiências que comprometem o desempenho produtivo (LEMES *et al.*, 2022).

A sanidade do rebanho leiteiro também é um fator determinante, com impacto direto tanto na produtividade quanto na qualidade do leite, a prevenção e o controle de doenças, como a mastite, são essenciais para garantir a longevidade produtiva dos animais e a integridade do produto final (RIBEIRO, 2021).

Entre as doenças que afetam o rebanho leiteiro, a mastite destaca-se por seus impactos econômicos e produtivos, essa enfermidade reduz a qualidade do leite, resultando em menores preços de venda e maiores custos com tratamentos veterinários. Estratégias de controle, como programas de monitoramento da saúde do rebanho e a implementação de protocolos de ordenha, têm se mostrado fundamentais para minimizar os impactos dessa doença (FERREIRA; RIBEIRO, 2022)

## **2.2 Mastite em rebanhos leiteiros**

### **2.2.1 Definição e Etiologia**

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária, de origem plurietiológica e multifatorial, caracterizada por alterações físico-químicas e organolépticas no leite, além de mudanças na celularidade e no parênquima mamário dos animais afetados. Essa enfermidade, considerada a mais comum nos rebanhos leiteiros globalmente, resulta em significativas perdas econômicas, que podem chegar a 30% a 50% da produção leiteira. Ademais, a mastite representa riscos à saúde pública, pois pode contaminar o leite com agentes patogênicos e toxinas, resultando em toxinfecções alimentares (FONSECA *et al.*, 2020).

A mastite pode ter causas fisiológicas, traumáticas, hormonais, alérgicas ou infecciosas. Os patógenos mais comuns são bacterianos, como *Staphylococcus* (ex.: *S. aureus*), *Streptococcus* (ex.: *S. agalactiae*), *Enterobacteriaceae* (ex.: *E. coli*), além de outros como *Corynebacterium bovis*, *Trueperella pyogenes*, *Mycoplasma*, fungos e vírus (RUEGG, 2017; GIRMA, TAMIR, 2022).

### 2.2.2 Epidemiologia e Patogenia

A mastite possui distribuição cosmopolita nos rebanhos leiteiros, pode ser classificada em dois tipos principais: mastite contagiosa, transmitida por contato com a pele ou mucosas, com alta frequência de casos subclínicos, sendo os patógenos mais comuns *S. aureus*, *S. agalactiae* e *C. bovis*; e mastite ambiental, transmitida por solo, fezes e água, com alta frequência de casos clínicos, sendo os patógenos mais comuns *S. uberis*, *E. coli* e *Klebsiella spp.* A triade epidemiológica (agente, animal e ambiente) é um fator de risco importante, assim como condições predisponentes como alta produção de leite, imunodepressão e manejo inadequado (LANGONI *et al.*, 2017; RUEGG, 2017).

A infecção ocorre predominantemente de forma ascendente, através do canal do teto. A resposta imunológica é mediada pela mobilização de leucócitos, principalmente neutrófilos, e pela liberação de mediadores inflamatórios. Isso provoca alterações na celularidade do leite e na produção de toxinas (AITKEN *et al.*, 2011).

### 2.2.3 Sinais clínicos, Diagnóstico e Conduta terapêutica

Mastite subclínica não apresenta sinais visíveis, mas há alterações no conteúdo celular do leite e redução da produção, essa forma é predominante na maioria dos casos. Enquanto a mastite clínica apresenta alterações visíveis no leite, como grumos, pus e sangue, os sintomas incluem aumento de volume, edema e dor no úbere, e alterações comportamentais (isolamento, apatia). Em pequenos ruminantes, pode ocorrer claudicação no membro ipsilateral à mama afetada (HAXHIAJ; WISHART; AMETAJ, 2022; RUEGG, 2017).

Na mastite subclínica o diagnóstico pode ser feito por testes indiretos, como o *California Mastitis Test* (CMT) e a contagem de células somáticas (CCS), o CMT estima o conteúdo celular do leite, indicando graus crescentes de inflamação. No entanto, apresenta limitações, como a interpretação subjetiva e o risco de falso-positivos, tecnologias emergentes, como a termografia infravermelha (TIV), estão sendo exploradas como alternativas para diagnóstico precoce (SOUZA *et al.*, 2022).

A conduta terapêutica deve ser baseada no tipo de mastite e nos agentes causadores. O uso de antimicrobianos é indicado em casos de mastite bacteriana, enquanto terapias específicas são necessárias para casos causados por fungos ou traumas (SHARUN *et al.*, 2021).

### 2.3 Agentes causadores da mastite subclínica em bovinos

Entre os agentes causadores da mastite subclínica em bovinos, *Staphylococcus* spp. destaca-se como um dos principais patógenos. Estudos revelam que diferentes espécies desse gênero, como *Staphylococcus aureus*, estão frequentemente associadas a casos de mastite subclínica (SILVA *et al.*, 2012). Diversas espécies de *Streptococcus* spp. também desempenham um papel significativo na etiologia da mastite subclínica, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus uberis*, em particular, são reconhecidos como agentes comuns, com a capacidade de persistir no tecido mamário (CERQUEIRA, 2009).

O grupo das bactérias coliformes, especialmente *Escherichia coli*, também está associado a casos de mastite subclínica, representando uma fonte potencial de infecção ambiental. A presença dessas bactérias pode resultar em quadros inflamatórios no úbere e comprometer a qualidade do leite (RIBEIRO *et al.*, 2006). *Mycoplasma* spp. é reconhecido como um agente causador de mastite subclínica em bovinos, apresentando desafios significativos no diagnóstico devido à sua natureza intracelular. A infecção por *Mycoplasma* spp. pode persistir de forma crônica, afetando a saúde mamária (JUNQUEIRA; LANGONI, 2016).

*Corynebacterium bovis* é uma bactéria gram-positiva frequentemente associada à mastite subclínica. Estudos indicam que a presença desse patógeno pode desencadear respostas inflamatórias no úbere, afetando a produção e qualidade do leite (LANGONI *et al.*, 2017). *Klebsiella* spp. é identificada especialmente em sistemas de produção intensiva, e a capacidade dessas bactérias de persistir no ambiente pode contribuir para casos recorrentes de infecção (FERREIRA; RIBEIRO, 2022).

A presença de *Enterococcus* spp. tem sido relatada em casos de mastite subclínica, destacando a diversidade de agentes microbianos envolvidos. A resistência dessas bactérias a antibióticos representa um desafio adicional no tratamento dessa infecção (VIANNI; LÁZARO, 2003). *Arcanobacterium pyogenes* é reconhecido como um agente oportunista em casos de mastite subclínica. Sua capacidade de causar infecções persistentes e a formação de abscessos contribuem para a cronicidade da condição em alguns casos (DA COSTA, 1998).

*Pasteurella multocida*, embora mais frequentemente associada a infecções respiratórias, também pode desempenhar papel na mastite subclínica. Sua presença pode complicar o quadro clínico da infecção mamária (PIORUNEK *et al.*, 2023). Além

dos patógenos específicos, ambientes mistos de bactérias são comuns em casos de mastite subclínica. A interação complexa entre diferentes espécies bacterianas pode influenciar a gravidade da infecção e a resposta do hospedeiro (LANGONI *et al.*, 2011).

Na mastite contagiosa, a transmissão ocorre entre animais e é causada por agentes patogênicos específicos. *Streptococcus agalactiae* é um dos principais patógenos envolvidos nesse tipo de mastite, impactando significativamente a saúde do rebanho leiteiro (SALINA *et al.*, 2017). A identificação precisa dos agentes patogênicos responsáveis pela infecção é crucial para a implementação de medidas de controle direcionado e a prevenção da disseminação no rebanho. Para o tratamento eficaz, a avaliação microbiológica da mastite subclínica é de extrema relevância (COENTRÃO *et al.*, 2008).

#### **2.4 Prejuízos causados ao animal e para o produtor**

A mastite subclínica não tratada pode resultar em desconforto e dor para as vacas leiteiras. Uma abordagem de manejo adequado não apenas preserva o bem-estar animal, mas também contribui para a longevidade e produtividade do rebanho (MELLO, 2021). Além disso, a mastite subclínica impacta a qualidade do leite, e a elevada presença de células somáticas pode comprometer tanto a qualidade quanto a segurança do produto final, resultando em perdas econômicas significativas para os produtores (ALVES; CUNHA; ARAÚJO, 2017).

A prevenção e controle da mastite geram custos adicionais, o tratamento clínico torna-se fundamental, sendo crucial identificar o agente patogênico e monitorar sua resistência aos antimicrobianos nos casos de mastite subclínica (MASSOTE *et al.*, 2019). O uso inadequado e indiscriminado de antimicrobianos tem contribuído para o surgimento de agentes patogênicos multirresistentes, representando um risco tanto para a saúde humana quanto para a saúde animal (MORITZ; MORITZ, 2016).

A interferência dos vetores na saúde dos bovinos é evidente não apenas na transmissão de bactérias causadoras de mastite, mas também nos impactos diretos nas condições físicas e comportamentais dos animais. Pesquisas indicam que a constante irritação causada por moscas e carrapatos pode levar ao estresse, diminuição do apetite e desconforto geral nos animais, contribuindo para a predisposição à mastite subclínica (ZANETE, 2023).

## 2.5 Vetores causadores da mastite subclínica em bovinos

A mosca-doméstica (*Musca domestica*), comumente encontrada em ambientes de produção de bovinos, é um vetor potencial na propagação de patógenos causadores de mastite subclínica, sua capacidade de pousar em diferentes substratos contaminados a torna um vetor eficiente (BERTOLINE *et al.*, 2022). A mosca-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans*) é outra espécie de mosca que pode desempenhar papel na transmissão de agentes infecciosos para o úbere de bovinos, a presença em áreas de produção de leite representa um desafio adicional no controle da mastite subclínica (CASTRO, 2008).

Diferentes espécies de moscas-do-estábulo, como *Haematobia* spp., têm sido associadas à transmissão de microrganismos causadores de mastite subclínica em bovinos, a capacidade de se alimentar de secreções e fluidos corporais as torna potenciais vetores (ZANETI, 2023). Além dos vetores específicos mencionados, outros insetos e artrópodes podem atuar como vetores acidentais na disseminação de microrganismos causadores de mastite subclínica, essa interação entre esses vetores e os bovinos em diferentes ambientes contribui para a complexidade da transmissão (BERTOLINI *et al.*, 2022).

A disseminação dos agentes causadores da mastite subclínica por vetores está intrinsecamente ligada a fatores ambientais, como temperatura, umidade e condições de higiene, estratégias de controle devem abordar não apenas os vetores diretamente, mas também os aspectos ambientais que favorecem sua proliferação (OLIVEIRA *et al.*, 2013). A implementação dessas medidas são eficazes e crucial para mitigar a transmissão de microrganismos por vetores, um manejo adequado de resíduos, controle de insetos por métodos químicos e biológicos, e a adoção de práticas que reduzam a presença de vetores nos ambientes de produção (DO BRASIL, 2012).

Além das medidas práticas, a educação e conscientização dos produtores sobre a importância dos vetores na transmissão da mastite subclínica são fundamentais. O entendimento dos fatores de risco e a adoção de práticas preventivas contribuem para o controle efetivo dessa condição (FRANCO *et al.*, 2021).

## 2.6 Influência de dípteros relacionada à mastite subclínica

Dípteros pertencem à ordem *Diptera*, caracterizada por um único par de asas, enquanto o segundo par foi modificado em halteres, estruturas que ajudam no equilíbrio do voo, essa ordem inclui diversas espécies, como moscas, mosquitos e

mutucas (POLIGATTO, NASCIMENTO, 2019).

Esses insetos têm a tendência de se alimentar de exsudatos corporais, criando um ambiente propício para a entrada de patógenos no úbere das vacas (PEGORARO, 2019). Especificamente, dípteros muscóides, como *Stomoxys calcitrans* (mosca-do-estábulo) e *Musca domestica* (mosca-doméstica), são eficazes vetores de bactérias causadoras de mastite, durante a alimentação, esses insetos podem transferir patógenos para o ambiente de ordenha, facilitando a disseminação de infecções (CASTRO, SOUZA, BITTENCOURT, 2008).

