

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MICHELE GROSS

**APLICAÇÃO DE PROTOCOLO TERAPÊUTICO COM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA
A MITIGAÇÃO DA MASTITE SUBCLÍNICA**

DOIS VIZINHOS

2025

MICHELE GROSS

**APLICAÇÃO DE PROTOCOLO TERAPÊUTICO COM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA
A MITIGAÇÃO DA MASTITE SUBCLÍNICA**

**Application of a therapeutic protocol with essential oils for mitigation of
subclinical mastitis**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Bacharel em Zootecnia da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador: Fernando Reimann Skonieski.

DOIS VIZINHOS

2025



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos

elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

MICHELE GROSS

**APLICAÇÃO DE PROTOCOLO TERAPÊUTICO COM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA
A MITIGAÇÃO DA MASTITE SUBCLÍNICA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para a obtenção do título
de Bacharel em Zootecnia da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 26/novembro/2025

Prof. Dr. Fernando Reimann Skonieski
Doutor em Zootecnia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profa. Dra. Marcela Tostes Frata
Doutora em Ciência de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Fernando Kuss
Doutor em Zootecnia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

DOIS VIZINHOS

2025

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus por todas as bênçãos que tem me concedido, pelas oportunidades pelas pessoas que colocou em meu caminho e pelos desafios enfrentados, pois sem ele não teria crescido como pessoa e como profissional.

Expresso minha profunda gratidão à minha família e amigos, pelo apoio, carinho e incentivo em cada escolha que fiz. Vocês são essenciais em minha trajetória, levarei cada um em meu coração com eterna gratidão.

Agradeço imensamente ao meu orientador, professor Fernando Skonieski, pela dedicação, paciência e pelos ensinamentos compartilhados ao longo desta caminhada. Seus conselhos e conhecimentos foram fundamentais para a minha formação acadêmica e profissional.

Registro também meus sinceros agradecimentos ao médico veterinário Janir Cagol, pela oportunidade concedida, pelo fornecimento dos produtos e pela colaboração nas análises realizadas. Estendo esse reconhecimento ao laboratório do HE Laticínios, pela parceria durante o desenvolvimento da pesquisa.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

RESUMO

A mastite subclínica impacta significativamente a cadeia produtiva do leite, gerando prejuízos devido à inflamação da glândula mamária, cuja detecção exige testes específicos. O tratamento convencional muitas vezes é usado de forma empírica e subterapêutica, resultando na resistência dos patógenos. Dessa forma, a busca por tratamentos alternativos é requerida, e os óleos essenciais apresentam-se como possibilidade promissora. Assim, a presente pesquisa teve por objetivo verificar a eficiência da utilização de um protocolo contendo óleos essenciais no controle da mastite subclínica. O experimento foi realizado na propriedade do senhor Alceu Gross, localizada na Linha Volta Grande em São Jorge D'Oeste – Paraná, onde foram utilizadas 42 vacas em lactação das raças Holandesa e Jersey, as quais foram divididas de forma homogênea em três lotes, por meio dos Dias em Lactação (DEL) e Contagem de Células Somáticas (CCS) dos animais. O lote 1 não recebeu nenhum tratamento, sendo o lote testemunha. O lote 2 recebeu um protocolo de bisnaga contendo óleos essenciais, que foi aplicado somente nos quartos mamários que apresentarem *California Mastitis Tests* (CMT) positivo na primeira coleta, uma vez ao dia durante cinco dias. O lote 3 recebeu o protocolo de bisnaga contendo óleos essenciais, e um produto fornecido no cocho para aumentar a imunidade destes animais, sendo 50g por dia, durante sessenta dias. A bisnaga e o produto fornecido no cocho não são vendidos comercialmente, sendo promissores para a mitigação da mastite subclínica, aumento da imunidade e produtividade dos animais. A utilização dos mesmos não altera a composição química do leite, possibilitando a sua comercialização. Foram realizadas análises de CMT, CCS, composição do leite, produção diária e microbiologia do leite. As análises e medições foram realizadas no dia 1, 30 e 90 da pesquisa. As amostras foram identificadas e analisadas no laboratório do HE laticínios. Os resultados indicam que o uso de óleos essenciais contribuiu para a redução da CCS, aumento da frequência de glândulas saudáveis e manutenção da produção de leite. O tratamento com bisnaga intramamária mostrou eficácia na redução da CCS, e aumento no escore de grau 1 de CMT. O protocolo com bisnaga intramamária combinado com suplementação promoveu maior estabilidade produtiva, redução da CCS e aumento na frequência de quartos mamários saudáveis. Os patógenos *Staphylococcus aureus* e não *aureus* e *Bacillus spp.* foram os mais prevalentes. Os protocolos testados, contendo óleos essenciais, mostraram-se eficazes na mitigação da mastite subclínica, melhorando os índices de CCS, aumentando os quartos mamários saudáveis e mantendo a produtividade animal.

Palavras-chave: tratamento alternativo para mastite; resistência de patógenos causadores da mastite; CCS; qualidade do leite.

ABSTRACT

Subclinical mastitis significantly impacts the milk production chain, causing losses due to inflammation of the mammary gland, which requires specific test for detection. Conventional treatment is often used empirically and subtherapeutically, resulting in pathogen resistance. Thus, the search for alternative treatments is required, and essential oils present themselves as a promising possibility. Therefore, the objective of this research was to verify the efficiency of using a protocol containing essential oils in the control of subclinical mastitis. The experiment was conducted on the property of Mr. Alceu Gross, located in Volta Grande Line in São Jorge D'Oeste – Paraná, where 42 lactating cows of the Holstein and Jersey breeds were used, which were divided homogeneously into three lots, based on the animals Days in Lactation (DIL) and Somatic Cell Count (SCC). Group 1 received no treatment and served as the control group. Group 2 received a tube containing essential oils, which was applied only to the mammary quarters that tested positive in the California Mastitis Tests (CMT), in the first collection, once a day for five days. Lot 3 received the tube protocol containing essential oils and a product supplied in the trough to boost the animals immunity, at a rate of 50 g per day, for sixty days. The tube and the product supplied in the trough are not commercially available and show promise for mitigating subclinical mastitis and boosting the animals immunity and productivity. Their use does not alter the chemical composition of the milk, allowing it to be marketed. Analyses of CMT, SCC, milk composition, daily production, and milk microbiology were performed. The analyses and measures were performed on days 1, 30 and 90 of the study. The samples were identified and analyzed in the HE dairy laboratory. The results indicate that the use of essential oils contributed to a reduction in SCC, an increase in the frequency of healthy glands, and maintenance of milk production. Treatment with intramammary tubes was effective in reducing SCC and increasing the CMT grade 1 score. The protocol with intramammary tube combined with supplementation promoted greater production stability, reduced SCC, and increased the frequency of healthy mammary quarters. The pathogens *Staphylococcus aureus* and non-aureus and *Bacillus* spp. were the most prevalent. The protocols tested, containing essential oils, proved effective in mitigating subclinical mastitis, improving SCC indices, increasing healthy mammary quarters, and maintaining animal productivity.

