

FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DO AUTO SÃO FRANCISCO

– FASF

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ALBERTO ALVES RODRIGUES

**EFEITOS DA SAZONALIDADE NA INCIDÊNCIA DE MICRO-ORGANISMOS NO
LEITE DE PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO DE LUZ - MG**

LUZ-MG

2021

ALBERTO ALVES RODRIGUES

**EFEITOS DA SAZONALIDADE NA INCIDÊNCIA DE MICRO-ORGANISMOS NO LEITE
DE PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO DE LUZ - MG**

Projeto de Monografia apresentado à
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras
do Alto São Francisco, como quesito
parcial da disciplina TCC I, curso de
Ciências Biológicas

Área de Concentração: microbiologia

Orientador: Maria Marli Pereira e Araújo
Coorientador: Adriano França da Cunha

LUZ - MG

2021

Rodrigues, Alberto Alves.

R696e Efeitos da sazonalidade na incidência de micro-organismo no
leite de propriedades do Município de Luz - MG. / Alberto Alves
Rodrigues. Luz – MG: FASF -- 2021.

29 f.

Orientadora: Prof^ª. Mes. Maria Marli Pereira de Araújo.

Monografia apresentada à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar o sopro da vida e a inteligência suficiente para chegar até aqui. Agradeço também aos meus colegas e amigos Jason Silva Oliveira e Matheus Oliveira Teixeira Silva, que se mantiveram ao meu lado dando apoio, força para continuar e a ajuda necessária para superar este obstáculo, como também tornar esta jornada em verdade a melhor fase da minha vida. Agradeço a minha ex colega de ensino médio Leticia de Cássia, que se dispôs a me ouvir e tentar me conduzir para melhor entender o que poderia ser feito. Agradeço a orientadora e coordenadora Maria Marli Pereira e Araújo, que se dispôs em meu auxílio para a criação e desenvolvimento desta monografia. Agradeço também a minha namorada Ramonielli Lorrane Lino, que esteve ao meu lado em meio a pandemia que causou diversos medos e angústias em todos nós, mas sempre me apoiando e me ajudando a ver melhor a verdade. Agradeço por também meus pais, que dispuseram tempo e também conforto apesar de não serem capazes de me orientar, porém sempre com palavras de conforto de rigidez quando necessário afim de me tornar a cada dia uma versão melhor de mim mesmo. Agradeço por último, mas não menos importante a aqueles amigos e familiares que estiveram sempre me dando apoio nem que fosse apenas me perguntando sobre o andamento do TCC, mas ainda sim estando em favor de ouvir e tentar compreender minhas angústias.

EPÍGRAFE

“CORAGEM, CORAGEM,
SE O QUE VOCÊ QUER É
AQUILO QUE VOCÊ PENSA E FAZ.
CORAGEM, EU SEI QUE VOCÊ PODE MAIS!”

RAUL SEIXAS

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo identificar o micro-organismo de maior incidência, correlacionando com períodos de sazonalidade, usando os dados do INMET, resultados de culturas do período de março de 2019 a fevereiro de 2021, realizadas por um laboratório de análises clínicas situado no município de Luz-Minas Gerais. Foram analisadas 280 amostras de março de 2019 a fevereiro de 2020 e 258 amostras de março de 2020 a fevereiro de 2021. Os dados foram submetidos à análise descritiva e à análise de regressão linear para avaliação da associação entre o número de culturas e porcentagem de culturas positivas com os parâmetros climáticos. Foi identificado como maior incidente o microrganismo *Streptococcus agalactiae*, causador de mastite contagiosa e também *Streptococcus uberis* e o *Escherichia coli* que são agentes causadores da mastite ambiental. O estudo não encontrou correlação entre sazonalidade e incidência de micro-organismos, provavelmente pelo fato de que no ano de 2020 houve escassez de chuvas. Sendo assim, o micro-organismo com maior relevância foi o *S. agalactiae* que não depende das chuvas para sua disseminação

PALAVRAS CHAVES: Sazonalidade, micro-organismos, incidência.

ABSTRACT

The present work aimed to identify the microorganism with the highest incidence, correlating with seasonal periods, using the data from INMET, the results of cultures from March 2019 to February 2021, carried out by a Laboratory of clinical analyzes located in the municipality of Luz-Minas Gerais. 280 exams were taken from March 2019 to February 2020 and 258 exams from March 2020 to February 2021, an acceptable amount, although small. The data was submitted to descriptive analysis and linear regression analysis to assess the correlation between the number of cultures and percentage of positive cultures with the climatic parameters. The microorganism *Streptococcus agalactiae* was identified as having the latest incident, being the cause of contagious mastitis as well as *Streptococcus uberis* and *Escherichia coli* which are causative agents of environmental mastitis. The present study did not find a correlation between seasonality and incidence of micro-organisms, probably due to the fact that in the year 2020 there was a shortage of rain. Thus, the microorganism with the greatest relevance was the *S. agalactiae*, which does not depend on rains for their dissemination.

KEYWORDS: Seasonality, micro-organisms, incidence

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Culturas realizadas no período de março de 2019 a fevereiro de 2020	10
Figura 2 - Culturas realizados no período de março de 2020 a fevereiro de 2021	11
Figura 3 - Parâmetros climáticos - 2019-2021.....	14

LISTA DE TABELA

TABELA 1 - Número de culturas totais, positivas e negativas - 2019 a 2021	11
TABELA 2 - Micro-organismos isolados e identificados em culturas - 2019 a 2021	12
TABELA 3 - Associação entre número de culturas e porcentagem de culturas positivas com os parâmetros climáticos	13

LISTA DE SIGLAS

UFC	Unidades Formadoras de Colônias
CS	Células Somáticas
PIB	Produto Interno Bruto
EPI	Equipamento de Proteção Individual
CCS	Contagem de Células Somáticas
CBT	Contagem de Bactérias Totais
S.	<i>Streptococcus</i>
ML	Mililitros
MM	Milímetros
URA	Umidade Relativa do Ar
Plu	Pluviosidade
TA	Temperatura

Sumário

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Justificativa	1
1.2 Problema	2
1.3 Hipótese	2
1.4 Objetivo	2
1.4.1 Objetivo geral	2
1.4.2 Objetivos específicos	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Qualidade do leite	3
2.2 Produção do leite no Brasil	4
2.3 Mastite	5
2.5 Sazonalidade	8
2.6 Efeito da sazonalidade na incidência de micro-organismos no leite	8
3 METODOLOGIA	9
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
5 CONCLUSÃO	15
6 REFERENCIA BIBLIOGRAFIA	16

1 INTRODUÇÃO

O leite é um importante alimento presente na maioria das casas do Brasil, o que já é esperado pelo fato do nosso país ser um dos maiores produtores leiteiros do mundo, posição esta, de terceiro lugar no ranking mundial, que o leva a uma preocupação maior quanto a produção de leite com qualidade.