A presença de dípteros é um fator crítico no desenvolvimento da mastite bovina, especialmente a subclínica, que pode ser difícil de detectar sem análise laboratorial (POLIGATTO, NASCIMENTO, 2019). Além disso, a presença constante de dípteros no ambiente de ordenha contribui para o estresse das vacas, o que pode afetar a produção de leite e o bem-estar animal. Esses insetos também podem contaminar superfícies e equipamentos de ordenha, aumentando ainda mais o risco de infecção (BERTOLINI, 2022).

Bactérias como os *Staphylococcus spp.*, e estreptococos ambientais são uns dos responsáveis por infecções mamárias, que podem se manifestar clinicamente ou de forma subclínica, caracterizada pelo aumento da CCS no leite, para controlar essas infecções, são recomendadas estratégias que busquem melhorar a limpeza e a higienização do ambiente das vacas (KEEFE, 2012).

A exposição contínua a dípteros muscóides pode também favorecer o desenvolvimento de dermatite crônica no úbere das vacas, a transmissão constante de patógenos durante múltiplas infestações por esses insetos pode resultar em infecções secundárias, prejudicando a saúde das glândulas mamárias a longo prazo (CORREA, 2021). A associação entre dípteros e mastite subclínica também representa um desafio na identificação precoce da doença, uma vez que *Stomoxys calcitrans* pode aumentar a incidência de animais positivos para mastite nas propriedades (MORAES *et al.*, 2004).

Por fim, a relação entre mastite bacteriana e moscas demonstra a complexidade dos mecanismos de transmissão, moscas, especialmente da família Muscidae, desempenham papel importante ao transportar patógenos diretamente do ambiente contaminado para o úbere das vacas durante o processo de ordenha (BRITO, 1996). O ambiente de ordenha se torna um ponto crítico de contaminação, e as moscas podem transferir bactérias diretamente para o leite, não só durante a ordenha, mas

também ao entrar em contato com as glândulas mamárias das vacas (DO BRASIL, 2012).

A presença de moscas durante a lactação pode introduzir patógenos diretamente nas glândulas mamárias, criando um ambiente propício para o desenvolvimento de infecções bacterianas que afetam tanto a qualidade do leite quanto a saúde geral do rebanho (CERQUEIRA *et al.*, 2009). O desconforto contínuo e a redução na ingestão de alimentos devido à presença de moscas contribuem para a perda de peso e para a diminuição da condição corporal dos bovinos, esse quadro não só prejudica o desempenho individual dos animais, como também impacta na eficiência produtiva do rebanho como um todo (MENEGUSSO, 2023).

Bovinos constantemente estressados e incomodados pelas moscas apresentam diminuição na eficiência de conversão alimentar, o que leva a menor produção de leite e a ganho de peso reduzido, gerando impacto econômico significativo na pecuária, especialmente devido à queda na produção de leite e carne dos animais (BRITO, 2008).

Além dos prejuízos relacionados à produtividade, os produtores enfrentam custos adicionais com tratamentos, a necessidade de investir em medidas de controle, como o uso de inseticidas e dispositivos eletrônicos, acarretando no aumento dos custos operacionais da produção na pecuária leiteira (ZANETI, 2023).

O conjunto de impactos econômicos causados pelas moscas representam desafios significativos para a sustentabilidade financeira da pecuária, diante disso, os produtores precisam adotar abordagem proativa, implementando estratégias eficazes de controle para assegurar a viabilidade econômica a longo prazo (FERREIRA; RIBEIRO, 2022).

## **2.7 Comprometimento da sanidade**

As moscas transportam bactérias patogênicas e, ao pousarem nos tetos das vacas durante a ordenha, podem causar infecção, comprometendo a saúde da glândula mamária (ALMEIDA, 2013). *Haematobia irritans*, conhecida como mosca dos chifres, atua como vetor de *Stephanofilaria stilesi*, esse nematódeo provoca lesões cutâneas frequentemente observadas na pele dos quartos anteriores do úbere, como a úlcera da lactação (PEGORARO, 2019).

Infestações de até duzentas moscas por bovino resultam na perda de 16 kg de

peso vivo por animal ao longo de um ano, em casos de infestações mais graves, com 500 moscas constantemente presentes, essa perda pode aumentar para 40 kg de peso vivo por ano. *H. irritans*, em infestações elevadas, pode causar lesões cutâneas que predisõem o animal a infecções bacterianas, sua atividade hematófaga, provocam picadas dolorosas deixando os animais nervosos e irritados, afetando negativamente seu crescimento, produção de leite, atividade reprodutiva, e ganho de peso (SILVA; GRAÇA, 2002).

Feridas causadas pelas picadas das moscas enfrentam desafios significativos na cicatrização, quando os bovinos lambem ou coçam os locais irritados, ocorre aumento da irritação e das lesões, favorecendo o desenvolvimento de infecções bacterianas secundárias, o que resulta em prejuízos adicionais. Alguns ectoparasitas, ao se alimentarem do sangue de seus hospedeiros, podem, em casos de alta taxa de infestação, levar à ocorrência de anemia (AZEVEDO; ALVES; SALES, 2008).

As picadas repetidas das moscas podem resultar em irritações cutâneas, predispondo os bovinos ao desenvolvimento de dermatites, essas condições não apenas causam desconforto aos animais, mas também oferecem portas de entrada para infecções secundárias (SILVA; GRAÇA, 2002).

## **2.8 Impactos causados e estratégias**

As moscas têm impacto direto na saúde mamária dos bovinos, podendo afetar a produção leiteira devido ao estresse térmico induzido por suas picadas constantes. A busca incessante por alívio do incômodo leva as vacas a reduzirem seu tempo de alimentação e descanso, o que resulta em queda na produção de leite (FERREIRA; RIBEIRO, 2022).

A sazonalidade afeta a dinâmica das populações de moscas, influenciando diretamente sua relação com a mastite subclínica. Durante os meses mais quentes, a atividade desses insetos aumenta, intensificando os desafios de controle e elevando o potencial de impacto na saúde mamária do gado leiteiro (DE SOUZA *et al.*, 2005).

A modulação da resposta imune do gado leiteiro é uma estratégia emergente para combater a mastite subclínica. A suplementação dietética com compostos imunostimulantes tem demonstrado potencial na melhoria da resistência natural das vacas contra infecções intramamárias. A microbiota do úbere tem recebido atenção crescente na pesquisa sobre mastite subclínica, e o entendimento das interações complexas entre microrganismos benéficos e patogênicos pode abrir novas

perspectivas para intervenções baseadas na modulação da microbiota (DA SILVA *et al.*, 2016).

A variação na eficácia de diferentes métodos de controle de moscas destaca a importância de abordagens personalizadas. O entendimento das características específicas de cada sistema de produção e região é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de manejo eficazes (ZANETI, 2023).

A pesquisa em novas formulações de inseticidas e repelentes, com foco na eficácia prolongada e segurança ambiental, é uma área de crescente relevância, o desenvolvimento de produtos mais sustentáveis pode oferecer soluções duradouras para o controle de moscas. A resistência aos inseticidas, observada em populações de moscas, representa um desafio significativo para o controle desses vetores, uma vez que a aplicação indiscriminada de inseticidas pode levar ao desenvolvimento de resistência, destacando a necessidade de estratégias integradas de manejo (SILVA *et al.*, 2009).

A adaptação de estratégias de controle de moscas às condições específicas de sistemas agropecuários sustentáveis é crucial. A integração de práticas ecológicas e amigáveis ao meio ambiente contribui para a harmonia entre a produção leiteira e a preservação ambiental (SCHVARZ; DOS SANTOS, 2012).

## **2.9 Importância como vetor de patógenos**

As moscas desempenham um papel crucial na disseminação de bactérias patogênicas entre bovinos, durante a ordenha, esses insetos podem transferir patógenos, como *Staphylococcus* spp. (BERTOLINI, 2022). Além de bactérias as moscas transportam vírus, levando uma preocupação significativa, o vírus da diarreia viral bovina (BVD) e o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) podem ser disseminados entre bovinos por meio do contato com moscas infectadas (OLIVEIRA, 2021).

Além de bactérias e vírus, as moscas também atuam na transmissão de parasitas internos e externos, contaminação de ovos de helmintos presentes nas fezes dos bovinos é facilitada pela presença desses insetos, contribuindo para o ciclo parasitário. Como vetores na transmissão de ovos de helmintos, as moscas também podem transportar larvas de parasitas internos, contribuindo para a contaminação de bovinos por vermes gastrointestinais e pulmonares (GONÇALVES, 2020).

Algumas espécies de moscas podem transmitir agentes infecciosos que afetam o sistema respiratório dos bovinos, a propagação de microrganismos, como *Mycoplasma* spp., pelas moscas pode resultar em problemas respiratórios graves no rebanho (CORREIA, 2017). A capacidade das moscas de se alimentarem de feridas e lesões nos bovinos cria cenário propício para a transmissão de *Clostridium* spp., essas bactérias anaeróbias podem causar doenças como o botulismo, levando o animal a óbito, representando ameaça séria à saúde do rebanho (NICOLINO, 2014).

As moscas também podem ser vetores de patógenos que afetam os olhos dos bovinos, transmissão de *Moraxella bovis*, causadora da *pinkeye*, é facilitada pelo contato direto das moscas com os olhos dos animais (MABONI, 2015). Presença de moscas em ambientes de pecuária também representa desafios na prevenção de zoonoses, na transmissão de patógenos entre animais e humanos, como a *Salmonella* spp., destaca a importância do controle efetivo desses insetos (CARDOZO, 2007).

Patógenos transmitidos pelas moscas não apenas introduzem novas ameaças à saúde, mas também podem agravar problemas de saúde previamente existentes no rebanho, a presença desses insetos amplifica os desafios veterinários e compromete o bem-estar animal (PEGORARO, 2019).

## 2.10 Métodos de controle

Uma abordagem fundamental no controle da mosca em bovinos é o gerenciamento ambiental, fatores como a presença de esterco, as condições de higiene e o manejo adequado influenciam diretamente a prevalência desses insetos (FERREIRA, RIBEIRO, 2022). Com isso se faz necessário a remoção eficaz de esterco e matéria orgânica, reduzindo os locais de reprodução favoráveis das moscas, manter ambientes limpos e secos é crucial para diminuir a população desses insetos (DE FREITAS BUENO, 2010).

A resistência dos dípteros a inseticidas é uma consideração importante para o controle da mastite subclínica, uma vez que a sensibilidade desses insetos varia conforme as populações locais. Estratégias de controle devem ser adaptadas a essas características (ALMEIDA, 2013). Inseticidas aplicados em locais estratégicos, como áreas de descanso dos animais e áreas de reprodução, podem ser eficazes quando utilizados conforme as recomendações (MARQUES, 2008).

A pesquisa sobre a resistência a inseticidas e o desenvolvimento de estratégias de manejo inovadoras são essenciais para enfrentar este desafio na produção leiteira

(ZANETE, 2023). O emprego de agentes de controle biológico, como parasitoides e predadores naturais das larvas de moscas, é uma estratégia sustentável e de baixo impacto ambiental, a introdução de vespas parasitoides, por exemplo, pode ajudar a controlar as populações de larvas no esterco (PARRA, 2002).

O Manejo Integrado de Vetores (MIV) é uma abordagem holística que combina várias estratégias para controlar as populações de moscas, inclui medidas como a eliminação de criadouros, o uso de inseticidas seletivos, o controle biológico e práticas de manejo animal que reduzem o estresse e a atratividade para as moscas (PITELLI, 2018). Armadilhas específicas para moscas, como as armadilhas de luz ultravioleta, podem ser empregadas para capturar e reduzir a população adulta, essas armadilhas são eficazes em áreas específicas, como estábulos, proporcionando controle localizado (MULLER, 2019).

O emprego de repelentes naturais, como óleos essenciais derivados de plantas, pode oferecer uma abordagem menos agressiva para o controle de moscas. Esses repelentes, quando aplicados adequadamente, podem ajudar a proteger os bovinos sem recorrer a substâncias químicas tóxicas (NATAL, 2021).

Práticas de manejo sanitário, como a limpeza regular de instalações e equipamentos, contribuem significativamente para o controle das moscas, reduzir as condições propícias à proliferação desses insetos é crucial para o sucesso das estratégias de controle. A implementação bem-sucedida de estratégias de controle requer monitoramento constante da população de moscas, avaliação regular do número de insetos, impacto nas condições de vida dos bovinos e da eficácia das medidas adotadas são essenciais para ajustar as estratégias conforme necessário (PEGORARO, 2018).