Keywords: alternative treatment for mastitis; resistance of mastitis-causing pathogens; SCC; milk quality.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVO GERAL	9
2.1 Objetivos específicos	9
3. DESENVOLVIMENTO	10
3.1 Dados produtivos da cadeia leiteira	10
3.2 Qualidade do leite	11
3.2.1 Fatores que influenciam na qualidade do leite.....	12
3.3 Mastite Bovina	14
3.3.1 Mecanismo de defesa do hospedeiro.....	14
3.3.2 Agentes etiológicos.....	15
3.3.3 Mastite subclínica.....	15
3.3.4 Mastite clínica.....	16
3.3.5 Diagnóstico da mastite.....	16
3.4 Medidas de controle e tratamento convencional	17
3.5 Modulação intramamária com óleos essenciais	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Descrição	20
4.2 Composição da bisnaga	20
4.3 Composição do produto fornecido no cocho	21
4.4 Análises de CMT	21
4.5 Análise de CCS individual	22
4.6 Análise microbiológica	22
4.7 Medição da produção de leite	24
4.8 Análise dos dados obtidos	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35

1. INTRODUÇÃO

O aumento contínuo na produção de leite resulta do crescente aumento no número de bovinos de leite e, principalmente, pela melhoria na produtividade dos animais. Esse avanço é resultado das inovações tecnológicas e das melhores práticas de manejo, os quais têm enfatizado a qualidade do leite produzido (FAO, 2023).

Dentre os fatores que interferem na qualidade do leite, a mastite é a principal, causando prejuízos na qualidade, produção e podendo levar à perda do quarto mamário. A infecção é causada por patógenos, que são disseminados pela limpeza inadequada do equipamento de ordenha, má higienização no processo de ordenha, das mãos do ordenhador e pelo ambiente (Oliveira, 2023).

A mastite pode se manifestar de forma subclínica, sendo responsável por 90 a 95% dos casos de mastite, apresentando um maior impacto na qualidade, produtividade e lucratividade da propriedade, por causar aumento da CCS no tanque e podendo ser identificada apenas pelo teste de CMT (Santos et.al, 2017), ou de forma clínica, onde sua detecção é feita por meio da observação clínica do úbere, que apresentará edema, aumento da temperatura local, dor e sensibilidade, e pelo teste da caneca do fundo preto com a retirada dos três primeiros jatos dos quartos mamários (Fonseca et.al, 2021).

A ocorrência de mastite está relacionada a várias espécies de microrganismos, os quais possuem diferentes patogenicidades, virulências, perfil de transmissão e resposta aos tratamentos com antimicrobianos. Entretanto o uso excessivo, desnecessário ou impróprio de antibióticos, além de aumentar o custo de produção, pode acarretar na perda do quarto mamário, e também, podendo levar à resistência desses patógenos, dificultando a eficiência do tratamento e controle da doença (Santos, 2022).

Com isso, a busca por tratamentos alternativos tem se intensificado, evidenciando a necessidade de pesquisas que explorem as propriedades antimicrobianas em recursos naturais, especialmente em plantas. Os óleos essenciais destacam-se como uma alternativa promissora no combate aos patógenos responsáveis pela mastite bovina (Lopes, 2020).

Portanto, o objetivo do presente trabalho, foi verificar se a utilização de um protocolo contendo óleos essenciais é eficiente no controle da mastite subclínica,

reduzindo a Contagem de Células Somáticas (CCS), aumentando a produtividade, diminuindo os custos de produção e elevando a lucratividade da atividade leiteira.

2 OBJETIVO GERAL

Verificar se a utilização de um protocolo contendo óleos essenciais é eficiente no controle da mastite subclínica.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a mastite subclínica por meio do CMT e CCS;
- Realizar cultura microbiológica do leite e determinar os possíveis agentes causadores da mastite subclínica;
- Verificar ao longo do tempo se ocorre melhora nos valores de CMT e CCS;
- Avaliar ao longo do tempo se houve inibição dos patógenos prevalentes;
- Determinar a produção leiteira ao longo do tempo.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Dados produtivos da cadeia leiteira

A cadeia mundial leiteira tem apresentado variações na produção nos últimos anos, impactada pela pandemia da Covid 19, que afetou a demanda de leite e derivados, acometendo as importações. Devido à desvalorização do real frente ao dólar, alguns países se tornaram mais competitivos em relação ao preço do produto, e mais recentemente, sendo atingido pelos cenários geopolíticos complexos, incluindo os conflitos entre países, e instabilidades econômicas globais (Merladete, 2024). A produção mundial de leite apresentou aumento de 1,8% no ano de 2021, seguido de um acréscimo de 1,1% em 2022, e de 1,3% em 2023 (Merladete, 2024). No ano de 2023 a produção mundial de leite atingiu 950 bilhões de litros, resultado do contínuo aumento no número de bovinos leiteiros e pela melhoria na produtividade dos animais, por mérito dos avanços tecnológicos e melhoria nas práticas de manejo (FAO, 2023).

O maior produtor de leite do mundo é a Índia, com 221,1 bilhões de litros de leite por ano, seguido da União Europeia com 158,7 bilhões de litros de leite por ano, e em terceiro lugar os Estados Unidos com 102,9 bilhões de litros de leite anualmente (Freire, 2024). O Brasil ocupa a sexta posição no ranking mundial de produção de leite, tendo, aproximadamente, um rebanho de 17 milhões de animais, com um montante de 34,8 bilhões de litros de leite, tornando o país praticamente autossuficiente, mitigando a importação (Neves, 2024).

A cadeia produtiva leiteira brasileira, apresenta grande relevância econômica e social, empregando aproximadamente 4 milhões de pessoas, contando com mais de 1 milhão de propriedades produtoras, sendo em sua maioria pequenas e médias propriedades (MAPA, 2021). A produção do país se concentra nos Estados de Minas Gerais (27%), Paraná (13%) e no Rio Grande do Sul (12%). A cadeia do leite ocupa a sexta posição entre os setores do agronegócio brasileiro, arrecadando um valor bruto de produção de R\$63,7 bilhões (Neves, 2024).