No entanto, mesmo com uma alta produção, tendo em 2014 atingido a marca dos 35,1 bilhões de litros produzidos, decaindo em 2018 para a marca de 33,8 bilhões de litros, embora o Brasil não seja um grande exportador, há uma significativa taxa de importação devido ao epicentro de produção ser encontrado nas regiões sul e sudeste. Atualmente nesta ordem de produção, Minas Gerais liderando o ranking de produção estadual, seguido pelo Paraná e o Rio Grande do Sul em terceiro (Rocha et., al 2020).

No início da pandemia da Covid-19 em 2020, o volume de leite disponível no Brasil foi de 734,08 milhões de litros superior a 2019 com aumento de 2,8%. A produção interna foi de 70%, enquanto 30% resultou da importação líquida de lácteos, correspondente à diferença entre o volume importado menos o exportado. Houve um crescimento de 23,6%, nas importações atingindo 1,34 bilhão de litros, enquanto as exportações não superaram 100,65 milhões de litros. Neste sentido, houve um adicional na produção doméstica de 1,246 bilhão de litros, que foi disponibilizado para o consumo dos brasileiros (EMBRAPA, 2021)

Para melhor controle o leite é monitorado, evitando a perda de qualidade independente de fatores externos; como seca, chuva, frio e calor. Além destes fatores climáticos a forma com que o animal é tratado causa alterações quando se trata da qualidade do leite, com isso um meio de definir essa qualidade é por meio de teste clínicos, como culturas.

Para compreender como são os parâmetros de qualidade microbiológica foi realizado um levantamento de resultado das culturas de amostras analisadas por um laboratório de análises clínicas da cidade de Luz-MG , após isto, compilado para visualizar uma possível mudança de comportamento de acordo com a sazonalidade, já que atualmente há um comprometimento por parte dos produtores de impedir a perda de qualidade para que não haja interferência no valor recebido pelo litro de leite ou mesmo, que não seja coletado o produto.

1.1 Justificativa

O agronegócio brasileiro recebe um grande impulso em virtude da produção leiteira, o que impacta positivamente no aspecto socioeconômico. Pois, além de gerar emprego e renda é também suprimento alimentar para a população.

Porém, o leite ao longo do ano pode sofrer alteração na qualidade pela forma de tratar e guiar o animal, a temperatura, sazonalidade, presença de micro-organismos, o que alteram drasticamente os parâmetros que definem esta qualidade. Neste sentido, faz-se necessário a realização de estudos visando entender essa alteração e possíveis ações profiláticas, evitando déficit nessa qualidade por causas que são evitáveis.

1.2 Problema

A incidência de doenças em vacas produtoras de leite, como a mastite, está diretamente relacionada a fatores ambientais e climáticos.

Assim, a questão principal a ser respondida será diferentes estações do ano interferem no atendimento aos padrões microbiológicos legais do leite?

1.3 Hipótese

A contaminação do leite pode originar-se nas deficiências de procedimentos de higiene, do fornecimento da água de qualidade insatisfatória e quadros de mastite.

Neste contexto, o leite analisado estaria com alto índice de contaminação e haveria uma relação com a sazonalidade.

1.4 Objetivo

1.4.1 Objetivo geral

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a incidência de micro-organismos no leite individual, por meio do levantamento dos resultados de culturas realizadas em um laboratório particular, no período de março de 2019 a fevereiro de 2021.

1.4.2 Objetivos específicos

Avaliar a influência da sazonalidade na incidência de micro-organismos no leite analisado;

Verificar o micro-organismo de maior incidência.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Qualidade do leite

Segundo normativa 76 de 2018 leite cru refrigerado é o leite produzido em propriedades rurais, refrigerado e destinado aos estabelecimentos de leite e derivados sob serviço de inspeção oficial. Leite cru refrigerado não deve apresentar substâncias estranhas à sua composição, tais como agentes inibidores do crescimento microbiano, neutralizantes da acidez e reconstituintes da densidade ou do índice crioscópico. Quando refrigerado de tanque individual ou de uso comunitário deve apresentar médias geométricas trimestrais de Contagem Padrão em Placas de no máximo 300.000 UFC/mL e de Contagem de Células Somáticas de no máximo 500.000 CS/mL. Deve apresentar limite máximo para Contagem Padrão em Placas de até 900.000 UFC/mL antes do seu processamento no estabelecimento beneficiador. É proibido o uso de aditivos ou coadjuvantes de tecnologia (BRASIL, 2018).

É comum ver salas de ordenha sujas e mal cuidadas, o que é algo extremamente perigoso devido aos dejetos dos animais, uma sala de ordenha mal cuidada gera um déficit na qualidade do leite e conseqüentemente seus derivados (ZEFERINO et al., 2017).

Na qualidade, correlacionado ao leite cru brasileiro, há elevada contaminação por coliformes totais e termotolerantes, podendo evidenciar a contaminação no momento da ordenha e armazenamento. Pode-se encontrar micro-organismos denominados psicrotóxicos, que tem ação deteriorante e são capazes de produzir enzimas, que irão comprometer a qualidade do leite, são relacionados ao leite evidenciando uma higienização inadequada durante a produção e também do armazenamento. Devido a composição do leite, durante o armazenamento, se não controlado adequadamente, ocorrerá a multiplicação destes micro-organismos, que podem causar diminuição da vida útil do leite. Contudo, os mesmos, possuem uma margem de aceitação que não levarão a diminuição na qualidade (SILVA, 2019).

A qualidade do leite pode ser diagnosticada por meio de uma cultura, que verifica a presença de micro-organismos infectantes do úbere do animal e conseqüentemente o leite. O gênero *mycoplasma*, possui aproximadamente 200 espécies que causam a mastite nos bovinos e também podem causar outras manifestações como artrite e pneumonia em bezerras e novilhas, sendo assim considerado um dos maiores causadores de doenças respiratórias em bovinos jovens e afeta também a produção do leite (SALINA et al., 2019).

É muito discutido as formas de manipulação do animal, para que seja alcançada uma alta produtividade, mas com qualidade. Porém, os produtores tendem a se preocupar verdadeiramente com essa qualidade quando estão em períodos tranquilos, ao entrar em crise a alimentação é o primeiro ponto a se sacrificar, por imaginar que é um gasto de dinheiro, optando por alimentos mais baratos, porém com qualidade inferior. No entanto, com pequenas alterações e padronização da rotina de trabalho haverá um ganho na produção e conseqüentemente na qualidade do leite (MARTINS et al., 2016).