### **2.11 Medidas preventivas**

A manutenção de ambientes limpos e bem higienizados é crucial na prevenção da mastite subclínica, remoção regular de fezes, limpeza de estábulos e a redução de substratos propícios à proliferação de vetores contribuem para um ambiente menos propenso à disseminação de microrganismos (SHARMA *et al.*, 2018). O manejo eficaz de resíduos é essencial para prevenir a disseminação de microrganismos causadores de mastite subclínica, eliminação apropriada de esterco e outros resíduos orgânicos reduz o potencial de contaminação ambiental e, conseqüentemente, a transmissão

por vetores (KIBEBEW, 2017).

Estratégias de controle biológico, como o uso de predadores naturais e parasitoides de vetores, podem ser implementadas para limitar a população de moscas e carrapatos, essas medidas minimizam a exposição dos bovinos a insetos vetores, contribuindo para a prevenção da mastite subclínica (BREWER *et al.*, 2021). A aplicação regular de repelentes e inseticidas em bovinos e em ambientes de produção é uma medida eficaz para reduzir a infestação por vetores, a escolha de produtos seguros e a adesão a protocolos adequados maximizam a eficácia dessas intervenções (ARSENOPOULOS *et al.*, 2018).

A oferta de uma dieta balanceada e nutricionalmente adequada fortalece o sistema imunológico dos bovinos, tornando-os menos suscetíveis a infecções, atenção à nutrição contribui para a manutenção da saúde mamária e a prevenção de quadros de mastite subclínica (RUEGG, 2017). Implementação de práticas de monitoramento regular, incluindo exames clínicos e testes microbiológicos, é fundamental para detectar precocemente casos de mastite subclínica, uma identificação rápida permite a intervenção adequada e a redução do potencial de disseminação (DIGIOVANI, 2014).

A introdução de animais novos pode representar risco para a disseminação de microrganismos causadores de mastite subclínica, adoção de períodos de quarentena permite a observação e eventual tratamento de animais recém-chegados, reduzindo o risco de introdução de patógenos (BARAITAREANU, 2020). Rápida identificação de animais com sinais de mastite subclínica e seu isolamento temporário reduzem a disseminação dentro do rebanho, o manejo separado permite a administração de tratamento e evita a contaminação de outros bovinos (BOIREAU *et al.*, 2018).

A genética do gado leiteiro também desempenha um papel na suscetibilidade à mastite subclínica, vacas de determinadas raças podem apresentar maior predisposição genética, indicando a necessidade de estratégias de manejo diferenciadas, seleção de vacas resistentes à mastite subclínica por meio de programas de melhoramento genético é uma abordagem promissora para fortalecer a resistência natural do rebanho. A identificação de marcadores genéticos associados à resistência está em destaque nesse contexto (SANTANA, 2018).

A implementação de práticas de controle da mastite contribui significativamente para a saúde do rebanho, a saúde pública e o aumento da produtividade, exemplos dessas práticas incluem a adoção da "linha de ordenha", a aplicação adequada de pré

e pós-*dipping*, a atenção à higiene pessoal dos ordenhadores, a manutenção dos animais em pé após a ordenha, entre outras medidas (MASSOTE *et al.*, 2019). A prevenção é realizada por meio do manejo adequado do rebanho, com ênfase na higiene durante a ordenha e na manutenção de equipamentos, estratégias profiláticas incluem vacinação específica e monitoramento constante de sinais subclínicos e clínicos (VLIEGHER; OHNSTAD; PIEPERS, 2018).

A mastite é uma condição de alta relevância na produção animal, exigindo atenção especial no manejo, diagnóstico e controle, a fim de minimizar seus impactos econômicos e os riscos à saúde pública, o manejo da qualidade do leite desempenha papel crucial na prevenção, práticas rigorosas de higiene na ordenha e refrigeração adequada do leite são essenciais para manter a qualidade e evitar a proliferação de patógenos (RUEGG, 2017). A capacitação dos profissionais envolvidos na pecuária é essencial para a implementação efetiva das medidas preventivas, treinamentos sobre boas práticas de manejo, higiene e controle de vetores contribuem para a conscientização e adoção de práticas que promovam a saúde mamária (RIBEIRO; OLIVEIRA; CULLINAN, 2016).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

O objetivo geral deste trabalho é avaliar a capacidade da *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres) em veicular agentes bacterianos causadores de mastite subclínica em vacas leiteiras.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Os seguintes objetivos específicos foram definidos para possibilitar o alcance do objetivo geral:

- Selecionar as propriedades para o estudo e realizar visitas técnicas para conhecer as condições sanitárias e o manejo da produção leiteira no que se refere à mastite;
- Aplicar o teste de *Califónia Mastitis Test* (CMT) para identificar vacas com mastite subclínica;

- Coletar amostras de leite e realizar *swabs* de superfície dos tetos das vacas positivas no CMT;
- Capturar e isolar *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres) no ambiente de ordenha;
- Realizar o cultivo bacteriológico das amostras de leite, tetos e moscas-dos-chifres para isolamento de bactérias;
- Identificar morfolologicamente e bioquimicamente os microrganismos isolados das amostras de leite, de *swab* de teto e das moscas-dos-chifres;
- Avaliar a prevalência e associação das bactérias isoladas com os casos de mastite subclínica.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Localização e especificações

O experimento foi conduzido no município de Alegre, Espírito Santo (Figura 1), durante o terceiro trimestre de 2024, em duas propriedades leiteiras (Figura 2). Ambas utilizavam o sistema de ordenha mecânica do tipo balde ao pé.

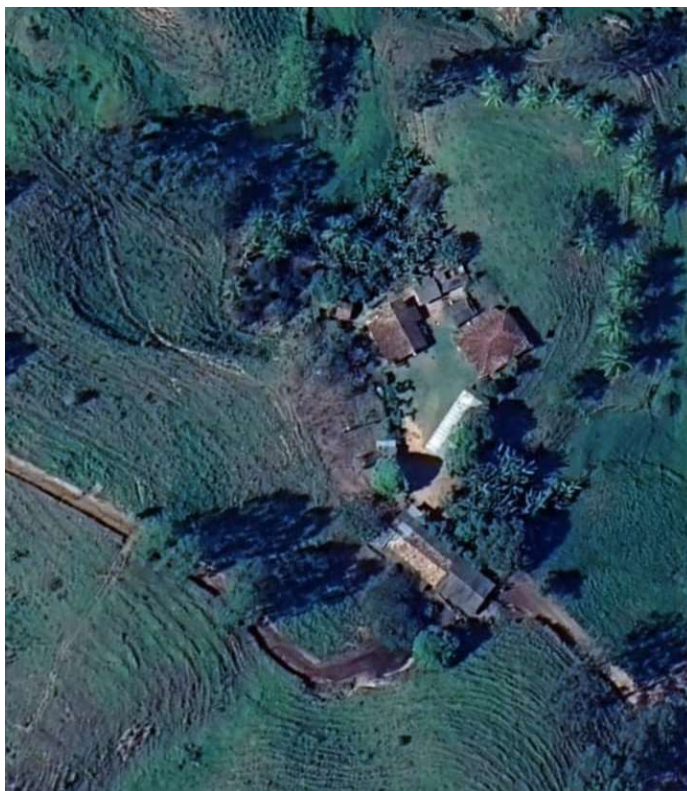
A Propriedade 1, localizada na comunidade de Flores de Aparecida, contava com 20 vacas em lactação no momento da coleta das amostras. Já a Propriedade 2, situada na região do Varjão do Norte, possuía 18 vacas em lactação (Figura 3).

**Figura 1.** Localização do município de Alegre - Espírito Santo, no cenário nacional.



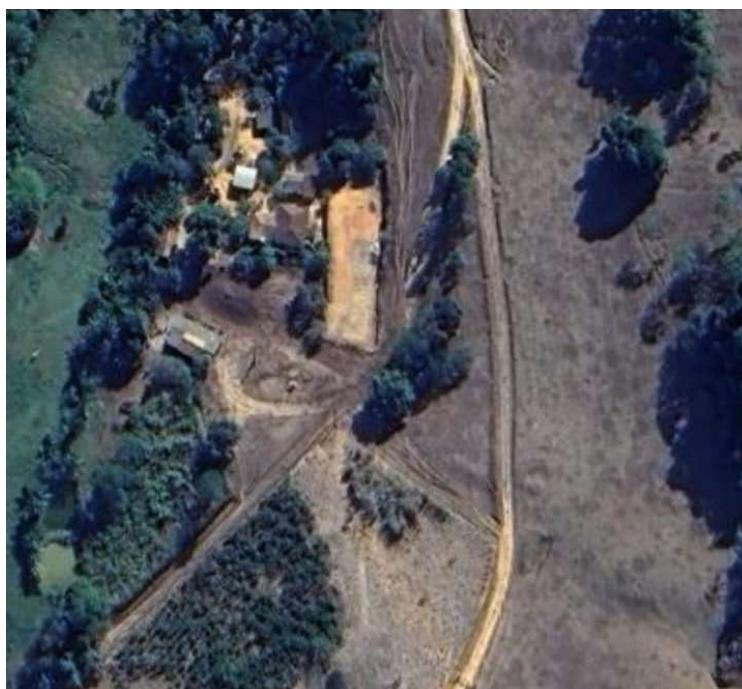
Fonte: Google Earth

**Figura 2.** Propriedade rural (1), localizada no município de Alegre-ES, na região de Flores de Aparecida.



Fonte: Google Earth

**Figura 3.** Propriedade rural (2), localizada no município de Alegre – ES, na região do Varjão do Norte.



Fonte: Google Earth

A pesquisa foi conduzida em conformidade com as diretrizes éticas para estudos envolvendo seres humanos e animais. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), sob o registro nº 060638/2023, CCAE 70252123.0.0000.8151. Os procedimentos envolvendo animais foram avaliados e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFES (CEUA/UFES), sob o protocolo nº 005/2022.

#### 4.2 Coleta do leite

De acordo com a rotina estabelecida pelas propriedades, não era realizado o manejo de pré-dipping nem de pós-dipping. Antes da ordenha, todos os animais em lactação foram submetidos ao teste de CMT (*California Mastitis Test*), conforme o protocolo descrito por Ferronato et al. (2018), ilustrado na Figura 4.

**Figura 4.** Vacas em lactação, CMT sendo realizado antes da ordenha.



Fonte: Produzida pelo autor

O resultado do CMT foi avaliado com base no grau de gelatinização observado na mistura composta por partes iguais de leite e reagente. A intensidade da gelatinização está diretamente relacionada à contagem de células somáticas no leite, conforme descrito por Massote (2019). Os resultados do teste foram classificados em cinco escores distintos, os quais estão detalhados na Tabela 1, representando diferentes níveis de infecção ou inflamação nos tecidos mamários.

**Tabela 1.** Interpretação do *Califónia Mastitis Test* (CMT).

<b>Interpretação</b>	<b>Reação</b>
Sem formação de gel	Negativa (-)
Ligeira precipitação	Traços (TR)
Formação de gel	Positiva fraca (+)
Gel mais espesso com mamilo central	Positiva (++)
Gel muito espesso aderido ao fundo da placa	Forte positiva (+++)

Fonte: RIBEIRO *et al.*, (2008).

Após a realização do teste de CMT, foram coletadas amostras de leite (10 mL) em frascos estéreis, exclusivamente dos quartos mamários que apresentaram resultados positivos para mastite subclínica (Figura 5). A coleta de leite foi realizada sem a utilização de *pré-dipping*, descartando-se os três primeiros jatos de leite de cada quarto mamário, como preconizado para evitar a contaminação das amostras. Imediatamente após a coleta, as amostras de leite foram acondicionadas em uma caixa térmica com gelo e encaminhadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), situado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, em Alegre – ES, Brasil, onde foram analisadas no prazo máximo de 24 horas.

As amostras foram repicadas nos meios de cultura Agar BHI, Agar MacConkey e Agar Manitol Vermelho de Fenol e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, as colônias resultantes foram analisadas quanto à forma, coloração, bordas e demais características fenotípicas. Posteriormente, as colônias foram submetidas a testes de identificação preliminar, incluindo a coloração de Gram, utilizada para avaliação das características morfológicas e tintoriais. A identificação das amostras prosseguiu de acordo com o gênero bacteriano isolado, por meio de testes bioquímicos específicos, prova da catalase e coagulase seguindo adaptações da metodologia descritas por Koneman *et al.*, (2001).