Em 2022 o Paraná produziu 4,3 bilhões de litros de leite, correspondendo a 12 milhões de litros por dia, e no primeiro trimestre do ano de 2023, registrou uma produção de 833.177 litros de leite, sendo o segundo estado com maior produção de leite do país (Hamann, 2023). Conforme dados do DERAL (2019), o Estado conta com 1,3 milhões de vacas ordenhadas, representando 8% do rebanho brasileiro. A

região sudoeste tem sido a maior produtora de leite do Paraná, no ano de 2017, apresentou produção de 1 bilhão de litros de leite, equivalente a 25% da produção total do estado (Milkpoint, 2020).

Dentro da região sudoeste, o município de Chopinzinho se destaca, com um rebanho de 13.680 vacas lactantes, gerando anualmente 63 milhões de litros de leite. Esta conquista é resultado do investimento do governo municipal no setor, com a criação do Programa Mais Leite, que desde 2017, disponibiliza recursos de crédito de até R\$3.000,00 em insumos, sendo que o produtor precisa cumprir a meta de aumentar a produção em 25%. Além disso, também foram realizados outros investimentos, como a disponibilização de tanques de expansão para produtores inscritos e selecionados no projeto (Milkpoint, 2020).

De acordo com os dados obtidos da Pesquisa da Pecuária Municipal, realizada pelo IBGE, o município de São Jorge D'Oeste-PR está em 111º lugar no ranking de produção de leite no Brasil, com um montante de, aproximadamente, 41 milhões de litros/ano (IBGE, 2022).

3.2 Qualidade do leite

Na cadeia produtiva leiteira a qualidade é um aspecto fundamental, garantindo um alimento seguro com qualidade nutricional ao consumidor, bem como, promovendo um aumento na durabilidade de prateleira e na produtividade industrial para a fabricação de derivados lácteos (Dias; Antes, 2014).

No entanto, a qualidade do leite adquiriu maior ênfase na cadeia produtiva somente em 1996, com a criação do “Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do leite-PNQL”, por iniciativa do MAPA, da EMBRAPA e de representantes da comunidade científica, tendo por objetivo padronizar a qualidade da matéria-prima e combater a comercialização informal do produto. O PNQL originou-se decorrente dos resultados de diversos estudos, que apontaram a elevada acidez do leite e o alto índice de mastite nos rebanhos como os principais motivos de perdas econômicas da cadeia produtiva do leite (Dias; Antes, 2014).

Com isso, em 2002, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa nº 51 (IN 51), determinando as normas de produção, qualidade e identidade do leite, bem como a regulamentação da coleta do leite cru refrigerado na propriedade e seu transporte ao laticínio. No mesmo ano, o

MAPA instituiu a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite (RBQL), pela Instituição Normativa nº 37, concedendo suporte analítico a IN nº 51, onde mensalmente devem ser encaminhadas amostras de leite cru granelizado para as análises de indicadores da qualidade físico-químico, higiênico-sanitário do leite, em laboratórios credenciados ao MAPA, pertencentes à RBQL (Dias; Souza, Grego, 2019).

Entretanto, não se obteve melhora nos percentuais de amostras que atenderam os parâmetros de Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Padrão em Placa (CPP), então, em 2011, foi instituída pelo MAPA a IN nº 62 e IN nº 7, sendo uma atualização da IN nº 51, definindo limites e prazos gradativos para o atingimento de indicadores de CCS e CPP dentro dos padrões estabelecidos (Dias; Souza; Grego, 2019).

No ano de 2018, foram publicadas as INs nº 76 e nº 77, revogando assim as INs nº 51, nº 62 e nº 7. As principais alterações propostas pelas INs nº 76 e nº 77 são: limite da temperatura de 4,0 °C para a conservação do leite cru nos tanques de resfriamento das propriedades; temperatura máxima de recebimento do leite na indústria de 7,0 °C; análise do leite cru refrigerado antes do seu processamento, com limite máximo de CPP de 900 mil unidades formadoras de colônias (UFC) por mililitro; as amostras de leite cru refrigerado das propriedades, sendo em tanques de resfriamento individuais ou coletivos, deverão apresentar limite máximo de 300 mil UFC/mL de CPP e de 500 mil células/mL de CCS, nas médias geométricas trimestrais e suspensão da coleta de leite da propriedade que apresentar resultado da média geométrica de CPP superior a 300 mil UFC/mL por 3 meses consecutivos (Dias; Souza; Grego, 2019).

Os procedimentos básicos de controle de qualidade envolvem os valores de CCS, CPP e a composição química do leite cru, que estão diretamente relacionados com a saúde da glândula mamária dos animais, à higiene no processo da ordenha, à refrigeração apropriada do leite e à nutrição adequada dos animais conforme sua produção e exigências (Silva et al, 2019).

3.2.1 Principais fatores que afetam a qualidade do leite

A CCS é constituída por células de descamação do epitélio da própria glândula mamária e por células de defesa do organismo, os glóbulos brancos do sangue (macrófagos, linfócitos, neutrófilos e leucócitos), enviados para combater

infecções na glândula mamária. Em animais sadios 65% a 70% das células somáticas são da descamação, sendo um processo natural de renovação do epitélio, porém, em casos de mastite subclínica, pode variar de 10 a 50%, devido ao aumento de células de defesa para combater a infecção (Filgueiras, 2011).

Os valores elevados da CCS no leite decorrem de vários fatores, principalmente decorrente de infecção intramamária, idade, estágio da lactação e época do ano. A infecção intramamária é a que exerce maior influência sobre o nível de células somáticas presente no leite, visto que o mecanismo de defesa envia grande quantidade de leucócitos para a glândula mamária na tentativa de eliminar o patógeno invasor, aumentando a presença de células de defesa no leite, que por consequência intensifica a descamação do epitélio lesionado (Filgueiras, 2011).

Vacas mais velhas geralmente apresentam maior CCS, pela prolongada exposição aos microrganismos da mastite e também por apresentar maior relaxamento do esfíncter mamário, aumentando assim as chances de serem infectadas (Filgueiras, 2011).

O estágio de lactação está associado ao fator diluição, onde que em condições normais, no início da lactação tem-se um alto índice de CCS, devido ao baixo volume de leite produzido, decorrendo de um decréscimo até o pico de lactação, voltando a subir conforme ocorre a redução da produção, sendo maiores na fase de secagem dos animais (Filgueiras, 2011).

Em regiões subtropicais, o verão se caracteriza por apresentar altas temperaturas e umidade, causando maior estresse nos animais, principalmente o calor. No entanto, o aumento da CCS nesse período é decorrente da diminuição da secreção do leite e não pelo maior afluxo de células somáticas para o leite, sendo assim um efeito adicional de concentração (Filgueiras, 2011).