2.2 Produção do leite no Brasil

O Brasil é o terceiro maior país com vacas em lactação sendo o sexto como produtor de leite tendo uma produção crescente de 2,3% de 2005 até o atual ano de 2021 havendo uma pequena variação de até 1,5%,. Posição que contribui para o aumento de emprego e ajuda no crescimento do país. Para garantir a qualidade do leite, faz-se necessário realizar a inspeção, nas esferas federal, estadual e municipal (MINAS GERAIS, 2021).

Porém, na produção de leite há diversos fatores os quais são considerados limitantes para a progressão produtiva do leite com maior eficiência. Imagina-se que ao menos um desses fatores são relacionados ao baixo conhecimento por parte dos produtores, devido à complexidade. Por esse motivo é muitas vezes necessária uma orientação da assistência técnica, sendo assim, um fator determinante na progressão ou regressão do aumento na produtividade (GOMES et al., 2018).

A atividade leiteira vem se destacando ao longo dos anos, como um segmento eficaz para fornecer alimentação no âmbito nacional e global, que proporciona mais empregos e renda, aumentando também o produto interno bruto (PIB) em vários países os tornando mais independentes. Mas a produtividade e a qualidade do leite são variáveis influenciadas pela forma de ordenhar os animais; pastagem; a distância que o gado percorre até a ordenha; saúde do animal e fatores climáticos (PAIXÃO et al., 2018).

É perceptível a importância da atividade leiteira para o país em diversos aspectos, mas atualmente vivendo em meio a uma pandemia, certos cuidados devem ser tomados pelo produtor, para evitar a infecção durante o transporte, prevenindo o contágio pelo vírus da COVID-19 entre os trabalhadores, com a medida de distanciamento social (PEGORARO et al., 2020).

Sendo assim, não é recomendado a divisão de locais fechado como as salas de ordenha, deve-se trabalhar apenas uma pessoa, principalmente quando há fosso ou rampa para a suspensão do animal por se tratar de locais pequenos sem área para o distanciamento. Se o local permitir, pode haver uma separação por ordenha permitindo a presença de duas pessoas, mas nesses casos é indispensável o uso dos EPIs normais que são essenciais para a qualidade na produção do leite e além destes EPIs (avental, luvas e botas de borracha) deve-se usar a máscara, mantendo a produção e protegendo os trabalhadores (PEGORARO et al., 2020).

2.3 Mastite

Caracteriza-se a mastite por meio da inflamação que ocorre na glândula mamária, na qual as bactérias são as maiores causadoras de tal infecção, são muito recorrentes em locais com higiene inadequada, que cria um ambiente propício a reprodução destes micro-organismos. Além disto, podem causar uma queda na qualidade do leite, possuindo certos agravantes como o ambiente e manuseio inadequado, que irá gerar um aumento na contagem de células somáticas destes animais. Ainda que tenha acontecido uma grande evolução tecnológica a mastite se mantém muito presente na produção do leite, tendo *Staphylococcus aureus* como maior culpado pela mastite que se encontra nas fazendas (BRAZ, 2020).

Por se tratar de uma infecção no úbere, a mastite, que é um dos maiores problemas que se encontra no rebanho leiteiro, está diretamente ligado a produção e qualidade do leite, além da baixa qualidade e produção. O maior desafio que se tem é a medida terapêutica para a prevenção da mastite e até a disponibilidade de drogas que podem ser utilizadas na prevenção (RIBEIRO et al., 2014).

A mastite é uma doença que causa uma queda na qualidade do leite, mas não só a doença é causadora dessa diminuição na qualidade, durante o período de tratamento devido ao uso de antibióticos pode haver uma redução na produção, que pode estar ligado ao estresse que o tratamento causa no animal gerando uma diminuição do apetite que resulta na diminuição de da produção de leite, sendo, portanto, necessário avaliação afim de descobrir qual o micro-organismo para tratamento específico, reduzindo assim gastos desnecessários. Pois, no caso de

ser um patógeno Gram-positivo faz-se o uso medicamentoso de antibióticos intramamário. Uma vez que o uso indiscriminado de antibióticos, faz com que as bactérias presentes nos humanos possam gerar resistência contra estes antimicrobianos por não se diferenciar do uso animal (MACEDO; CORTINHAS; SANTOS, 2013).

Neste sentido, é importante conhecer a classificação da mastite, que quanto a apresentação clínica no animal é classificada de forma clínica que é visível a olho nu, com sintomas como sinais de infecção do úbere aumento da temperatura, endurecimento, edema, mudança da cor do leite e do úbere, cheiro e consistência do leite como grumos (SÁ et al., 2018). E subclínica, forma que não apresenta sinais clínicos, somente consideráveis alterações na composição do leite, como aumento nos valores de CCS (Contagem de Células Somáticas) de 400.000 a 700.000 CCS são os parâmetros para um animal com mastite, geralmente passando despercebida pelo produtor. Já quanto a forma de transmissão do agente etiológico a mastite pode ser contagiosa ou ambiental (SERPA, 2020).

Mastite contagiosa é transmitida de uma vaca contaminada para uma vaca saudável, por intermédio de utensílios e ou mãos do ordenhador, não higienizados adequadamente, causando assim a disseminação da bactéria dentro do rebanho o que inevitavelmente elevará a incidência de mastite subclínica com aumento das CCS e casos de cronicidade. A mastite crônica é uma infecção que perdura por mais de 3 meses. Já a mastite ambiental encontra-se no meio de convívio do animal e o contágio se dá pelo contato com o ambiente contaminado, geralmente se manifesta de forma clínica, causando uma infecção aguda, de curta duração, com febre, perda de apetite, queda brusca do leite entre outros (BERNARDES, 2020).

2.4 Principais micro-organismos responsáveis pela mastite

Os principais micro-organismos responsáveis pela mastite contagiosa estão presentes na pele e canal dos tetos, adaptam-se ao ambiente intramamário e são *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma spp*, *Corynebacterium bovis* e *Streptococcus dysgalactiae*. Sua transmissão se dá durante a ordenha (MELO et al., 2020; SANTOS e FONSECA, 2019).

Por outro lado, os agentes ambientais são oportunistas e transitórios, pois não se adaptam à glândula mamária, se instalam em locais de convívio da vaca, alojamentos e cama, principalmente com umidade e acúmulo de matéria orgânica, causando a contaminação em situações em que o animal está com uma imunidade debilitada, gerando assim a mastite clínica, os principais agentes patológicos são *Escherichia coli*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, denominados Coliformes. E os denominados estreptococcus

ambientais, *S. uberis*, *S. dysgalactiae*, *S. canis*, *Enterococcus spp.*, *Lactococcus spp.*, além de fungos e leveduras (SERPA, 2020; CHENG, 2020; SANTOS e FONSECA, 2019).