**Figura 5.** Coleta de 10mL de leite em tubo estéril do quarto mamário que apresentou CMT positivo.



Fonte: Produzida pelo autor

#### **4.3 Coleta com swab**

Após a identificação dos quartos mamários positivos para mastite subclínica no CMT, foi utilizado um *swab* estéril para coleta de amostras da superfície ao redor do óstio do teto (Figura 6).

**Figura 6.** Coleta de amostra com *swab* de superfície ao redor do óstio do teto no quarto mamário positivo para mastite subclínica.



Fonte: Produzida pelo autor

Após a coleta, os *swabs* foram cuidadosamente acondicionados em suas embalagens estéreis para evitar qualquer contaminação secundária, em seguida, encaminhados ao laboratório para análise microbiológica. As amostras foram semeadas em placas de Petri contendo meios de culturas, Agar BHI, Agar Sabouraud e Agar MacConkey, e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, as colônias resultantes foram analisadas quanto à forma, coloração, bordas e demais características fenotípicas.

Posteriormente, as colônias foram submetidas a testes de identificação preliminar, incluindo a coloração de Gram, utilizada para avaliação das características morfológicas e tintoriais. A identificação das amostras prosseguiu de acordo com o gênero bacteriano isolado, por meio de testes bioquímicos específicos, prova da catalase e coagulase. O isolamento e identificação bacteriana foram realizados adaptando-se a metodologia descrita por Koneman *et al.*, (2001).

#### **4.4 Coleta de moscas**

Foram coletadas doze moscas na primeira propriedade e dezesseis moscas na segunda propriedade, utilizando um puçá entomológico previamente desinfetado com álcool 70%, priorizou-se a captura de moscas que estavam em contato direto com os animais. As moscas coletadas foram cuidadosamente acondicionadas em um tubo de ensaio estéril e mantidas sob refrigeração até o momento de seu transporte para o laboratório.

No laboratório, as moscas foram imobilizadas por congelamento a -10°C e armazenadas individualmente em tubos de ensaio com meio de cultura BHI líquido, sendo cada tubo identificado como um exemplar único. Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados sob condições controladas, em capela de exaustão, e próximos ao bico de Bunsen, conforme ilustrado na (Figura 7), a fim de garantir a segurança e a integridade das amostras durante o processamento.

**Figura 7.** Isolamento, na capela de exaustão, no LIPOA, UFES, de mosca em meio de cultura para crescimento bacteriano.



Fonte: Produzida pelo autor

A identificação morfológica das moscas coletadas foi realizada com o auxílio de uma lupa estereoscópica, permitindo a observação da presença de palpos longos, característica típica da espécie *Haematobia irritans* (Linnaeus, 1758), popularmente conhecida como mosca-dos-chifres (Figura 8).

**Figura 8.** Identificação da mosca-do-chifre (*Haematobia irritans*), realizado no Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário, UFES.



Fonte: Produzido pelo autor

#### 4.5 Processo de isolamento e identificação das moscas

Cada mosca coletada foi transferida para um tubo de ensaio contendo caldo enriquecido Infuso de Cérebro Coração (BHI) e incubada em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas, para permitir o crescimento de microrganismos presentes nas amostras. Após o período de incubação, as amostras foram subcultivadas em diferentes meios de cultura, incluindo Agar BHI, Agar Sabouraud e Agar MacConkey (Figuras 9 e 10), para o isolamento e identificação de possíveis patógenos bacterianos e fúngicos.

Após o processo de semeadura, as moscas foram transferidas para outro tubo de ensaio contendo álcool 70%, onde permaneceram imersas por dois minutos para desinfecção. Posteriormente, as moscas foram encaminhadas para identificação taxonômica, utilizando os procedimentos padrão para análise entomológica.

**Figura 9.** Semeadura bacteriana da mosca, crescimento em meio de cultura após 24h de incubação em estufa.



Fonte: Produzida pelo autor

Após o período de incubação, as colônias bacterianas foram analisadas quanto a características fenotípicas, como forma, cor, bordas, textura e outras características distintas. Quando uma colônia predominante foi observada, ela foi selecionada para testes de identificação preliminar.

**Figura 10.** Crescimento microbiano, após sementeira com o *swab* do teto de vacas com mastite subclínica, na técnica de estrias em meio de cultura BHI, retirado da estufa depois de 24 horas a 37° C, no LIPOA, UFES.



Fonte: Produzida pelo autor

A primeira etapa da identificação consistiu na realização da coloração de *Gram*, um método clássico para observação das características morfológicas e tintoriais das bactérias, após este método utilizou - se um microscópio óptico com aumento de 100x e imersão em óleo (Figura 11). Esta análise permitiu a observação detalhada das características morfotintoriais das colônias bacterianas, auxiliando na diferenciação entre cocos e bacilos, diferenciando entre as bactérias *Gram*-positivas e *Gram*-negativas, fornecendo informações cruciais sobre a morfologia celular e auxiliando na identificação do gênero e/ou espécie bacteriana.

**Figura 11.** Realização de identificação das características morfológicas e tintoriais, através de um microscópio com lente de imersão 100x, sobre uma lâmina corada.



Fonte: Produzida pelo autor

Após a identificação preliminar por coloração de *Gram*, as colônias bacterianas foram submetidas ao teste de catalase, para a detecção da enzima catalase, que quebra o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. As colônias que apresentaram resultado positivo no teste de catalase foram então, submetidas ao teste de coagulase, visando identificar a presença da enzima coagulase, que é um fator importante para a diferenciação de espécies, como *Staphylococcus aureus*. Esses testes são fundamentais para a caracterização e identificação de patógenos bacterianos com relevância clínica.

#### **4.6 Processamento de dados e análises estatísticas**

Os dados foram processados e analisados por meio de técnicas estatísticas multivariadas, com o objetivo de identificar padrões e correlações entre as variáveis investigadas. Para isso, foi aplicada uma Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando os pacotes FactoMineR e FactoExtra. As variáveis incluídas na análise abrangeram a presença de microrganismos, os resultados dos testes bioquímicos, a origem das amostras e a localização nos tetos dos animais. Antes da aplicação da PCA, os dados foram padronizados pelo método Z-score, garantindo que todas as variáveis contribuíssem igualmente para a análise, eliminando a influência de escalas distintas.

A interpretação dos gráficos biplot gerados na PCA foi baseada nos ângulos entre os vetores, sendo que as correlações positivas foram representadas por ângulos próximos de zero grau, correlações negativas por ângulos de aproximadamente cento e oitenta graus e ausência de correlação por ângulos próximos de noventa graus. A magnitude dos vetores indicou a variabilidade explicada por cada variável, permitindo a identificação de padrões e relações entre as amostras analisadas.

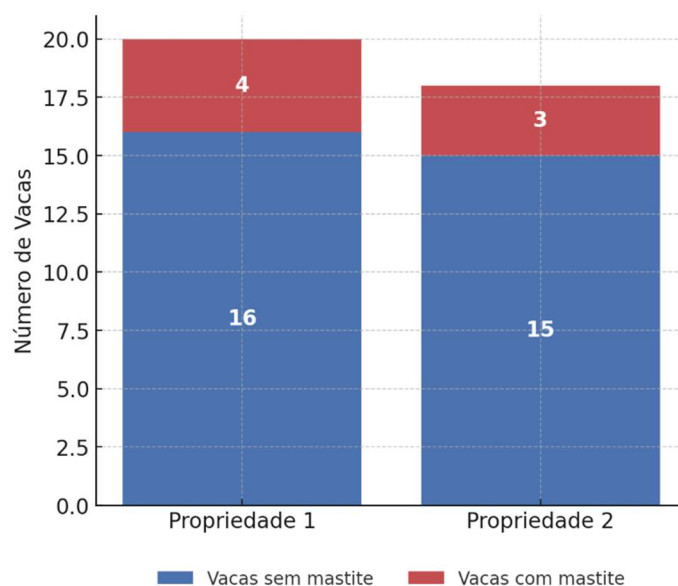
Além da PCA, foi realizada uma análise de agrupamento para verificar a similaridade entre as amostras e os microrganismos identificados. Para isso, utilizou-se o método de K-means, e a determinação do número ideal de clusters foi feita por meio do método do cotovelo (Elbow Method). A similaridade entre os grupos foi calculada com base na distância euclidiana, permitindo a separação das variáveis em clusters distintos. A visualização dos resultados foi realizada por meio de gráficos de dispersão, biplots e dendrogramas, gerados no software RStudio por meio dos pacotes ggplot2 e ggpubr. Essas análises possibilitaram a identificação de tendências

na distribuição das amostras e forneceram subsídios para a interpretação dos fatores que influenciam a presença dos micro-organismos nas propriedades avaliadas.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 12 apresenta a distribuição do número total de vacas e a proporção de animais acometidos por mastite subclínica em duas propriedades leiteiras avaliadas. O gráfico de barras empilhadas permite uma visualização clara da relação entre vacas saudáveis e aquelas diagnosticadas com mastite subclínica pelo California Mastitis Test (CMT).

**Figura 12.** Prevalência de mastite subclínica em duas propriedades leiteiras do município de Alegre-ES. Propriedade 1 localizada em Flores de Aparecida e propriedade 2 localizada em Varjão do Norte.



Na Propriedade 1, das 20 vacas avaliadas, 4 (20%) foram diagnosticadas com mastite subclínica, enquanto as demais 16 (80%) permaneceram saudáveis. Enquanto na Propriedade 2, dos 18 animais analisados, 3 (17%) apresentaram mastite subclínica, enquanto 15 (83%) não demonstraram alterações no teste.

A taxa média de mastite subclínica observada neste estudo foi de 18,4%, valor semelhante ao descrito por Santos, Mendonça e Muniz (2020), que encontraram uma prevalência de 20,6% em rebanhos leiteiros, com base na avaliação de 608 vacas distribuídas em 28 propriedades no interior do estado de Rondônia. Resultados

próximos também foram reportados por Santos et al. (2022), que identificaram uma prevalência média de 20,5% em vacas da raça Holandesa, no estado de Minas Gerais.

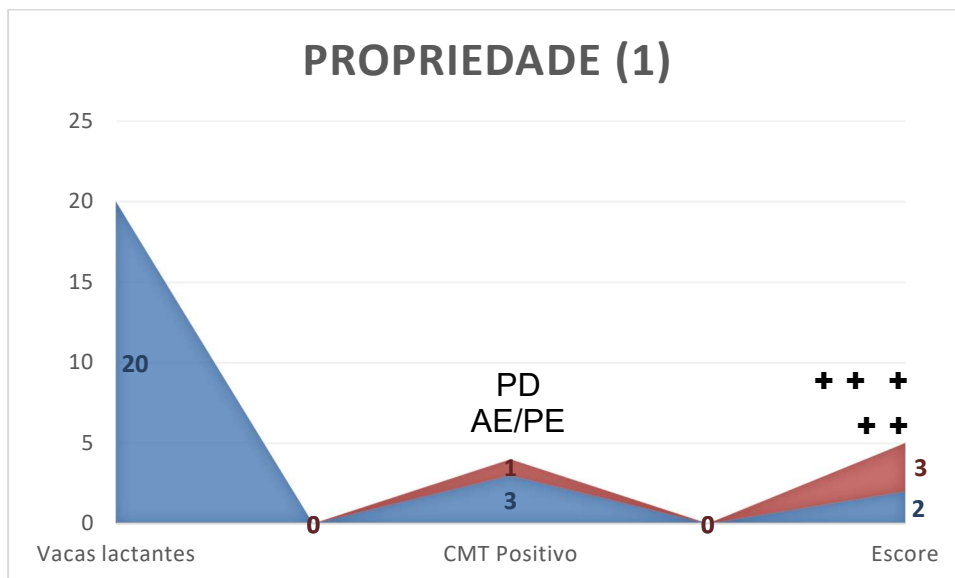
Esses resultados sugerem que a taxa observada na presente pesquisa pode ser considerada moderada, indicando práticas de manejo relativamente eficazes nas propriedades estudadas, embora ainda existam oportunidades para melhorias. A mastite subclínica, apesar de não manifestar sinais clínicos aparentes, representa uma preocupação relevante devido ao impacto negativo na produção de leite e ao aumento da Contagem de Células Somáticas (CCS), comprometendo a qualidade do leite produzido (ALVES; CUNHA; ARAÚJO, 2017).