A mastite é a principal doença que acomete o rebanho leiteiro, causando prejuízos na qualidade do leite e na produção, que dependendo da gravidade, pode ocasionar a perda do quarto mamário. A infecção é causada por patógenos, sendo disseminada pela limpeza inadequada do equipamento de ordenha, da má higienização no processo de ordenha e do manipulador, podendo ser adquirida também pelo ambiente (Oliveira, 2023).

A ocorrência de mastite está relacionada a várias espécies de microrganismos, as quais possuem diferentes patogenicidades, virulências, perfil de transmissão e resposta aos tratamentos com antimicrobianos, com isso, a

identificação dos patógenos causadores das infecções intramamárias, através da cultura microbiológica, possibilita maior assertividade no tratamento e controle da mastite no rebanho, diminuindo o uso excessivo de antibióticos desnecessários ou impróprios, que aumentam o custo de produção e podem acarretar na perda do quarto mamário e até o descarte do animal (Santos, 2022).

3.3 Mastite Bovina

A mastite é uma doença com grande relevância mundial, gerando consideráveis prejuízos na área produtiva de leite e derivados. Os principais impactos econômicos são gastos com medicamentos, serviços veterinários, descarte de leite, seja por uso de antibiótico ou pela baixa qualidade, e o descarte do animal em casos mais graves (Fonseca et.al, 2021).

A mastite pode ser causada por agentes químicos, físicos, mecânicos, e principalmente, por agentes infecciosos que adentram o canal do teto, permanecendo conforme a capacidade do patógeno de colonizar e multiplicar-se no úbere, do grau de virulência e da capacidade de resposta do hospedeiro. A multiplicação e a produção de toxinas pelos microrganismos danificam o tecido secretor glandular, provocando lesões físicas e irritações químicas (Acosta et.al, 2016).

3.3.1 Mecanismo de defesa do hospedeiro

A primeira defesa do animal é o esfíncter do teto, onde que em certas condições como a hiperqueratinose, onde se tem um aumento da espessura e rugosidade da ponta do teto, ou a própria dilatação do esfíncter pós ordenha, acabam comprometendo esse mecanismo de barreira física, aumentando a probabilidade de invasão e colonização de microrganismos (Lopes, 2020).

Quando esses patógenos atravessam o canal do teto, migram e colonizam as células secretoras, a primeira linha de defesa é a imunidade inata, que atua antes dos mecanismos do sistema imune adquirido, com um mecanismo de defesa codificado atuando especificamente sobre os microrganismos invasores da glândula mamária, fazendo a fagocitose do patógeno, por meio da produção de mediadores e citocinas para recrutar novas células fagocitárias, secreção de interferon para induzir respostas da glândula e ativação das células Natural Killer que rompem a membrana bacteriana (Neves, 2011).

Se esse mecanismo conseguir combater de forma rápida e eficiente a infecção intramamária, a mastite será leve e transitória (Lopes, 2020). Entretanto, se o patógeno resistir à essa defesa, o sistema imune específico é acionado, composta por células de memória do sistema imune, sendo as defesas solúveis específicas e celulares, que reconhecem determinado antígeno específico contra o patógeno, por conta da exposição repetida ao agressor, provocando uma resposta rápida, forte, duradoura e eficaz na eliminação do mesmo (Neves, 2011).

Se o sistema imunológico não conseguir identificar e eliminar o patógeno, isso pode levar ao desenvolvimento de inflamação crônica. Quando há uma intensa ativação e migração das células imunológicas, principalmente macrófagos e neutrófilos, podem ocorrer lesões locais e até sintomas sistêmicos no animal. Isso é causado pelo acúmulo de citocinas tóxicas e radicais livres de oxigênio na glândula mamária (Santos; Fonseca, 2019).

3.3.2 Agentes etiológicos

Os agentes etiológicos causadores de mastite são classificados em contagiosos e ambientais. A mastite contagiosa predomina na forma subclínica, com CCS elevada e de longa duração. Os microrganismos causadores são principalmente Gram-positivos, que residem na própria glândula mamária e na pele dos tetos, sendo transmitidos de um animal para outro durante a ordenha. Os principais agentes contagiosos são o *Staphylococcus aureus* e o *Streptococcus agalactiae*, outros agentes são os *Mycoplasma species* e os *Corynebacterium bovis* (Acosta et.al, 2016).

A mastite ambiental é causada por agentes que habitam o ambiente, em áreas com acúmulo de fezes, urina, barro e camas orgânicas. Esses agentes se instalam quando a imunidade do hospedeiro está comprometida ou quando a higiene e sanidade são inadequadas. A infecção ocorre no período entre as ordenhas, sendo mais comum na forma clínica, de curta duração e com manifestação aguda. Os principais agentes ambientais são: *Streptococcus spp.*, bactérias Gram-negativas como *Escherichia coli* e *Enterobacter spp.* (coliformes), *Bacillus spp.* e outros organismos como algas, fungos e vírus (Acosta et.al, 2016).

3.3.3 Mastite Subclínica

A mastite subclínica não apresenta sinais clínicos evidentes, porém é responsável por 90 a 95% dos casos de mastite no rebanho, sendo de quinze a

quarenta vezes mais prevalente que a forma clínica da doença, resultando em maiores prejuízos por reduzir a capacidade de secreção de leite do quarto mamário afetado (Santos et.al, 2017).

Por apresentar alta porcentagem de vacas infectadas, seu tratamento geralmente é realizado uma semana antes da secagem ou no período seco do animal com a utilização da terapia de vaca seca. Neste período a produção de leite é relativamente menor e o produto atua por um período maior na glândula mamária. O tratamento durante a lactação só é realizado onde o produtor tem uma penalização muito grande com a qualidade do leite, sendo compensatório o descarte do leite dos animais que mais afetam na CCS (Walcher, 2012).

3.3.4 Mastite Clínica

Apresenta sinais clínicos como edema, aumento de temperatura local, dor e sensibilidade no úbere, podendo ser resultado da ação das toxinas liberadas pelas bactérias que poderá acarretar na fibrose do teto. A ocorrência nas propriedades é inferior comparado com a mastite subclínica, entretanto corresponde a 30% do prejuízo na produção leiteira do rebanho (Fonseca et.al, 2021).

A mastite clínica pode ser classificada em aguda, subaguda, superaguda, crônica e gangrenosa. Nos quadros superagudos, geralmente são associados por microrganismos ambientais do grupo coliformes, causando sinais fortes de inflamação e até sinais sistêmicos, como febre e prostração. No quadro agudo, os sinais sistêmicos são mais moderados e o desenvolvimento é mais lento, comparado aos superagudos. Nos casos subagudos são detectados grumos no leite, porém não são observados sinais típicos de inflamação. Nos casos crônicos, o úbere apresenta infecção persistente que pode durar de meses a anos, podendo causar perda funcional do quarto acometido. Na forma gangrenosa, o quarto acometido apresenta coloração alterada e com perda de sensibilidade (Fonseca et.al, 2021).