No entanto, podem ocorrer a adaptação ao ambiente intramamário, de certos patógenos como *Staphylococcus* coagulase negativos, *Klebsiella spp* e *S. dysgalactiae*, o que pode levar a uma infecção persistente podendo ser transmitido no processo de ordenha. Neste caso estará atuando como patógenos contagiosos (PEREZ e ZAPPA, 2011; RUEGG, et al. 2012).

Diante o exposto, foi criado metodologias para a prevenção destas formas de contaminação sendo denominadas pré e pós dipping. A técnica consiste na higienização do teto da vaca com imersão em uma solução desinfetante própria para finalizar o processo, antes e após a ordenha. (SILVA et al., 2019).

A prática do pré dipping tem a função de evitar a contaminação intramamária, consequentemente a redução da contagem de CCS, agindo assim contra a mastite ambiental e a contagiosa. Já o pós dipping tem o intuito de combater e controlar a mastite contagiosa (GONSALES, 2021)

Dentre os gêneros de micro-organismos causadores da mastite, o gênero *Staphylococcus* é considerado um dos principais agentes na veterinária; é Gram-positivo, imóvel, de metabolismo anaeróbio facultativo, oxidase-negativa e catalase-positiva. A diferenciação de espécies dentro do gênero é realizada através da síntese de coagulase. Sendo *Staphylococcus aureus* bactéria de ação catalase e coagulase positiva, já o a gente *Staphylococcus agalactiae* possui a ação de catalase negativa (ZAWADZKI, 2016; QUINN et al, 2018).

Outro gênero muito comum é o *Streptococcus* sendo eles classificados como cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, imóveis e de catalase-negativa. Diferenciam-se em relação a hemólise, no agrupamento de lancefield e de teste feito por meios bioquímicos. Os estreptococos têm uma produção de alfa-hemólise, possuindo uma menor taxa de patogenia em relação aos beta-hemolíticos. No gênero, se encontra as seguintes espécies: *Streptococcus agalactiae*, causador de mastite crônica; *Streptococcus dysgalactiae* causador de mastite aguda; *Streptococcus uberis* causador de mastite ambiental (ZAWADZKI, 2016).

Na família Enterobacteriaceae encontram-se a espécie *Escherichia coli* um fermentador de lactose, tem uma estrutura composta por uma capsula (que pode ter até 80 antígenos diferentes), membrana externa, flagelos peritríqueos, antígenos e adesinas que se enquadra no aspecto de patógeno principal dentro do interesse veterinário, patógenos oportunistas que são *Klebsiella spp.* e o *Enterobacter spp.* que possuem mecanismos que as auxiliam sobreviver nos tecidos do hospedeiro, uma cápsula que auxilia na inibição da fagocitose, adesinas que são mais comum em bactérias que hospedam no trato urinário, sideróforos que permite a sobrevivência

em meio ao limite do ferro e endotoxinas que são causadoras de efeitos tóxicos (ZAWADZKI, 2016).

2.5 Sazonalidade

As estações podem impactar na composição e qualidade do leite, por serem os marcos na diferença de temperatura, chuvas e produção, levando assim os produtores a fazerem um planejamento da produção e alimentação do animal, que influencia diretamente na qualidade e quantidade produzida naquele período respectivo (SOUZA et al., 2018).

É certo afirmar que o Brasil, por sua localização se faça um país muito propício a eventos naturais, contudo há certas limitações de períodos favoráveis para determinadas produções, denominado sazonalidade que é a variação de temperatura e chuva em certos períodos do ano, isto se dá devido ao clima do país, denominado tropical, com fases anuais de seca e de chuvas, sendo o inverno sem chuvas e o verão chuvoso (OLIVEIRA, 2021).

A temperatura do ar causa uma variância mais forte nos períodos vespertinos, por haver uma necessidade maior de adaptação da temperatura corporal do animal, o que causa um estresse inevitável, desde que não haja um equipamento para aquecimento ou resfriamento do ambiente, para fazer com que o conforto térmico seja reestabelecido no animal (NASCIMENTO et al, 2017).

Mensalmente, em laboratório especializado, é realizada uma avaliação referente aos parâmetros higiênico-sanitários, por meio da contagem de células somática e contagem de bactérias totais, nos períodos de chuva e de seca, pois o período chuvoso pode influenciar nos resultados das análises, tendo em vista a projeção da possível perda de qualidade neste período do ano, quando não há a prevenção de forma eficaz (BALDUINO et al., 2019).

2.6 Efeito da sazonalidade na incidência de micro-organismos no leite

Dentre tantos fatores que fazem a qualidade e a produção do leite variar, existe a sazonalidade, que é a mudança climática causada pela mudança nas estações do ano, ao estimar as CCS, gordura, proteína, lactose e sólidos totais observa-se que tal mudança climática gera alteração fisiológica no animal (SOUZA et al., 2018).

Tendo em vista que o leite é um produto muito consumido e igualmente perecível criou-se um meio de proteger o consumidor, por meio de uma normativa que estabelece um padrão

de qualidade que necessariamente deve ser seguido, quando se busca a proteção aos clientes/consumidores. Assim, deve se controlar a contagem de bactérias totais encontradas no leite cru refrigerado que possui grande variação de acordo com o período do ano, seja ele seco ou chuvoso, o que requer uma cautela adaptativa ao período no qual o leite foi manuseado (QUEIROZ et al., 2019).

A produção de leite é umas das principais fontes de rendas e suporte de várias famílias que se encontram na zona rural do país, pelo fato de ser um produto que pode ser produzido ao longo de todo ano. Há procura por animais melhorados geneticamente com o intuito de maior volume produzido, mas tais animais podem não atender ao tripe de produção, alimentação, manejo e genética, pela interferência climática de acordo com estações do ano, gerando um possível desconforto ao animal e provavelmente uma alteração na contagem das células somáticas (BELLI; DE; DE CURSO, 2017).

Dentro dos termos da qualidade do leite existem vários meios de se identificar um leite de qualidade como exame de CCS, parâmetros físico-químicos, entre outros, mas para isso existem situações que beneficiam ou degradam essa qualidade, como a higiene do local de trabalho, o estresse que o animal sofre ao ser manejado com estresse, as estações do ano, o período de lactação são alguns pontos que podem ser um problema ou então uma ajuda na melhora da qualidade, em acordo com esses parâmetros pode-se observar certas mudanças fisiológicas no leite como um aumento ou uma baixa nos teores de proteína e gordura, somente com a mudança do local em que as vacas são manuseadas (SOUZA et al., 2018).

Com o avanço tecnológico a indústria do leite vem buscando valorizar, mais aqueles produtores que possuem melhor qualidade do leite, sendo que na maioria das vezes quando se tem uma melhora na qualidade, acaba por aumentar a quantidade produzida em virtude das boas práticas de manejo como a sanidade do ambiente de trabalho (WEBER et al., 2018).