Massote *et al.*, (2019) relataram que propriedades que implementaram técnicas de controle higiênico mais rigoroso apresentaram diminuição significativa na incidência de mastite subclínica. Dessa forma, intervenções adicionais nas propriedades avaliadas podem contribuir para a redução dessa taxa e a melhoria da qualidade do leite produzido, medidas preventivas durante a ordenha e o monitoramento contínuo da saúde do rebanho, são estratégias eficazes para reduzir essa prevalência (SHARMA *et al.*, 2018).

Avaliando a Figura 13, pode-se observar que a distribuição dos casos de mastite subclínica nos quartos mamários apresenta padrão específico entre os animais avaliados. Os quartos mais acometidos foram o anterior esquerdo (AE) e os posteriores esquerdos (PE) e direitos (PD), com dois casos positivos em cada um. Os escores do California Mastitis Test (CMT) variaram entre "++" e "+++", indicando diferentes graus de infecção.

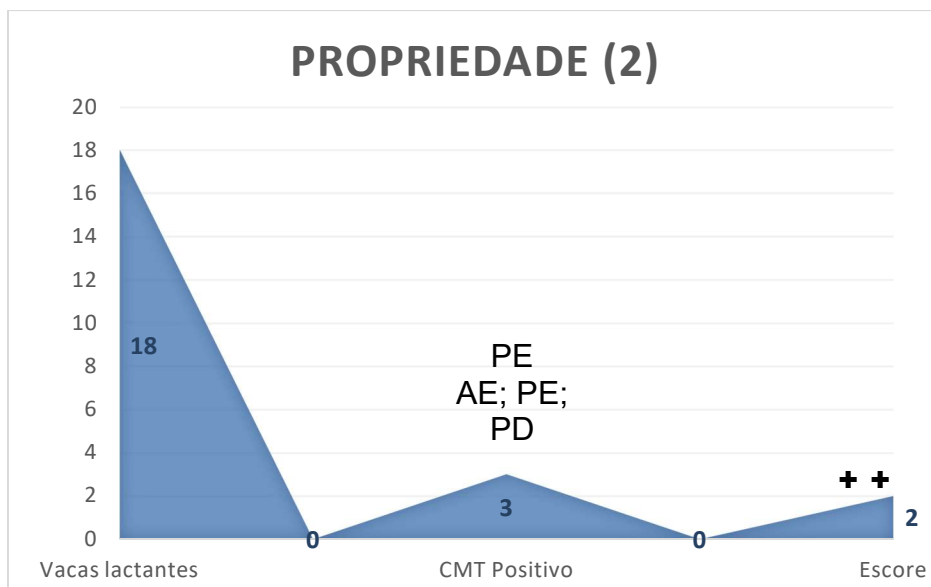
Os dados da Propriedade 2 revelam uma situação semelhante à da Propriedade 1, porém com algumas diferenças na distribuição dos quartos mamários acometidos. No total, 18 vacas foram avaliadas, das quais três apresentaram mastite subclínica (Figura 14).

**Figura 13.** Identificação dos quartos mamários afetados e escores do CMT nos animais avaliados.



Legenda: Quartos mamários Anterior Esquerdo (AE) e Direito (AD), e Posterior Esquerdo (PE) e Direito (PD). Escore do California Mastitis Test (CMT): "-" (Negativo); "++" (Moderado); "+++" (Grave).

**Figura 14.** Identificação dos quartos mamários afetados e escores do CMT nos animais avaliados.



Legenda: Quartos mamários Anterior Esquerdo (AE) e Direito (AD), e Posterior Esquerdo (PE) e Direito (PD). Escore do California Mastitis Test (CMT): "-" (Negativo); "++" (Moderado); "+++" (Grave).

A infecção foi detectada principalmente nos quartos mamários Anterior Esquerdo (AE), Posterior Esquerdo (PE) e Posterior Direito (PD), com escores médios

variando entre "++" e "+++", sugerindo casos moderados a graves de mastite subclínica.

A distribuição dos escores do CMT reforça a hipótese de que fatores de manejo, higiene e características anatômicas dos animais influenciam a maior incidência de mastite subclínica em determinados quartos mamários. Assim como observado na Propriedade 1, os quartos (AE e AD), por estarem mais próximos ao solo, apresentam maior risco de contaminação ambiental, conforme descrito por Cunha *et al.*, (2008).

Lange (2017) enfatiza que falhas na higiene da ordenha aumentam o risco de infecção, sobretudo em quartos mamários de difícil higienização. O quarto anterior esquerdo (AE), por exemplo, pode ser menos acessível durante a ordenha manual, resultando em esvaziamento incompleto da glândula mamária e acúmulo de leite residual, criando ambiente favorável ao crescimento bacteriano (LANGONI *et al.*, 2011).

Os valores de escore do CMT observados neste estudo são semelhantes aos relatados por Cruz (2018), que analisou a prevalência de mastite subclínica em rebanhos leiteiros no município de Lagarto-SE, evidenciando que a doença continua sendo um desafio sanitário relevante e que estratégias preventivas eficazes são essenciais para minimizar sua ocorrência.

A relação entre ambiente, manejo e prevalência da mastite subclínica reforça a necessidade da adoção de protocolos de higiene padronizados e do monitoramento contínuo da saúde do rebanho. Além disso, a identificação precoce dos casos positivos pode auxiliar na adoção de medidas corretivas, como: melhorias no manejo da ordenha, uso de desinfetantes para tetos, e ajustes na rotina de limpeza dos equipamentos (VLIEGHER; OHNSTAD; PIEPERS, 2018).

O ambiente também influencia diretamente a ocorrência da mastite, demonstraram que bactérias causadoras de mastite são frequentemente isoladas em fezes, urina, água e outros materiais do ambiente (LANGONI *et al.*, 2017; RUEGG, 2017). O que aumenta a exposição dos quartos mamários (AE e AD) à contaminação e contribui para o desenvolvimento da infecção, dessa forma, a análise combinada dos dados das duas propriedades evidencia que a mastite subclínica não ocorre de maneira aleatória, mas sim está fortemente associada a fatores de manejo e higiene. E neste sentido, a adoção de medidas preventivas rigorosas e o controle sanitário mais eficiente são essenciais para reduzir as perdas produtivas e melhorar a qualidade do leite produzido (KIBEBEW, 2017).

### 5.1 Análise do leite coletado e análise do swab de superfície

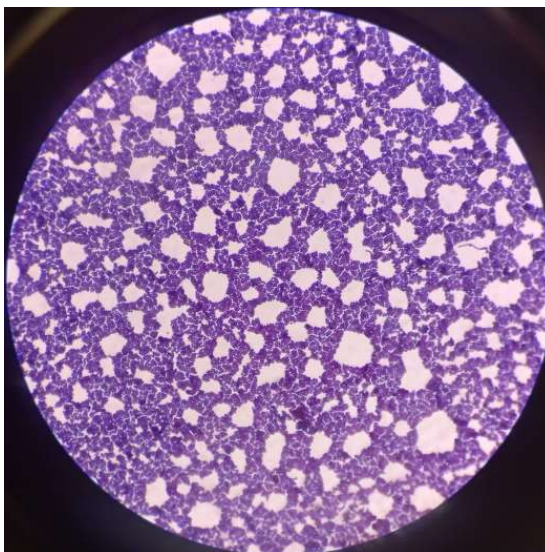
Os resultados obtidos nas duas propriedades foram agrupados na Tabela 2, que apresenta os tetos infectados de cada vaca, os meios de cultura utilizados para o crescimento bacteriano, a pré-identificação microscópica, e os testes bioquímicos realizados, incluindo catalase e coagulase para diferenciação de agentes bacterianos.

**Tabela 2.** Resultados das análises do leite coletado e do swab de superfície de teto, dos animais com mastite subclínica.

Animal	Propriedade	Quarto mamário	Meio	Identificação	Catalase	Coagulase	Agente
1	1	AE/PE	BHI	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			SB	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			MC	Cocos	-	-	<i>Streptococcus</i> spp.
2	1	AE/PE	BHI	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			SB	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			MC	Cocos	-	-	<i>Streptococcus</i> spp.
3	1	PD	BHI	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			SB	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			MC	Cocos	-	-	<i>Streptococcus</i> spp.
4	1	PD	BHI	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			SB	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			MC	Cocos	-	-	<i>Streptococcus</i> spp.
1	2	PE	BHI	Cocos	+	-	<i>Staphylococcus</i> spp.
			SB	Cocos	+	-	<i>Staphylococcus</i> spp.
			MC	Cocos	+	-	<i>Staphylococcus</i> spp.
2	2	AE/PE	BHI	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			SB	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
			MC	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
3	2	PD	BHI	Cocos	+	-	<i>Staphylococcus</i> spp.
			SB	Cocos	+	-	<i>Staphylococcus</i> spp.
			MC	Cocos	+	-	<i>Staphylococcus</i> spp.

Legenda: Quarto Mamário Anterior Esquerdo (AE). Posterior Esquerdo; (PE) – Quarto Mamário Anterior Direito (AD). Posterior Direito PD – Agar Infusão Cérebro Coração (Brain Heart Infusion - BHI); SB – Agar Sabouraud (meio seletivo para fungos e leveduras); MC – Agar MacConkey (meio seletivo para bactérias Gram-negativas).

**Figura 15.** Lâmina corada de Estafilococos no aumento de 100x em microscópio óptico, avaliação por meio da coloração e morfologia, realizado no LIPOA, UFES.



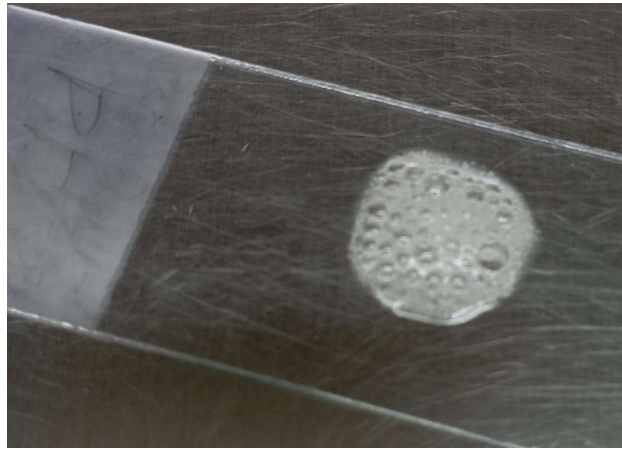
Fonte: Produzida pelo autor

Todas as colônias de *S. aureus* apresentaram resultado positivo para catalase e coagulase, confirmando sua patogenicidade e potencial impacto na saúde do rebanho. Os isolados classificados como *Staphylococcus* spp. foram coagulase negativos, sugerindo a presença de estafilococos coagulase-negativos (ECN). *Staphylococcus aureus* destaca-se como um dos principais patógenos causadores da mastite subclínica em bovinos (SILVA et al., 2012).

Os resultados indicam que *S. aureus* foi o agente predominante nas amostras da Propriedade 1, sendo identificado tanto no leite quanto nos *swabs* de superfície dos tetos. Na propriedade 2, além da presença de *S. aureus*, houve a identificação de *Staphylococcus* spp. em algumas amostras, enquanto *Streptococcus* spp. foi encontrado exclusivamente na Propriedade 1.

Nas análises laboratoriais, observou-se que, nos meios de cultura BHI e SB, as colônias predominantes foram identificadas como *S. aureus*, com resultado positivo no teste de catalase (Figuras 16), seguido do teste de coagulase (Figuras 17). Em contraste, no meio de cultura MacConkey (MC), as colônias apresentaram características compatíveis com *Streptococcus* spp., gênero frequentemente associado a mastites clínicas e subclínicas, além de infecções de origem ambiental e contagiosa (MASSOTE et al., 2019).