3.3.5 Diagnóstico da mastite

A detecção precoce da mastite é crucial para evitar danos significativos aos alvéolos do úbere. Isso não apenas torna o tratamento mais eficaz, promovendo a recuperação dos tecidos alveolares, mas também ajuda a prevenir a propagação da doença no rebanho, ao permitir o isolamento dos animais infectados ao final da ordenha (Santos et.al, 2017).

O diagnóstico da mastite subclínica só é possível por meio do *teste California Mastitis Test* (CMT) e pelas alterações na composição do leite, com o aumento na CCS (Santos et.al, 2017). O CMT é um teste simples e prático para o diagnóstico da mastite subclínica. A ação do reagente sobre as células somáticas presentes no leite, torna-o gelatinoso devido à liberação do DNA, presente no núcleo dessas células, assim, quanto maior a quantidade de células, mais forte será a reação (Teixeira, 2023).

O resultado é avaliado em função do grau de viscosidade, podendo ser negativo, sem formação de gel, traço suspeito, onde o gel se forma rapidamente, mas logo desaparece, não havendo alteração na consistência, fracamente positivo (+), com rápida formação de gel que logo desaparece, mas há uma leve alteração na consistência, positivo(++) com formação visível de gel, que quando agitado fica mais fraco com alteração na consistência, e fortemente positivo (+++), ocorrendo formação de gel que não desaparece mesmo depois de algum tempo, com forte alteração na consistência (Teixeira,2023).

Se o escore do resultado do teste de CMT der negativo, o valor da CCS é de 0 a 200 mil células/mL de leite, se o escore apresentar um traço o valor de CCS vai de 200 a 400 mil células/mL de leite, escore fracamente positivo (+) apresenta um valor de CCS de 400 a 1.200 mil células/mL de leite, escore positivo (++) representa um valor de 1.200 a 5.000 mil células/mL de leite e um escore fortemente positivo equivale a mais de 5.000 mil células/mL de leite (Coser; Lopes; Costa, 2012).

Já a detecção da mastite clínica é feita por meio da observação clínica do úbere e pelo teste da caneca do fundo preto, com a retirada dos três primeiros jatos dos quartos mamários e observação de alterações macroscópicas no leite (Fonseca et.al, 2021).

3.4 Medidas de controle e tratamento convencional

As estratégias mais eficientes na prevenção de transmissão de agentes causadores de mastite envolvem, um rígido controle higiênico-sanitário nos locais de permanência dos animais, dos tetos e das mãos do ordenhador, e o correto manejo de ordenha, que incluem uso de pré-dipping, estimulação de ejeção, extração rápida e eficiente do leite e aplicação de pós-dipping (Lopes, 2020).

O procedimento mais comum para o tratamento de casos de mastite é o uso de antibióticos e antimicrobianos. A utilização da antibioticoterapia busca atingir a cura de mastite clínica de maneira rápida, reduzir as fontes de infecção de mastite contagiosa, retomada da produção normal de leite e evitar a morte do animal em casos de mastite aguda. De modo geral, a maioria dos casos de mastite que demandam tratamento com antibióticos são diagnosticados e tratados pelo próprio produtor, sem a assistência profissional, onde o tratamento é iniciado imediatamente após a percepção dos sintomas, sem prévio conhecimento do agente causador (Santos; Tomazi; Gonçalves, 2012).

A realização de cultura microbiológica do leite sucede em uma maior acurácia no tratamento da mastite, possibilitando a tomada de decisão adequada quanto ao estabelecimento de uma terapia adequada para cada tipo de mastite, diminuindo os custos com utilização de antibióticos e descarte do leite em casos desnecessários (Macedo; Cortinhas; Santos, 2020).

O uso inadequado de antibióticos pode levar ao desenvolvimento de resistência bacteriana, dificultando o controle da mastite. Além disso, o não cumprimento do período de carência pode resultar na presença de resíduos de antibióticos no leite. Devido aos riscos associados à antibioticoterapia e a pressão pública para a redução do uso de antibióticos na produção animal, há um grande incentivo para encontrar medidas eficazes de controle da mastite bovina sem a utilização de antibióticos (Lopes, 2020).

3.5 Modulação intramamária com óleos essenciais

O uso excessivo e imprudente de antimicrobianos no controle da mastite tem contribuído significativamente para o aumento da resistência dos patógenos. Neste contexto, a busca por formas alternativas de combate às infecções intramamárias tem se intensificado, evidenciando a necessidade de pesquisas que explorem as propriedades antimicrobianas de recursos naturais, especialmente de plantas. Essas plantas fornecem matéria-prima rica em substâncias que podem ser utilizadas com finalidades terapêuticas (Lopes, 2020).

Os óleos essenciais possibilitam uma atividade promissora no combate aos patógenos responsáveis pela mastite bovina. Esses compostos naturais, voláteis e complexos com forte odor, são produzidos durante o metabolismo secundário de

plantas aromáticas. Podem ser sintetizados em diversas partes da planta, como células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (Lopes, 2020).

Com propriedades antimicrobianas, os óleos essenciais são capazes de penetrar na membrana bacteriana, inibindo funções celulares essenciais. Além disso, suas características lipofílicas, atribuídas aos compostos fenólicos, permitem a modificação da permeabilidade das membranas celulares dos microrganismos, causando danos que levam à morte celular (Regis et.al, 2024).

Em um estudo recente realizado por Lopes (2020), constatou que a utilização do óleo essencial de tomilho inibiu completamente a atividade bacteriana, sendo que seu constituinte majoritário, o timol, é reconhecido por sua alta eficiência antibacteriana, e em partes, pela presença do composto p-cimeno, que apresenta sinergismo com outros constituintes do óleo, favorecendo a atividade antimicrobiana.

Conforme estudo de Santana (2019), com a utilização da cepa da bactéria *Staphylococcus aureus*, com a técnica de disco-difusão em Ágar Mueller-Hinton para avaliar a ação antimicrobiana do óleo de copaíba, obteve-se diferença significativa na inibição do crescimento microbiano, sendo que quanto maior a concentração do óleo, maior foi o halo de inibição obtido.