3 METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido em um laboratório particular situado no município de Luz, Minas Gerais. Utilizou como base, os arquivos do laboratório para o levantamento dos resultados das culturas de leite cru, por animal, realizadas no período de março de 2019 a fevereiro de 2021.

A coleta foi realizada manualmente no momento da ordenha, após a desinfecção do teto com um algodão embebido em álcool, foram desprezados os três primeiros jatos de leite e

coletado diretamente no coletor esterilizado. O material foi acondicionado em caixa térmica contendo gelo e encaminhado ao laboratório.

No momento da semeadura, após atingir a temperatura ambiente, a mostra foi inoculada no meio cromogênico na placa de Petri com 3 seções.

Os dados foram submetidos à análise descritiva e à análise de regressão linear para avaliação da associação entre o número de culturas e porcentagem de culturas positivas com os parâmetros climáticos. Todos os dados foram avaliados por meio de software SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, USA), ao nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras um e dois apresentam o número de culturas realizadas, com os micro-organismos encontrados no período de 12 meses, de março de 2019 a fevereiro de 2020 e março de 2020 a fevereiro de 2021, respectivamente.

Figura 1 – Somatório das culturas realizadas no período de março de 2019 a fevereiro de 2020

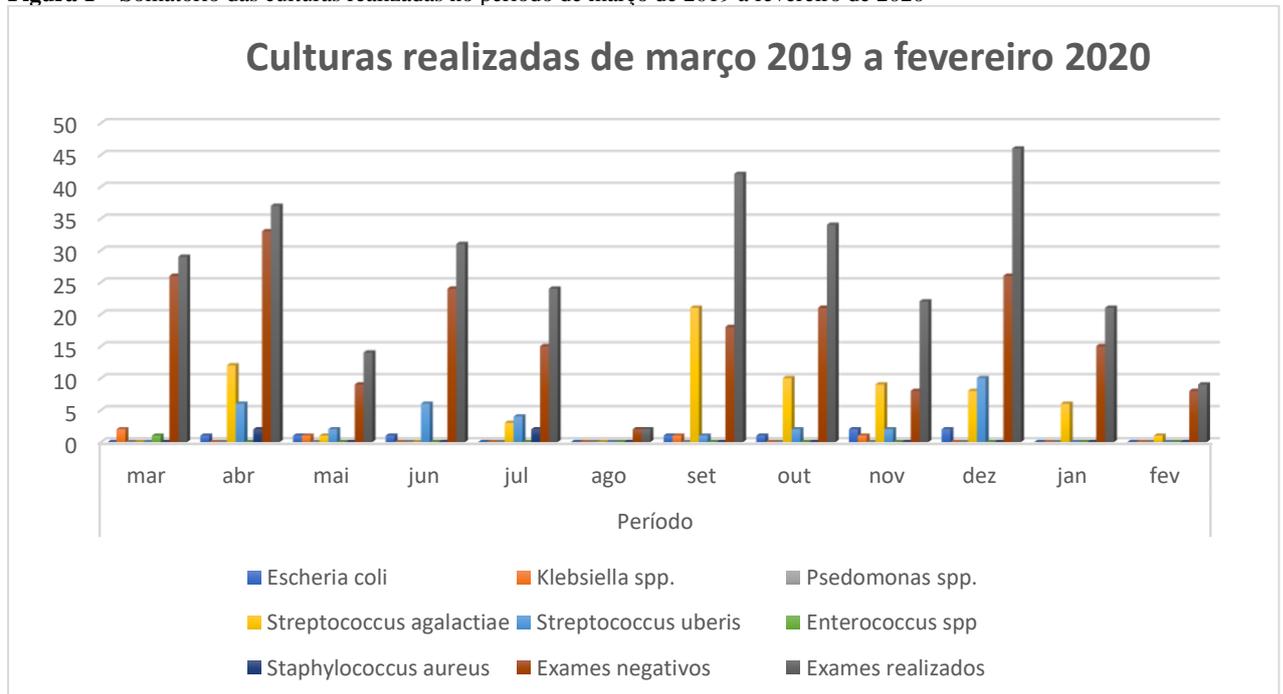
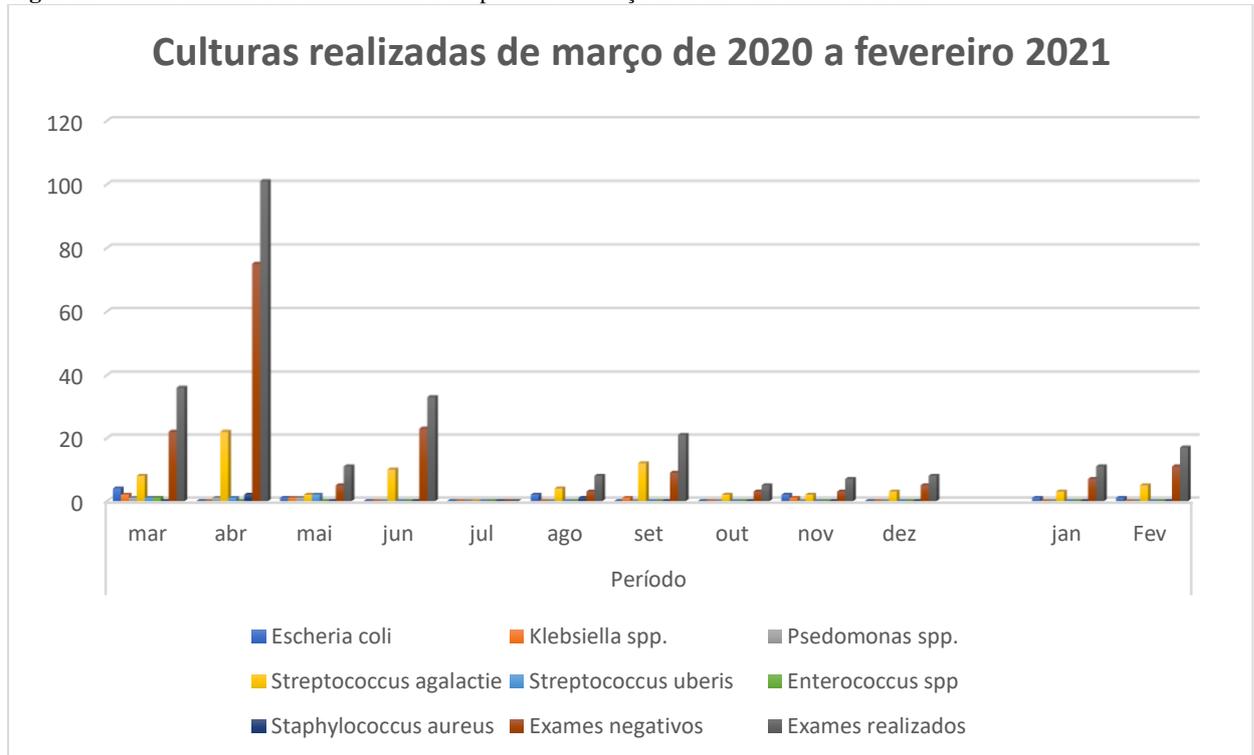