**Figura 16.** Teste de catalase da bactéria com identificação positiva, realizado no LIPOA, UFES.



Fonte: Produzida pelo autor

**Figura 17.** Teste de coagulase da bactéria com identificação positiva, realizado no LIPOA, UFES.



Fonte: Produzida pelo autor

Das amostras isoladas de *Staphylococcus aureus*, coagulase positiva, foi encontrado uma média de (28,9%) em relação aos dois rebanhos analisados das 2 propriedades do estudo. Corroborando com estudo, Sandini; Beuron (2019), selecionaram propriedades leiteiras da região do extremo oeste de Santa Catarina, coletaram amostras de bovinos em lactação com mastite clínica e subclínica, onde isolou estafilococos coagulase positiva de 84 vacas, (28,9%) como *Staphylococcus aureus*.

Bandoch; Melo (2010) confirma que *S. aureus* é o principal agente patogênico envolvido na mastite bovina, sendo responsável por infecções persistentes que podem evoluir para quadros crônicos, reduzindo significativamente a produção de leite e tornando o tratamento mais difícil. Caracuschanski et al. (2022) avaliaram a ocorrência de *S. aureus* em amostras de leite de vacas com mastite subclínica provenientes de 53 vacas em lactação na cidade de São Carlos, SP, identificando a bactéria em 13,2% (n=22) das amostras, corroborando os achados do presente estudo. Além disso, Melo et al. (2012) também isolaram *S. aureus* a partir de leite bovino de quartos mamários com mastite subclínica, destacando que a adesão dessa bactéria ao epitélio mamário representa um ponto crítico na patogênese da doença.

A relação entre os achados microbiológicos deste estudo e as evidências descritas na literatura reforça a importância do diagnóstico microbiológico como ferramenta essencial para a identificação precoce dos agentes etiológicos da mastite subclínica. A confirmação da presença de *S. aureus* e *Streptococcus* spp. nos rebanhos estudados evidencia a necessidade de medidas preventivas rigorosas, como boas práticas de higiene durante a ordenha, monitoramento microbiológico contínuo para detecção precoce, e uso de estratégias de controle da transmissão bacteriana entre os animais.

## **5.2 Análise microbiológica das moscas**

Os resultados obtidos na análise microbiológica das moscas-dos-chifres encontram-se apresentados na Tabela 3.

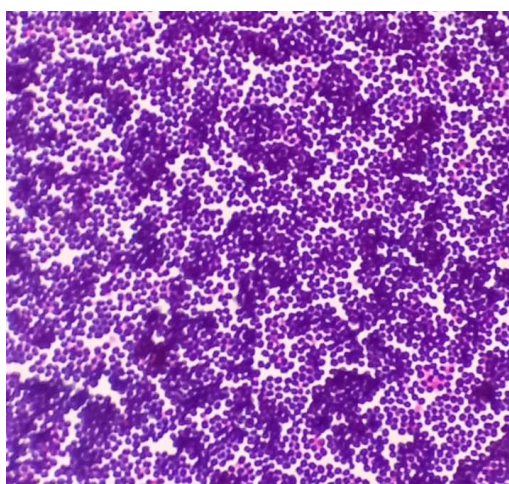
A análise microscópica das superfícies de mosca revelou a presença predominante de cocos Gram-positivos em amostras cultivadas nos meios BHI e SB, indicando o provável isolamento de *Staphylococcus* spp. O teste de catalase e coagulase apresentou resultados positivos para alguns isolados (Tabela 3), confirmando a presença de *S. aureus*.

**Tabela 3.** Resultados da análise microbiológica das superfícies de moscas coletadas nas propriedades avaliadas.

Propriedade	Número de dípteros	Meio	Pré-Identificação	Catalase	Coagulase	Agente
1	4	BHI/SB	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
1	8	BHI/SB	Bacilo Gram Positivo e Negativo	-	-	Bacilo Gram + e -
1	7	MC	Não houve crescimento	-	-	-
1	5	MC	Bacilo Gram Negativo	-	-	Bacilo Gram -
2	7	BHI/SB	Cocos	+	+	<i>S. aureus</i>
2	9	BHI/SB	Cocos e Bacilos positivos	-	-	<i>Staphylococcus spp.</i> / Bacilo Gram +
2	16	MC	Bacilo Gram Positivo e Negativo	-	-	Bacilo Gram + e -

Legenda: BHI – Agar Infusão Cérebro Coração; SB – Agar Sabouraud; MC – Agar MacConkey.

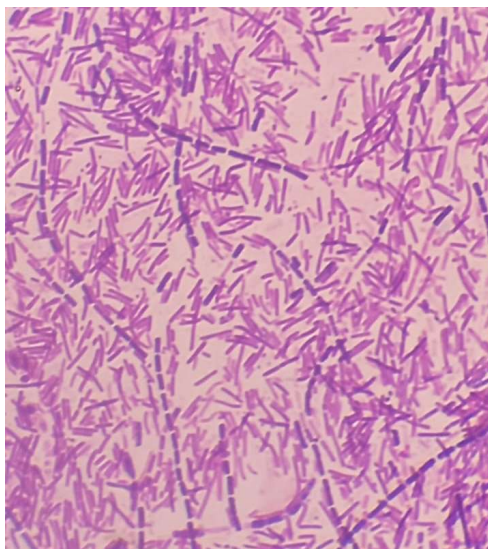
**Figura 18.** Lâmina corada identificando Cocos positivo no aumento de 100x no microscópio óptico com lente de imersão, avaliado através da coloração e morfologia.



Fonte: Produzida pelo autor

Nas demais amostras cultivadas em meio MacConkey (MC), foram isolados bacilos Gram-negativos, com características compatíveis com enterobactérias (Figura 19). No entanto, em algumas amostras não houve crescimento bacteriano, o que pode estar relacionado à baixa carga microbiana transportada por determinados insetos.

**Figura 19.** Bacillus Gram Positivos e Gram negativos na lâmina corada no aumento de 100x em microscópio óptico com lente de imersão.



Fonte: Produzida pelo autor

Os testes bioquímicos realizados demonstraram que as colônias identificadas como *S. aureus* foram catalase e coagulase positivas, confirmando a patogenicidade desse agente e seu potencial impacto na saúde do rebanho. Enquanto os isolados classificados como *Staphylococcus* spp. foram coagulase negativos, indicando a presença de estafilococos coagulase-negativos (ECN), que, embora considerados microbiota oportunista, podem atuar como agentes infecciosos em determinadas condições.

Embora os dados específicos sobre a capacidade da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) de atuar como vetor de agentes patogênicos da mastite subclínica sejam escassos na literatura, Castro (2008) demonstrou que a mosca-de-estábulo (*Stomoxys calcitrans*) pode veicular bactérias associadas à mastite bovina. A identificação de *S. aureus* e *Streptococcus* spp. nas superfícies das moscas reforça a necessidade de medidas de controle sanitário rigoroso, incluindo: monitoramento da população de moscas nos sistemas produtivos, uso de estratégias de controle biológico e químico contra infestações, higienização adequada do ambiente e dos equipamentos de ordenha, e implementação de medidas preventivas para evitar a transmissão de patógenos entre os animais.

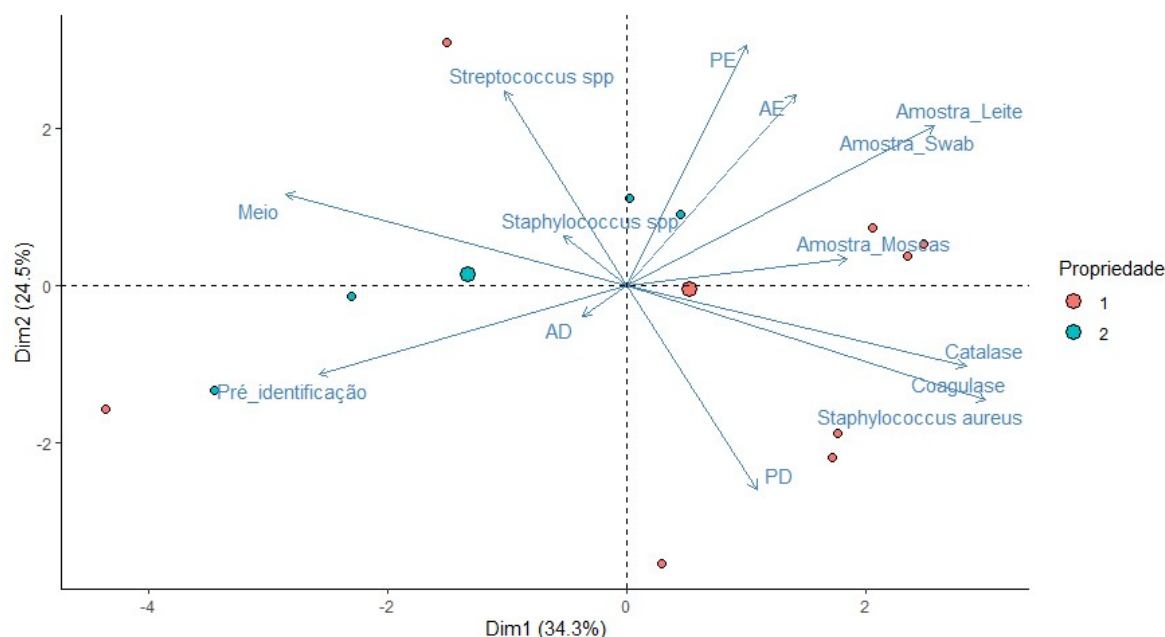
Dessa forma, os resultados obtidos neste estudo evidenciam que vetores hematófagos podem desempenhar papel relevante na disseminação de patógenos dentro dos sistemas leiteiros, contribuindo para a propagação de agentes causadores

da mastite subclínica e, conseqüentemente, impactando a qualidade e produtividade do leite.

### 5.3 Análise dos Componentes Principais e agrupamento das variáveis na contaminação por mastite subclínica

A análise de componentes principais (PCA) permitiu visualizar as relações entre as variáveis associadas às amostras coletadas e os agentes microbiológicos identificados (Figura 20). Observou-se uma distribuição diferenciada entre as amostras provenientes das propriedades 1 e 2, sugerindo a existência de fatores ambientais ou práticas de manejo distintas que podem influenciar a composição microbiana do leite e dos tetos dos animais.

**Figura 20.** Análise de Componentes Principais (PCA) das variáveis associadas às amostras microbiológicas coletadas nas propriedades avaliadas.



Legenda: Quartos mamários Anterior Esquerdo (AE) e Anterior Direito (AD), Posterior Esquerdo (PE), Anterior Direito (AD).

Os dados revelam uma separação entre as propriedades, indicando diferenças microbiológicas relevantes entre elas (Figura 20). A Propriedade 1 apresenta maior dispersão no gráfico, sugerindo uma maior variabilidade nas amostras coletadas e uma diversidade de agentes envolvidos na mastite subclínica. Por outro lado, a

Propriedade 2 apresenta menor dispersão, indicando um perfil mais homogêneo entre suas amostras.

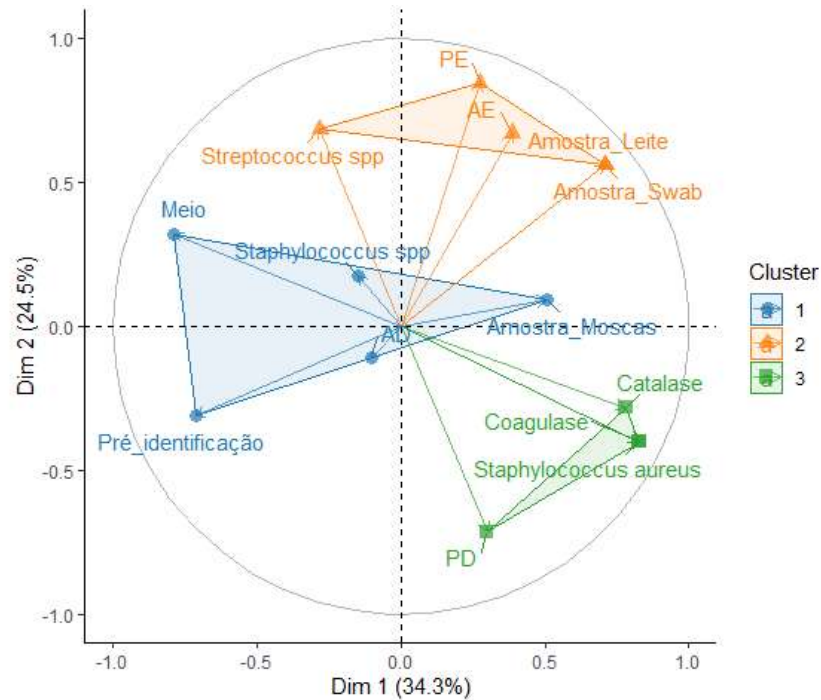
Os vetores que representam as variáveis indicam padrões de associação entre os microrganismos e suas possíveis fontes de contaminação. Na Propriedade 1, observa-se forte correlação entre *S. aureus*, coagulase e catalase, o que indica que esse patógeno pode ser um dos principais causadores da mastite subclínica nessa propriedade. Além disso, a proximidade da variável "Amostra Moscas" com *Staphylococcus* spp. sugere que as moscas podem estar atuando como vetores mecânicos na disseminação do microrganismo no ambiente de ordenha. Esse achado reforça a necessidade de controle rigoroso da população de insetos para minimizar o risco de infecção cruzada entre os animais.