Em uma pesquisa realizada por Campanha et.al (2023), onde se utilizou 49 vacas suplementadas com 5 g/vaca/dia de um produto comercial com os seguintes óleos essenciais microencapsulados: carvacol, cinamaldeído, eugenol e oleoresina, durante 82 dias, não se obteve resultados significativos para CCS, produção, composição do leite.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição

A presente pesquisa foi realizada na propriedade do senhor Alceu Gross, localizada na comunidade de Linha Volta Grande, no município de São Jorge D'Oeste – Paraná. Foram utilizados 42 animais em lactação, sendo 35 animais da raça Holandesa e 7 animais da raça Jersey, as quais foram distribuídas aleatoriamente em três lotes, por meio dos Dias em Lactação (DEL) e Contagem de Células Somáticas (CCS) dos animais.

O lote 1 não recebeu nenhum tipo de tratamento, sendo considerado como controle. O lote 2 recebeu um protocolo de bisnaga contendo óleos essenciais, aplicado nos quartos mamários com CMT positivo, uma vez ao dia durante um período de cinco dias. O lote 3 também recebeu o protocolo de bisnaga contendo óleos essenciais, juntamente com um produto para aumentar a imunidade dos animais, sendo fornecido no cocho, misturado ao volumoso antes do fornecimento do concentrado, na quantidade de 50 g/dia do produto durante sessenta dias.

Durante a condução do experimento, os animais que apresentaram sinais clínicos de mastite foram imediatamente removidos da amostra experimental, a fim de evitar interferências nos resultados, e receberam tratamento conforme as recomendações veterinárias vigentes.

Os animais foram identificados por meio de cordas colocadas no pescoço, em que o lote 1 com a corda na cor branca, o lote 2 cor vermelha e o lote 3 cor azul. As amostras coletadas foram identificadas com o número do brinco dos animais, sendo todas coletadas após a retirada dos três primeiros jatos de leite. O experimento foi conduzido durante um período de 90 dias, em que nos dias 1, 30 e 90 foram realizadas as coletas de amostras para as análises de CMT, CCS e microbiológica, e as medições de produção de leite.

4.2 Composição da bisnaga

A bisnaga utilizada ainda não é vendida comercialmente, sendo um produto inovador no mercado, sua aplicação é via intramamária, sem alteração da composição do leite, podendo ser comercializado normalmente. A bisnaga é constituída pelos seguintes óleos essenciais, barbatimão (*Stryphnodendron*), extrato de babosa (*Aloe barbadensis*), tomilho (*Thymus vulgaris*), melaleuca (*Melaleuca*

alternifolia), orégano (*Origanum vulgare*), copaíba (*Copaifera langsdorffii*), canela (*Cinnamomum verum*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), própolis verde liofilizado (*Apis mellífera L.*), Lactoferrina liofilizada, óleo de girassol ozonizado (*Helianthus annuus*), tendo também a adição de EDTA, Monoestearato de glicerol e Água de osmose reversa.

4.3 Composição do produto fornecido no cocho

O produto ainda não é vendido comercialmente, sendo um produto promissor na mitigação de casos de mastite subclínica, aumentando a imunidade e a produtividade do rebanho, seu fornecimento não altera a composição do leite, permitindo sua comercialização. Este produto é composto pelos seguintes ingredientes, carvacrol, cinamaldeído, eugenol, timol, beta-cariofileno, terpinen-4-ol, óleo ozonizado de uva e cúrcuma (Curcumina), própolis liofilizado, Lactoferrina, monensina sódica, triptofano, lisina, metionina, histidina, colina, cobre, zinco, manganês, cobalto, selênio, cromo, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*.

4.4 Análises de CMT

Após a higienização dos tetos, foi posicionada a raquete de acordo com os tetos e coletado cerca de 2 mL de leite de cada teto, retirando o excesso de leite, orientando-se por meio da primeira linha de cada compartimento da raquete. Depois foi adicionado 2 mL do reagente de CMT, ou seja, até a segunda linha da raquete. Durante 10 segundos foi realizada a mistura do leite com o reagente por meio de movimentos circulares, observando a solução e atribuindo o escore de viscosidade.

A leitura da viscosidade resultou em escore negativo, sem formação de gel, traço suspeito, com formação rápida de gel que logo desaparece, sem alteração na consistência, fracamente positivo (+), com formação rápida de gel que logo desaparece, mas com uma leve alteração na consistência, positivo (++) com formação de gel, que quando agitado fica mais fraco com alteração na consistência, e fortemente positivo (+++), ocorrendo formação de gel que não desaparece mesmo depois de algum tempo, com forte alteração na consistência.

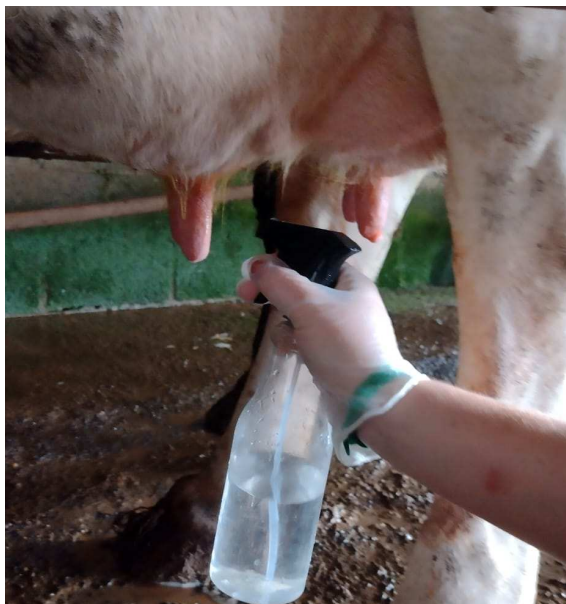
4.5 Análise de CCS individual

Para a realização da CCS individual foi necessário que a amostra de leite fosse composta dos quatro quartos mamários e representativa de uma ordenha completa, para isso se utilizou coletores de leite. Foi realizado o procedimento normal do início da ordenha, sendo colocado os coletores no final da mangueira de cada conjunto de teteira, para que com a realização da ordenha normal, o leite necessário seja coletado para amostra. Dessa forma, a amostra obtida foi transferida para um frasco plástico de 40 mL, contendo conservante bronopol, o qual atua como bacteriostático, evitando alterações e mantendo a qualidade da amostra de leite coletada por 24 horas (Brito, 2019). A amostra foi agitada com o conservante até sua completa diluição, sendo todas as amostras identificadas e colocadas em uma caixa térmica de isopor com gelo reciclável, para serem transportadas para o laboratório do HE laticínios logo após o final da ordenha de todos os animais.