Figura 2 – Somatório das culturas realizadas no período de março de 2020 a fevereiro de 2021

Foi observado (figuras 1 e 2) que, embora tenha tido poucos exames e poucas propriedades avaliadas foram identificados sete micro-organismos diferentes, houve uma evidente incidência de *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus uberis* durante todo período avaliado. No ano de 2020 embora presente, o *S. uberis* não teve muita expressividade, entretanto houve o aumento do micro-organismo *Escherichia coli*. Em seu trabalho, Lima (2018) em uma pesquisa etiológica identificou 28% de casos de *S. agalactiae* indicando a incidência de mastite contagiosa. Já Granja (2020), identificou em um meio de cultura cromogênico 27,9% de micro-organismos Gram-positivo sendo agente o de maior relevância o *Streptococcus uberis* com 6,5%, também identificou 23,5% de casos de bactéria Gram-negativa com 14,7% de casos de *Echerichia coli*. Trabalhos estes, que corroboram o presente estudo.

A tabela apresenta o número de culturas realizadas, com quantidade de resultados positivos no período de 24 meses, de março de 2019 a fevereiro de 2021 respectivamente.

TABELA 1 – Soma do número de culturas totais, positivas e negativas - 2019 a 2021

Mês	Positivo		Negativo		Total	
	N	%	N	%	N	%
Março	17	26,2	48	73,8	65	11,4
Abril	30	21,7	108	78,3	138	24,3

Maio	11	44,0	14	56,0	25	4,4
Junho	17	26,6	47	73,4	64	11,2
Julho	9	37,5	15	62,5	24	4,2
Agosto	5	50,0	5	50,0	10	1,8
Setembro	36	57,1	27	42,9	63	11,1
Outubro	15	38,5	24	61,5	39	6,9
Novembro	18	62,1	11	37,9	29	5,1
Dezembro	23	42,6	31	57,4	54	9,5
Janeiro	10	31,3	22	68,8	32	5,6
Fevereiro	7	26,9	19	73,1	26	4,6
Total	198	34,8	371	65,2	569	100,0

Observa-se (tabela 1) que os meses com maior número de casos positivos foram, abril, setembro e dezembro, demonstrando o aumento da incidência da mastite contagiosa durante os dois anos avaliados (tabela 2), na primavera houve o maior número de casos, sendo a segunda estação com o maior número de exames, em contra partida os resultados da mastite ambiental foi diminuindo, ao ponto de no ano de 2020 apresentar mais casos negativos do que casos positivos em relação ao ano anterior (figura 2). Tal resultado não obteve semelhança aos trabalhos de Queiroz (2019) e Campos (2016), que relata que o período chuvoso correspondente as estações, primavera e verão, no qual há um aumento na contagem de bactérias totais, em virtude do acúmulo de lama no curral, propiciando uma maior incidência da mastite ambiental, mas que pode ser controlado se houver um manejo adequado e uma higienização dos locais. O resultado do presente estudo pode ter sofrido influência pelo baixo número de análises neste período, como também pelo baixo índice pluviométrico.

TABELA 2 - Micro-organismos isolados e identificados em culturas - 2019 a 2021

Microorganismo	N	%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	144	64,6
<i>Streptococcus uberis</i>	37	16,6
<i>Escherichia coli</i>	20	9,0
<i>Klebsiella spp.</i>	10	4,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3,1
<i>Pseudomonas spp.</i>	3	1,3
<i>Enterococcus spp.</i>	2	0,9
Total	223	100,0

Os micro-organismos de maior incidência (tabela 2) foram o *Streptococcus agalactiae*, potencial causador de mastite contagiosa, seguido de *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*, potenciais causadores de mastite ambiental. Cunha (2016), encontrou a maior prevalência, 29,73% de *Staphylococcus aureus*, 16,21% de *Streptococcus agalactiae* e 13,51% de *Escherichia coli* e leveduras, ressalta-se que apesar de micro-organismos com *S. aureus* e *S.*

agalactiae terem uma classificação de mastite contagiosa, também os destaca como principais causadores de mastite clínica.

TABELA 3 - Associação entre número de culturas e porcentagem de culturas positivas com os parâmetros climáticos

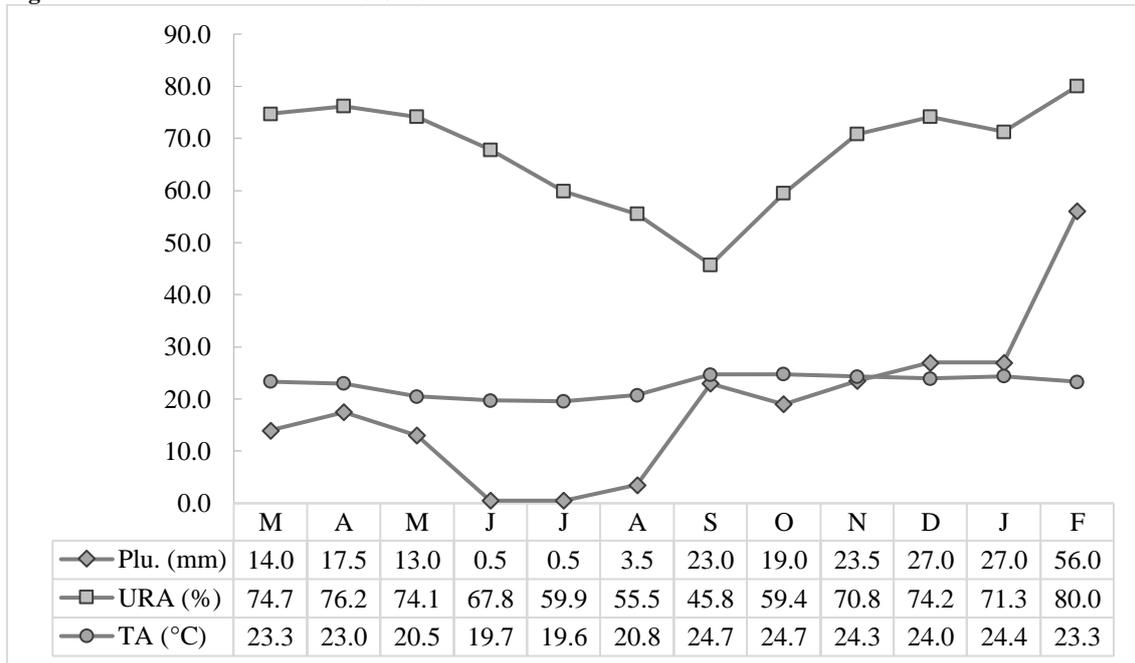
Culturas	Parâmetros Climáticos	p	r	Regressão
Número de culturas totais	Pluviosidade (mm)	0,884	0,047	N = 49,395 - (0,106 * Pluv.)
	Umidade Relativa do Ar (%)	0,518	0,207	N = 0,743 + (0,692 * URA)
	Temperatura do Ar (°C)	0,568	0,184	N = -23,990 + (3,147 * TA)
Número de culturas positivas	Pluviosidade (mm)	0,919	0,033	N = 16,120 + (0,0203 * Pluv.)
	Umidade Relativa do Ar (%)	0,499	0,216	N = 29,928 - (0,199 * URA)
	Temperatura do Ar (°C)	0,149	0,444	N = -31,063 + (2,096 * TA)
Porcentagem de culturas positivas	Pluviosidade (mm)	0,820	0,073	% = 39,885 - (0,0629 * Pluv.)
	Umidade Relativa do Ar (%)	0,061	0,555	% = 86,406 - (0,707 * URA)
	Temperatura do Ar (°C)	0,554	0,191	% = 10,460 + (1,245 * TA)