Na Propriedade 2, a análise indica associação mais forte entre *Streptococcus* spp., amostras de leite e *swab*. Esse padrão sugere que a principal fonte de contaminação pode estar relacionada à ordenha e à higiene inadequada dos equipamentos e das mãos dos ordenhadores. Como *Streptococcus* spp. é um patógeno clássico da mastite contagiosa, sua presença nesse grupo de variáveis pode indicar falhas na desinfecção das teteiras ou no manejo higiênico antes e depois da ordenha (SALINA et al., 2017).

Para complementar a análise, foi realizada a clusterização das variáveis, evidenciando três agrupamentos principais (Figura 21). Como todas as amostras analisadas apresentaram resultado positivo para mastite subclínica, a interpretação desses agrupamentos permite inferir possíveis fontes de contaminação e rotas de disseminação dos patógenos envolvidos na infecção.

O primeiro grupo de variáveis (Cluster 1 – azul) inclui *Staphylococcus* spp., meio de cultura e amostras de moscas, sugerindo que esses insetos podem atuar como vetores mecânicos na transmissão de bactérias para os animais. Moscas frequentemente pousam sobre feridas, secreções mamárias e superfícies contaminadas, podendo transportar microrganismos patogênicos, como *Staphylococcus* spp., de um animal para outro ou para o ambiente da ordenha (BERTOLINI, 2022). Esse achado reforça a necessidade de controle sanitário rigoroso para moscas a fim de reduzir sua contribuição na disseminação da mastite subclínica.

**Figura 21.** Clusterização das variáveis microbiológicas identificadas nas amostras de leite, *swab* e moscas coletadas nas propriedades estudadas.



Legenda: Quartos mamários Anterior Esquerdo (AE) e Anterior Direito (AD), Posterior Esquerdo (PE), Anterior Direito (AD).

O segundo grupo de variáveis (Cluster 2 – laranja) apresenta forte associação entre *Streptococcus spp.*, amostras de leite e *swab*, além dos quartos mamários AE (anterior esquerdo) e PE (Posterior esquerdo). Esse padrão sugere que a principal via de contaminação desses microrganismos pode estar associada à ordenha e ao contato direto com o ambiente de manejo, como *Streptococcus spp.* é um patógeno classicamente associado à mastite contagiosa, sua presença nesses locais pode indicar falhas na higienização das mãos dos ordenhadores, equipamentos de ordenha e superfícies de contato (KIBEBEW, 2017). Além disso, a proximidade entre os quartos AE e PE sugere que esses setores do úbere podem estar sendo mais afetados, possivelmente devido ao ambiente contaminado, ao comportamento das vacas deitar-se do lado esquerdo nesses ambientes, oferece mais condições de infecções em ambos quartos leiteiros e um padrão de ordenha sem desinfecção favorece a transmissão do patógeno. Van Erp-van der Kooij et al. (2019) em seu estudo observou que no pasto, as vacas preferem deitar-se sobre o lado esquerdo.

O terceiro grupo de variáveis (Cluster 3 – verde) agrupa *S. aureus*, catalase, coagulase e o quarto mamário PD (posterior direito), confirmando a identidade desse

microrganismo como agente patogênico importante na mastite. *S. aureus* é altamente resistente ao tratamento antimicrobiano, frequentemente evoluindo para infecções crônicas e de difícil erradicação (CAMPOS et al., 2022). Sua associação com o quarto PD pode indicar uma maior predisposição dessa região à infecção ou um manejo diferenciado durante a ordenha, que favorece a disseminação do patógeno entre os animais.

Diante desses resultados, torna-se essencial a implementação de campanhas de conscientização para produtores, incentivando a adoção de medidas preventivas eficazes para o controle da mastite subclínica e a garantia da qualidade do leite. A continuidade das pesquisas sobre a interação entre moscas e patógenos é fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias de manejo, promovendo a sustentabilidade e a eficiência da produção leiteira.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo evidenciam que *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres) desempenha papel crucial como vetor de agentes bacterianos associados à mastite subclínica em vacas de leite, representando um fator epidemiológico significativo para a produção leiteira.

As análises microbiológicas das moscas revelaram a presença de bacilos Gram-positivos e Gram-negativos, demonstrando a complexidade das interações entre os vetores e os agentes patogênicos presentes no ambiente de ordenha.

Já, a presença de *Staphylococcus aureus* como principal patógeno identificado nas moscas, amostras de leite e superfícies dos tetos reforça a hipótese de que esses insetos contribuem para a disseminação de infecções intramamárias, tornando o controle da população de moscas uma estratégia essencial na mitigação da doença.

## 7 REFERÊNCIAS

AITKEN, Stacey L. *et al.* Immunopathology of mastitis: insights into disease recognition and resolution. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 16, n. 4, p. 291-304, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9230-4>. Acesso em: 21 jan. 2025.

ALMEIDA, Josaine Leila *et al.* **Papel de dípteros muscóides como potenciais vetores de agentes bacterianos em fazendas de leite da região norte do Paraná.** Dissertação (Mestrado) – Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2013.

ALVES, Bruna Gomes; DA SILVA, Thiago Henrique; IGARASI, Maurício Scoton. Manejo de ordenha. **Pubvet**, v. 7, p. 420-548, 2013.

ALVES, Maicon Lucas Souza; CUNHA, Walter Vieira; ARAÚJO, Maria Rejane Borges. Estudo comparativo entre os testes CCS, CMT e microbiológico para o diagnóstico de mastite subclínica. **Perquirere**, v. 14, n. 2, p. 12-18, 2017.

ARSENOPOULOS, Konstantinos *et al.* Fly repellency using deltamethrin may reduce intramammary infections of dairy cows under intensive management. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 61, p. 16-23, 2018.

AZEVEDO, Danielle Maria Machado Ribeiro; ALVES, Arnaud Azevedo; SALES, Ronaldo de Oliveira. Principais ecto e endoparasitas que acometem bovinos leiteiros no Brasil: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 4, p. 43-55, 2008.

BANDOCH, Pollyana; DE MELO, Luciane de Souza. Prevalência de mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: uma revisão bibliográfica. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 17, n. 1, p. 47-51, 2010.

BARAITAREANU, Stelian; VIDU, Livia. Dairy farms biosecurity to protect against infectious diseases and antibiotics overuse. In: **Antimicrobial Resistance-A One Health Perspective**. IntechOpen, 2020.

BATES, D.; MÄCHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1-48, 2015.

BENEDETTE, M. F. *et al.* Mastite bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 7, n. 11, p. 1-5, 2008.

BERTOLINI, Amanda Bezerra *et al.* Prevalence of pathogens related to bovine mastitis, identified by mass spectrometry in flies (Insecta, Diptera) captured in a milking environment. **Letters in Applied Microbiology**, v. 75, n. 5, p. 1232-1245, 2022.

BOIREAU, Clémence *et al.* Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France, 2006–2016. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9451-9462, 2018

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO –

MAPA do Leite. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite>. Acesso em: 10 set. 2023.

BREWER, Gary J. *et al.* Horn fly (Diptera: Muscidae)—biology, management, and future research directions. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 12, n. 1, p. 42, 2021.

BRITO, J. R. F.; BRESSAN, M., eds. Controle integrado da mastite bovina. Juiz de Fora: **EMBRAPA-CNPGL**, 1996.

BRITO, Luciana Gatto *et al.* Manual de identificação, importância e manutenção de colônias estoque de dípteros de interesse veterinário em laboratório. **Embrapa Rondônia. Documentos**, v. 125, 2008.

CAMPOS, João Victor Ferreira *et al.* Aspectos relacionados com a etiologia da mastite bovina: uma revisão de literatura: Uma revisão de literatura. **Conexão Ciência (Online)**, v. 18, n. 3, p. 71-88, 2023.

CARACUSCHANSKI, Fernando David *et al.* Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em leite de vacas com mastite subclínica. In: **1º Congresso de Segurança e Qualidade dos Alimentos**. 2022.

CARDOZO, Gina Maria Bueno Quirino. **Avaliação de *Musca domestica* como vetor mecânico de microrganismos patogênicos em queijo minas frescal**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos 2007.

CERQUEIRA, Mônica Maria Oliveira Pinho *et al.* Mastite em novilhas: importância e controle. **Ciência Animal Brasileira/Brazilian Animal Science**, 2009.

COSTA, Geraldo Márcio da *et al.* Resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite em bovinos leiteiros de Minas Gerais, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, p. 297-302, 2013.

COENTRÃO, C. M. *et al.* Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 283-288, 2008.

CORREA, Laura. ESTEFANOFILARIOSE EM VACAS LACTANTES: REVISÃO. **Nucleus Animalium**, v. 13, n. 2, 2021.

CRUZ, S. O. **Saúde da glândula mamária e qualidade do leite em rebanhos bovinos leiteiros no município de Lagarto-SE**. . Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) — Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2018.

CUNHA, R. P. L. *et al.* Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 19-24, 2008.

DA COSTA, Roberto Alves; DA SILVA, Priscila Loire; DE MELO, Soryana Gonçalves

Ferreira. REDUÇÃO DA PRODUTIVIDADE LEITEIRA NO BRASIL, EM MINAS GERAIS E NO MUNICÍPIO DE JOÃO PINHEIRO–MG. **Revista Contemporânea**, v. 3, n. 11, p. 22560-22592, 2023.

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

DA FONSECA, Maria Eduarda Barbosa et al. Mastite bovina: revisão. **Pubvet**, v. 15, p. 162, 2020.

DA SILVA, Raphael Steinberg et al. **Caracterização da microbiota da glândula mamária bovina saudável e com mastite subclínica e seleção de bactérias potencialmente probióticas isoladas deste ecossistema**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas 2016.

DE ARAÚJO ABREU, Vinícius Barroso *et al.* Mastite e condição corporal de vacas mestiças leiteiras sob diferentes níveis tecnológicos de produção. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 11, n. 3, p. 255-262, 2013.

DE FREITAS BUENO, Rodrigo. Comparação entre biodigestores operados em escala piloto para produção de biogás alimentado com estrume bovino. **Holos Environment**, v. 10, n. 1, p. 111-125, 2010.

DE SOUZA, ANTONIO P. *et al.* Variação sazonal de *Haematobia irritans* no planalto catarinense e eficiência do “Controle Dirigido”. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 1, p. 11-15, 2005.

DE SOUZA, Eziel Gois; BERTONCELLO, Alexandre Godinho. Conscientização das perdas econômicas decorrentes da mastite em gado leiteiro. **Revista Alomorfia**, v. 5, n. 2, p. 312-330, 2021.

DE SOUZA, Hâmara Milaneze *et al.* Termografia infravermelha aplicada ao diagnóstico de mastite subclínica. **Ciência Animal**, v. 32, n. 2, p. 101-109, 2022.

DIAS, Juliana Alves; PAIVA, Maria Aparecida Vasconcelos; DE SOUZA, Brito Guilherme Nunes. **Mastite: Epidemiologia e controle**. 2020. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1126175>. Acesso em: 22 nov. 2023.

DIGIOVANI, Douglas Bega. **Termografia infravermelha como ferramenta diagnóstica para detecção da mastite subclínica bovina**. 2014. Dissertação (Mestrado) – Centro de Pesquisa em Ciências Agrárias.

DO BRASIL, Governo. Mastite bovina: controle e prevenção. **Boletim Técnico-n.º**, v. 93, p. 1-30, 2012.