4.6 Análise microbiológica

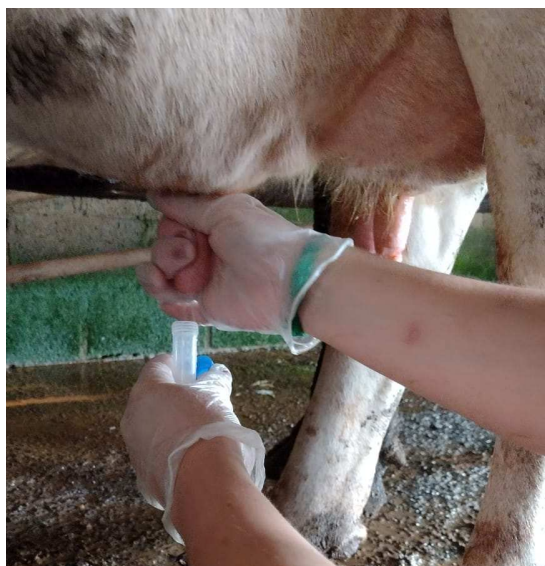
A coleta do leite para análise microbiológica foi realizada após a higienização dos tetos com pré-dipping, secagem e a antissepsia utilizando gaze com álcool 70% na extremidade do teto (Figura 1). Para a coleta foram usadas luvas e frascos estéreis para evitar a contaminação do leite, coletando-se a mesma quantidade de leite de cada quartos mamários com CMT positivo de cada animal, de forma a se obter uma amostra homogênea (Figura 2). As amostras foram identificadas e congeladas para manter sua conservação por um período maior, sendo posteriormente encaminhadas para o laboratório do HE laticínios (Figura 3).

Figura 1: antissepsia dos tetos



Fonte: O autor (2025)

Figura 2: coleta de amostra homogênea de leite dos quartos mamários



Fonte: O autor (2025)

Figura 3: Amostras de leite identificadas e armazenadas em caixa térmica de isopor



Fonte: O autor (2025)

4.7 Medição da produção de leite

Para a medição da produção de leite individual de cada animal foi utilizado medidores da marca Milk Meter, realizando o procedimento normal de ordenha, sendo colocados os medidores no final da mangueira de cada conjunto de teteira, onde no final da ordenha de cada animal foi anotado a quantidade de leite marcado pelo medidor, retirando o leite antes do início da ordenha do próximo animal.

4.8 Análise dos dados obtidos

Inicialmente, calculou-se a média individual de cada vaca para as variáveis CCS, gordura, proteína, lactose e produção de leite. Adicionalmente foi realizada uma análise multivariada exploratória. Os dados foram padronizados e submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA). Com base nesses componentes, aplicou-se a técnica de agrupamento K-means para classificar os animais em grupos de perfis semelhantes.

As análises estatísticas foram conduzidas utilizando modelos mistos de avaliação de medidas repetidas no tempo. As variáveis contínuas, gordura, proteína, lactose e produção de leite, foram analisadas considerando os efeitos do dia da coleta, além do efeito aleatório do animal.

Para a variável CCS, aplicou-se uma transformação logarítmica (\log_{10}) com o objetivo de aproximar a normalidade, e por não apresentar comportamento normal, foi submetida ao teste de Wilcoxon (não paramétrico para medidas repetidas). A

variável produção de leite também foi avaliada ao longo do tempo por meio de regressão linear simples, estimando a inclinação da curva de queda por tratamento.

Para avaliar diferenças nas frequências dos escores de mastite (CMT), foi realizado o teste de Qui-quadrado dentro de cada tratamento entre os dias de coleta.

As variáveis microbiológicas foram analisadas utilizando a estatística descritiva.

produção, com alta CCS e teores de composição do leite reduzidos, quando comparado com o Grupo 1, representado por animais de baixa produção com baixa CCS e teores elevados da composição do leite.

As variações observadas nas variáveis podem estar associadas à idade dos animais, onde que grupo 0 é composto por animais mais velhos com uma média de 60 meses de idade, os quais passaram por repetidas exposições a microrganismos causadores de mastite, apresentando também um maior relaxamento do esfíncter mamário e intensa descamação do epitélio glandular mamário. Assim, ainda que esse grupo de animais tenha potencial produtivo superior, ele possui maior valor de CCS. Já o grupo 1 apresenta animais com idade média de 54 meses de idade, os valores se apresentam aproximados pelo fato dos animais de número 102, 90, 9139 e A-7 estarem no grupo 1 e apresentarem idades mais elevadas de todo o plantel.

Considerando a heterogeneidade do plantel, buscou-se distribuí-los nos tratamentos considerando os valores de CCS e dias de lactação (DEL) dos animais. Para isso, foi realizada uma análise prévia da qualidade do leite antes do início do experimento, com o objetivo de formar os grupos (Tabela 1). Foi testado o desvio padrão para cada grupo, obtendo-se alta variabilidade, o que dificultou a obtenção de grupos completamente homogêneos, optando-se assim por avaliar o comportamento das variáveis ao longo do tempo, dentro de cada tratamento, no sentido de que os tratamentos não serão comparados entre si.

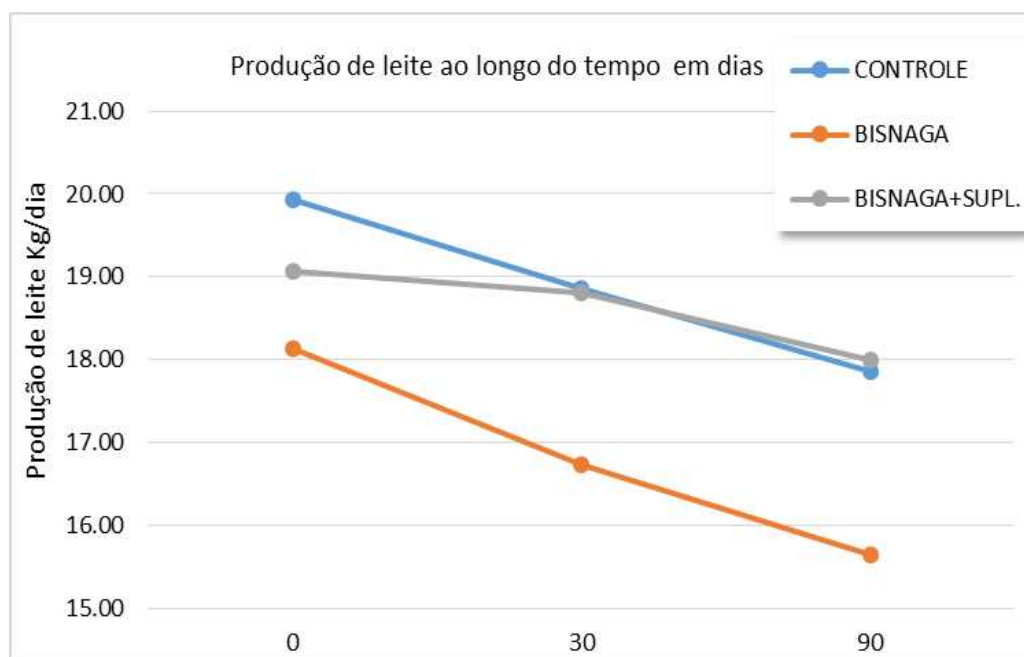
Tabela 1 – Características e distribuição dos animais nos diferentes protocolos para controle da mastite subclínica