Valores de p menores que 0,05 indicam associação entre número de culturas e porcentagem de culturas positivas com os parâmetros climáticos. Coeficiente $r \geq 0,7$ indica forte associação, $0,3 \leq r < 0,7$ indica moderada associação e $r < 0,3$ indica fraca associação.

Foi demonstrado que nenhum dos parâmetros climáticos tiveram associação com o número de culturas, número de culturas positivas e porcentagem de culturas positivas (Tabela 3). Não houve influência dos fatores climáticos na quantidade de casos positivos, os dados analisados ficaram fora dos parâmetros para p menores que 0,05 e r maior ou igual a 0,7.

Trabalho de Fagnani et.al (2014), também corrobora com presente estudo pois, relatam que não apenas a pluviosidade é o fator que influencia a qualidade microbiológica do leite, uma vez que em seu trabalho não encontraram diferença estatística no período de maior pluviosidade e amplitude térmica e as contagens de CBT, em relação ao outono e inverno. Relatam ainda que, a falta de higiene dos utensílios de ordenha e superfície dos tetos, água residual de latões, três primeiros jatos são principais pontos críticos na produção.

Já Guimarães (2017), afirma que quando há o aumento da temperatura, junto da pluviosidade que cresce nesse período da primavera e verão há uma variação da contagem das bactérias totais, sendo a alta temperatura a causadora do estresse que faz o animal ter um aumento na contagem de Bactéria total.

Figura 3 - Parâmetros climáticos - 2019-2021

De acordo com os dados do INMET (2019-2021) os meses de dezembro, janeiro e fevereiro, são os meses com maior pluviosidade, mas os meses de maior umidade relativa do ar são fevereiro, março e abril. A temperatura manteve sem grandes variações, com redução no outono/inverno, nos meses de março a agosto.

Existem diversos fatores que influenciam na umidade relativa do ar, que pode ser o índice de evaporação da água, a temperatura e também as chuvas. Rocha (2017) ao avaliar em um ciclo de 42 anos (1974 – 2016), descreveram o mês de janeiro como mês chuvoso por haver o maior índice, com uma média de 349,93mm de precipitação, dados coletados na estação de Piranhas- GO.

No presente estudo o mês de janeiro também apresenta um alto índice de umidade relativa do ar com uma média de 71,3%, dados coletados na estação do INMET presente no município de Dores do Indaiá-MG. No parâmetro umidade relativa do ar, o mês de fevereiro manifesta o intervalo com maior umidade 80% respectivamente.

Segundo Siqueira e Carvalho (2021) um dos fatores que influenciam na produção e qualidade do leite é a temperatura, sendo que a variação da mesma causa um estresse no animal que por sua vez causa queda na produção e na qualidade. Pereira Junior et. al (2018), relatam que quanto maior a temperatura, maior o índice de desconforto térmico, causando problemas na produção o que torna a sazonalidade preocupante.

5 CONCLUSÃO

Apesar do número limitado de exames realizados, as amostras analisadas no laboratório possuem uma incidência maior do agente *Streptococcus agalactiae* causador da mastite contagiosa, independente da sazonalidade, provavelmente em virtude da forma de contágio ser vaca a vaca, por meio da ordenha, seja manual ou automática. Entretanto os causadores da mastite ambiental como o *Streptococcus uberis* e a *Escherichia coli* tiveram uma menor incidência possivelmente pelo baixo índice pluviométrico. O presente trabalho não mostrou correlação da sazonalidade com a incidência dos micro-organismos. Sendo então necessário uma constante vigilância com monitoramento de sinais que indicam haver mastite, educação higiênica na fazenda com ordenha para o diagnóstico e tratamento dos casos de mastite bem como, nos cuidados higiênicos no momento da ordenha para impedir a disseminação de micro-organismos e obtenção de um leite de qualidade.

6 REFERENCIA BIBLIOGRAFIA

BALDUINO, R. et al. **Avaliação sazonal e temporal da qualidade do leite cru Goiano tendo como parâmetros Contagem Celular Somática e a Contagem Bacteriana Total:** Archives of Veterinary Science 2019. v. 24, n. 1

BERNADES, A. **Mastite bovina: Saiba o que é mastite clínica e subclínica, como identificar e tratar!** 2020 04/11/2021 disponível em: <https://prodap.com.br/pt/blog/mastite-clinica-o-que-e-causas-como-tratar-e-principais-indicadores>

BELLI, V. P. **Qualidade do leite cru refrigerado conforme a estacionalidade do ano e nível tecnológico em unidades produtoras no sudoeste do Paraná:** Dois Vizinho: universidade tecnológica federal do Paraná, 2017 Trabalho de Conclusão de Curso de bacharelado em zootecnia.

BRAZ. **Análise do perfil microbiológico de agentes causadores de mastite bovina e sua relação com a qualidade do leite em uma fazenda do sul de Minas:** Brazilian Journal of Development., v. 6, n. 11, p. 91409, 24 nov. 2020.

CHENG W. N., HAN S. G. **Bovine mastites: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments:** A review. Asian-Australas J Anim Sci. 2020 nov. doi: 10.5713/ajas.20.0156. Epub 2020 May 12. PMID: 32777908; PMCID: PMC7649072.

CUNHA, A. F. et al. **Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite clínica em rebanhos leiteiros de viçosa-mg:** Viçosa, v.10, n.1, p.48-54, 2016

EMBRAPA, Anuário do leite 2021. Saúde única e total. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1132875/anuario-leite-2021-saude-unica-e-total>. Acesso em: 10 de dezembro de 2021.