FERREIRA, Barbara Helena Alves; RIBEIRO, Laryssa Freitas. Mastites causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Streptococcus uberis* relacionadas ao sistema de produção Compost Barn e o impacto na qualidade do leite. **Revista GeTeC**, v. 11, n.

35, 2022.

FERRONATTO, José A. *et al.* Diagnosing mastitis in early lactation: use of somatic cell count, California mastitis test and somatic cell count. **Italian Journal Of Animal Science**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 723-729, 18 jan. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1828051x.2018.1426394>.

FRANCO, Alicia Chafado *et al.* Princípios da biossegurança e sua implementação na bovinocultura leiteira. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e65101421625, 2021.

GIRMA, Abayeneh; TAMIR, Dessalew. Prevalence of bovine mastitis and its associated risk factors among dairy cows in Ethiopia during 2005-2022: a systematic review and meta-analysis. **Veterinary Medicine International**, v. 2022, p. 7775197, 17 set. 2022.

GONÇALVES, Juliana Alencar. **Metilação global genômica relacionada à resistência parasitária em bovinos**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas. 2020

HAXHIAJ, Klevis; WISHART, David S.; AMETAJ, Burim N. Mastitis: what it is, current diagnostics, and the potential of metabolomics to identify new predictive biomarkers. **Dairy**, v. 3, n. 4, p. 722-746, 2022.

HENRIQUE, Joyce Costa; OLIVEIRA, Leandro Divino Miranda de; NUNES, Eloisa Lages. Análise da cadeia agroindustrial do leite. **Revista Brasileira de Pesquisas Agrícolas**, v. 1, n. 2, p. 2, 2020.

HUSSON, F.; JOSSE, J.; LE, S.; MAZET, J. **Package ‘FactoMineR’**. An R package, v. 96, p. 698, 2017.

**INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE**. Pesquisa da Pecuária Municipal: resultados 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?edicao=41350>. Acesso em: 22 dez. 2024.

JUNQUEIRA, Nathália Brancato; LANGONI, Hélio. Aspectos gerais sobre a mastite bovina causada por *Mycoplasma* spp. **Veterinária e Ciência Animal**, v. 23, n. 3, p. 356-364, 2016.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. **Package factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses**. R Package Version 1.0.7., 2020.

KEEFE, Greg. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 28, n. 2, p. 203-216, 2012.

KIBEBEW, Kinfu. Bovine mastitis: a review of the causes and the epidemiological point of view. **Journal of Biology, Agriculture and Health**, v. 7, n. 2, p. 1-14, 2017.

KONEMAN, E. W. et al. Diagnóstico Microbiológico, **Editora Médica e Científica** Ltda. RJ. 1465p, 2001.

LANGE, Maichel J. *et al.* Tipologia de manejo de ordenha: análise de fatores de risco para a mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1205-1212, 2017.

LANGONI, Hélio *et al.* Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 1059-1065, 2011.

LANGONI, Helio *et al.* Considerações sobre o tratamento das mastites. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1261-1269, nov. 2017.

LEMES, Bruna Cardoso *et al.* METODOLOGIA E MANEJO REPRODUTIVO APLICADO EM BOVINOS LEITEIROS. **Revista Agroveterinária do Sul de Minas-ISSN: 2674-9661**, v. 4, n. 1, p. 153-172, 2022.

LENTH, R. *emmeans*: **Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means**. R Package Version 1.5.4., 2021.

LUCCA, Emerson Juliano; AREND, Silvio Cezar. A pecuária leiteira e o desenvolvimento da Região Noroeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Desenvolvimento Regional**, v. 7, n. 3, p. 107–142, 2020. DOI: 10.7867/2317-5443.2019v7n3p107-142.

MABONI, Grazieli et al. Differences in the antimicrobial susceptibility profiles of *Moraxella bovis*, *M. bovoculi* and *M. ovis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 545-549, 2015.

MARQUES, Renata Pereira *et al.* Flutuação populacional de mosca-dos-chifres tratadas e não-tratadas com inseticidas em Cassilândia-MS. **Agrarian**, v. 1, n. 1, p. 117-132, 2008.

MASSOTE, Vitória Pereira *et al.* Diagnóstico e controle de mastite bovina: uma revisão de literatura. **Revista Agroveterinária do Sul de Minas-ISSN: 2674-9661**, v. 1, n. 1, p. 41-54, 2019.

MELO, P. de C. *et al.* Análise fenotípica e molecular da produção de biofilmes por estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos de mastite subclínica bovina. **EMBRAPA**. 2012.

MELLO, Dario Fernando Milanez de. **Saúde e bem-estar de vacas leiteiras: ênfase em mastite e claudicação**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina 2021.

MENEGUSSO, Ivanice Rafaela. **Bem-estar animal na bovinocultura leiteira em diferentes sistemas de produção**. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) 2023.

MORAES, A. P. R. *et al.* Avaliação da capacidade de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) em carrear bactérias envolvidas nas etiologias das mastites de municípios do

Rio de Janeiro. **Rev Bras Parasitol Vet**, v. 13, n. 4, p. 143-149, 2004.

MORITZ, Fábio; MORITZ, Cristiane Mengue Feniman. Resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus* spp. associados à mastite bovina. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 3, n. 2, p. 132-136, 2016.

MÜLLER, Nicolás Felipe Drumm. **Atratividade de diferentes armadilhas luminosas para coleta de mosquitos (Diptera: Culicidae) e artrópodes não alvo em Cachoeirinha**. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Bacharelado em Ciências Biológicas 2019.

NATAL, Carolina Mota. **Derivados de compostos naturais com potencial aplicação como biopesticidas**. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Minho, Escola de Ciências 2021.

NICOLINO, Carlos Augusto Silva. **Controle quimioterápico da mosca *Stomoxys calcitrans* (Insecta: Muscidae)**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias 2014.

OLIVEIRA, Elisa Junqueira et al. Ocorrência da mastite clínica e fatores ambientais que favorecem sua incidência. **Boletim de Indústria Animal**, v. 70, n. 2, p. 132-139, 2013.

OLIVEIRA, W. A. **Soroprevalência de tripanossomíase, rinotraqueíte infecciosa bovina e diarreia viral bovina em bovinos com suspeita de *Trypanosoma vivax***. Dissertação (Mestrado) 2021.

PARRA, José Roberto Postali. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo. Barueri: Editora Manole, 2002. 635p.

PEGORARO, Lígia Margareth Cantarelli. A importância da biossegurança na bovinocultura leiteira. **9º Simpósio Brasil Sul de Bovinocultura de Leite**, p. 42-54, 2019.

PITELLI, Eduardo José. **Manta protetora bovina**. Tese de Doutorado. Universidade do Minho (Portugal). 2018.

PIORUNEK, Marcin *et al.* Lower respiratory infection in humans caused by *Pasteurella multocida*. **Respiratory physiology & neurobiology** vol. 315 (2023): 104091. doi:10.1016/j.resp.2023.104091

Polegatto, C. M., Nascimento, E. A., **A fauna de insetos da Mata Santa Tereza – Estação Ecológica de Ribeirão Preto, SP, 2019, 2ed.** 247 p. 1. Entomologia. 2. Zoologia. 3. História Natural.

RIBEIRO, Laryssa Freitas. **Fatores determinantes para a qualidade do leite e derivados** (Livro eletrônico). Editora: Fucamp. Monte Carmelo, MG 2021.

RIBEIRO, J.; OLIVEIRA, A.; CULLINAN, J.; O papel da educação e extensão agropecuária na influência das melhores práticas de manejo da mastite em bovinos

leiteiros. **Revista de Ensino e Extensão Agrícola**, v. 22, n. 3, p. 255-270, 2016.

RIBEIRO JÚNIOR, Edson *et al.* **California Mastitis Test (CMT) e whiteside como métodos de diagnóstico indireto da mastite subclínica**. 2008.

RIBEIRO, M. G. *et al.* Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 724-731, 2006.

RUEGG, Pamela L. A 100-year review: mastitis detection, management, and prevention. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10381-10397, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>. Acesso em: 05 dez. 2024.

SALAT, O. *et al.* Systemic treatment of subclinical mastitis in lactating cows with penethamate hydriodide. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 2, p. 632-640, 2008.

SALINA, Anelise *et al.* Importância da diferenciação dos *Streptococcus agalactiae* e não *agalactiae* nas mastites. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 1, p. 209-215, 2017.

SANTANA, Rafaelle Santos. **Mastite subclínica em vacas com diferentes proporções genotípicas Holandês-Gir**. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agrárias, Unidade Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Inovação e Tecnologia Integrada a Medicina Veterinária para o Desenvolvimento Regional, Universidade Federal de Alagoas, Viçosa, AL, 2018.

SANTOS, Beatriz de Pinho Coelho *et al.* UTILIZAÇÃO DO CALIFÓRNIA MASTITE TESTE PARA DIAGNÓSTICO DE MASTITE SUBCLÍNICA EM UM REBANHO LEITEIRO EM MINAS GERAIS DURANTE AS AULAS PRÁTICAS DE INSPEÇÃO DE LEITE: RELATO DE CASO. **Sinapse Múltipla**, v. 11, n. 1, p. 247-250, 2022.

SCHVARZ, Douglas Wilson; DOS SANTOS, José Maurício Gonçalves. Bovine mastitis in dairy herds: Occurrence and methods of control and prevention. **Journal of Agribusiness and Environment**, v. 5, n. 3, 2012.

SCHALM, O.W.; NORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.130, p. 199-204, 1957.

SHARMA, Neelesh *et al.* Pattern of occurrence of mastitis in dairy cows and importance of related risk factors in the occurrence of mastitis. **Journal of Animal Research**, v. 8, n. 2, p. 315-326, 2018.

SHARUN, Khan *et al.* Advances in therapeutic and management approaches for bovine mastitis: a comprehensive review. **Veterinary Quarterly**, v. 41, n. 1, p. 107-136, 2021.

SILVA, Claudia Bezerra da *et al.* Avaliação da utilização de Nim (*Azadirachta indica*) para o controle parasitário em bovinos de produção leiteira em sistema orgânico. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 47, p. 1-34, 2009.

SILVA, Elizabete Rodrigues da et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus aureus* isolado de mastite subclínica bovina. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, p. 701-711, 2012.

SILVA, Luciana Viero da; RUE, Mario Luiz de la; GRAÇA, Dominguita Lühers. Lesões da mosca dos chifres (*Haematobia irritans* Linnaeus, 1758) na pele de bovinos e impacto na indústria do couro. **Ciência Rural**, v. 32, p. 1039-1043, 2002.

SANDINI, Edna Paula; BEURON, Daniele Cristine. INCIDÊNCIA DE MASTITE BOVINA E PERFIL DE RESISTÊNCIA BACTERIANA DOS AGENTES CAUSADORES DETECTADOS NA REGIÃO OESTE CATARINENSE. **Seminário de Iniciação Científica e Seminário Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão (SIEPE)**, p. e22846-e22846, 2019.

TOMMASONI, Chiara et al. Mastite em bovinos leiteiros: diagnóstico na fazenda e perspectivas futuras. **Animais**, v. 13, n. 15, p. 2538, 2023.

VALADARES, A. **Agricultura e diversidades : trajetórias, desafios regionais e políticas públicas no Brasil** / Organizadores: Gesmar Rosa dos Santos e Rodrigo Peixoto da Silva – Rio de Janeiro : IPEA, 2022. 426 p.

VAN ERP-VAN DER KOOIJ, Elaine *et al.* Recumbent postures of dairy cows in cubicles and pastures. **Animals**, v. 9, n. 4, p. 183, 2019.

VIANNI, Maria CE; LÁZARO, Norma S. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativos, isoladas de mastite subclínica bubalina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, p. 47-51, 2003.

VLIEGHER, Sarne de; OHNSTAD, Ian; PIEPERS, Sofie. Management and prevention of mastitis: a multifactorial approach with a focus on milking, bedding and data-management. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 6, p. 1214-1233, jun. 2018.

WICKHAM, H.; CHANG, W.; WICKHAM, M. H. **Package 'ggplot2'**. Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. Version 2, p. 1-189, 2016.

ZANETI, Eduardo Aron de Oliveira. **Impacto da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) na pecuária leiteira: revisão bibliográfica**. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Estadual Paulista (Unesp), 2023.