GOMES, A. P. et al. **Assistência técnica, eficiência e rentabilidade na produção de leite:** Revista de Política Agro. 2018. n. 2 P 79- 94.

FAGNANI, R., et al **Parâmetros físico-químicos e microbiológicos do leite em função da sazonalidade** Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 173-180, 2014

GONSALES, S. A. **Pré e pós-dipping: importância e cuidados** Milkpoint, 26/04/2021 Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/pre-e-posdipping-importancia-e-cuidados-225157/> acesso em: 09/12/21

GRANJA, B. M. **Avaliação de meios de cultura cromogênicos para identificação rápida de microrganismos causadores de mastite bovina.** 2020. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, University of São Paulo, Pirassununga, 2020. doi:10.11606/D.10.2020.tde-19012021-100518. Acesso em: 2021-11-27

GUIMARÃES, A. J. S. **Avaliação da qualidade do leite cru refrigerado em relação ao enquadramento legal e o efeito da sazonalidade sobre o preço pago aos produtores.** 2017. 126 f. Dissertação (Mestrado em Gestão Organizacional) - Universidade Federal de Goiás, Catalão, 2017.

LIMA, J. V. et al. **Etiologia da mastite bovina no rebanho de unidades de produção do pré-assentamento Leonir Orkback:** Universidade Federal de Pelotas, acesso 25/11/2021. 2018 disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2018/CA_03275.pdf

MARTINS, J. L. P. et al. **Qualidade do leite cru refrigerado de propriedades rurais de Minas Gerais:** Revista Científica Univiçosa - Volume 8- n. 1 - Viçosa - MG - jan. - dez. 2016- p. 796-802 2016

MACEDO, S. N. de; CORTINHAS, C. S.; SANTOS, M. V. dos. **Cultura microbiológica do leite na fazenda: Uma nova ferramenta para o diagnóstico de mastite.** Leite Integral 2013. Disponível em: <https://www.revistaleiteintegral.com.br/noticia/cultura-microbiologica-do-leite-na-fazenda-uma-nova-ferramenta-para-o-diagnostico-de-mastite>. Acesso em: 18/06/2021

MELO, A. P. DE et al. **Isolamento e identificação de micro-organismos causadores de mastite clínica utilizando a placa AccuMast®.** Pubvet, v. 14, n. 10, p. 1–10, out. 2020.

MINAS GERAIS, Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Perfil Mundial, 2021.

NASCIMENTO, S. T. et al. **Influência da temperatura ambiente no verão na produção de leite de vacas holandesas AccuMast®.** Pubvet v. 11 No. 03 p. 207-312 2017.

NEVES, R. B. S. et al. **Avaliação sazonal e temporal da qualidade do leite cru Goiano tendo como parâmetros a contagem celular somática e a contagem bacteriana total:** Archives of Veterinary Science v. 24, n. 1, p. 10-23, mar, 2019

OLIVEIRA, R. G. **Efeito da sazonalidade sob a profusão leiteira:** Ministerio da educação, ciência e tecnologia Goiano campus Morrinhos, Trabalho de Conclusão de Curso, 24 de maio, 2021

PAIXÃO, M. G. et al. **Aspects of hired labor and milk quality from dairy farms located in the south of Minas Gerais.** Medicina Veterinaria (Brazil), v. 12, n. 1, p. 28–36, 30 out. 2018.

PEGORARO, L. et al. **O que o produtor de leite precisa saber?** EMBRAPA clima temperado, pelotas RS, 2020. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1123163/covid-19-o-que-o-produtor-de-leite-precisa-saber>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

PERES, N. F, ZAPPA, V. **Mastite em vacas leiteiras – revisão de literatura.** Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária Garça- SP. Brasil n. 16, p. 1-28, janeiro de 2011.

QUEIROZ, R. L. L. DE et al. **Contagem bacteriana total do leite cru refrigerado em função do período do ano.** Pubvet, v. 14, n. 4, p. 1–5, abr. 2019.

QUINN, P. J., et al. **Microbiologia Veterinária Essencial.** Porto Alegre: Artmed, 2ª Ed., 10 de dezembro 2018. 197p

Rocha, T., et al. **Análise da Pluviosidade Mensal e Sazonal nas Bacias Hidrográficas do Ribeirão Santo Antônio e José Manoel no Estado de Goiás.** Ciência e Natura [en linea]. 2017, [fecha de Consulta 26 de Outubro de 2021]. ISSN: 0100-8307. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=467553604017>

SÀ, J. P. N. et al **Os principais micro-organismos causadores da mastite bovina e suas consequências na cadeia produtiva de leite.** n. 1 pombal editora verde v. 12, p. 1-13, jan-mar, 2018. Disponível em: <https://editoraverde.org/gvaa.com.br/revista/index.php/RBGA/article/view/5785/4963> acesso em: 14/06/2021

SALINA, A. et al. **Microbiological and molecular detection of Mycoplasma bovis in milk samples from bovine clinical mastitis.** Pesquisa Veterinária Brasileira [online]. 2020, v. 40, n. 2 [Acesso 01

outubro 2020], p. 82-87. Available from: <<https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6259>>. Epub 09 Apr 2020. ISSN 1678-5150. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6259>.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Controle da Mastite e Qualidade do Leite: Desafios e Soluções**. Pirassununga, 2019. 301p. ISBN: 978-85-915913-1-2

SERPA, M. **Mastite bovina: definições e conceitos**. MilkPoint 17/12/2020. Disponível em:<https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/mastite-bovina-definicoes-e-conceitos-223333/> acesso em:18/06/2021

SILVA, T. A. da. **Qualidade microbiológica do leite consumido no Brasil**: 2019a. 37 p. Dissertação (Vigilância Laboratorial em Saúde Pública) — Instituto Adolfo Lutz. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1015549>. Acesso em: 21/05/21.

SOUZA, J. S. et al. **Efeito da sazonalidade na produção e composição química do leite de vacas**: Revista Científica Rural, p. 314–325, 2018.

SOUZA J., A. U. D. et al. **COVID-19 e os impactos na área trabalhista**: revista dos tribunais, 2020 P 136.

WEBER, C. T. et al. **Composição do leite em relação às estações do ano em um rebanho leiteiro semiconfinado no rio grande do Sul**: Goiania-GO: PUC- GO 28º Congresso Brasileiro de Zootecnia, 2018. p. 5.

ZAWADZKI, F. **Microbiologia Veterinária Aplicada** Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2016. P 236.

ZEFERINO, E. S. et al. **Qualidade do leite produzido no semiárido de Minas Gerais**: Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages v. 16, n. 1, p. 54–60, 9 mar. 2017.