	Controle	Bisnaga	Bisnaga + suplemento
CCS (mil cél./mL)	898±936,95	545±548,79	816±815,71
DEL (dias)	214±112,28	201±95,74	199±95,95
Gordura (%)	3,59±1,01	3,59±1,18	3,72±1,37
Proteína (%)	3,42±0,33	3,53±0,51	3,37±0,45
Lactose (%)	4,42±0,32	4,43±0,26	4,41±0,32
Produção de leite kg/vaca/dia)	21,36±6,31	19,43±5,16	20,43±4,81

Fonte: O autor (2025)

A produção de leite diminuiu significativamente ao longo do tempo para os animais controle $-0,024$ kg/vaca/dia; $p = 0,0003$. Para aqueles que receberam o tratamento intramamário, a redução foi de $-0,042$ kg/vaca/dia; $p = 0,0001$. O grupo que recebeu o tratamento intramamário + suplemento a redução foi menos intensa, e portanto, não significativa, de $-0,013$ kg/vaca/dia; $p = 0,1241$, indicando que o uso do suplemento foi eficaz na manutenção da produção de leite durante o período experimental (Gráfico 2). A produção de leite é influenciada por diversos fatores. Neste estudo, a redução observada está associada a fatores fisiológicos, como o declínio natural da curva de lactação após o pico produtivo. Ademais, fatores ambientais, como o estresse térmico, o qual reduz o consumo alimentar, também podem ter contribuído com a queda de produção observada (Saldanha, 2022).

Gráfico 2 - Produção de leite de vacas submetidas a diferentes protocolos para controle da mastite subclínica



Fonte: O autor (2025)

Segundo Kung Jr et al. (2008) a suplementação com óleos essenciais reduz a proporção dos ácidos graxos acetato, butirato e valerato, e um aumento no propionato, o qual é responsável pela síntese de lactose, elevando assim a produção

de leite. No presente estudo, observou-se que o suplemento contribuiu para a manutenção da produção de leite.

Quanto à composição do leite observou-se que apenas a lactose apresentou diferença significativa ao longo do tempo, e somente nos animais controle (Tabela 2). Proteína e gordura, de maneira geral, tendem a se elevar ao longo do tempo. Esses fenômenos são fisiológicos, a lactose é o componente que possui maior estabilidade, pois regula o volume de leite produzido, atraindo água do sangue para a glândula mamária, equilibrando a pressão osmótica (Hortolani, 2023). Por sua vez, à medida que o volume de leite se reduz ao longo do tempo, componentes como gordura e proteína se incrementam, visto que os sólidos ficam mais concentrados por litro de leite (Oliveira, 2023).

Tabela 2 – Composição do leite de vacas submetidas a diferentes protocolos para controle da mastite subclínica

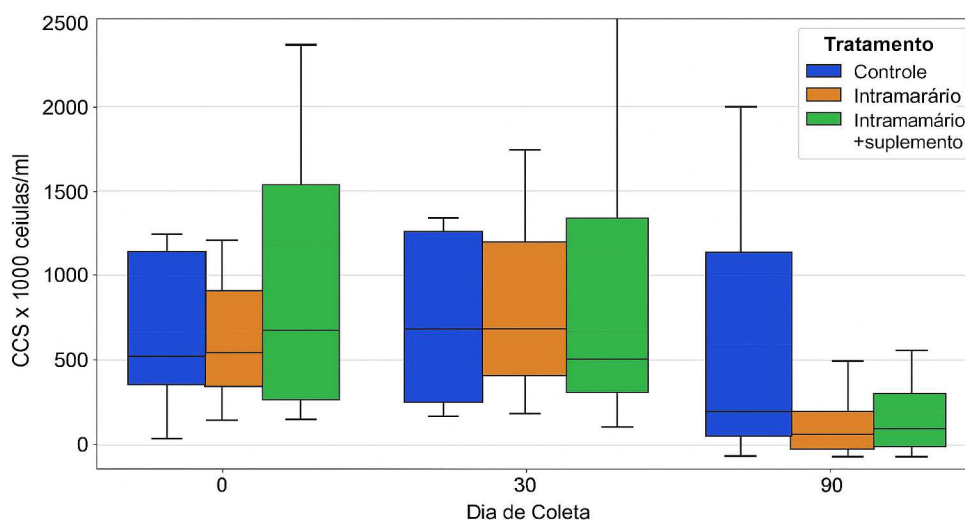
Protocolos	Dias de experimento			p-valor	Coeficiente (dia)
	0	30	90		
Lactose (%)					
Controle	4,05±1,21	4,31±0,41	4,55±0,36	0,0096	+0,0022a
Bisnaga	4,07±1,16	4,06±0,25	4,54±1,21	0,157	+0,0020
Bisnaga + Suplemento	4,08±0,32	4,06±1,15	3,95±0,30	0,153	+0,0018
Proteína (%)					
Controle	3,09±0,95	3,47±0,36	3,44±0,48	0,578	+0,0008
Bisnaga	3,24±1,02	3,28±0,48	3,58±1,03	0,557	+0,0011
Bisnaga + Suplemento	3,06±0,45	3,16±0,98	3,03±0,33	0,159	+0,0019
Gordura (%)					
Controle	3,22±1,35	3,50±0,98	3,86±0,61	0,187	+0,0048
Bisnaga	3,38±1,47	3,54±0,96	3,43±1,08	0,412	-0,0025
Bisnaga + Suplemento	3,50±1,37	3,18±1,29	3,50±0,75	0,365	+0,0038

Fonte: O autor (2025)

A análise da variável CCS entre os grupos de tratamento não revelou diferença significativa ($P < 0,05$). No entanto, ao aplicar o teste de Wilcoxon, para comparação entre os dias de tratamento dentro de cada grupo, verificou-se que o

grupo intramamário apresentou redução significativa entre os dias 30 e 90. Já o grupo que recebeu o tratamento intramamário associado ao suplemento, apresentou redução da CSS entre os dias 0 e 90 e 30 e 90. O grupo controle não apresentou diferença significativa entre os dias de avaliação (Gráfico 3). Isso demonstra que os tratamentos utilizados contribuíram com a redução dos níveis de CCS ao longo do tempo.

Gráfico 3 - Contagem de Células Somáticas ao longo do tempo dentre os tratamentos



Fonte: O autor (2025)

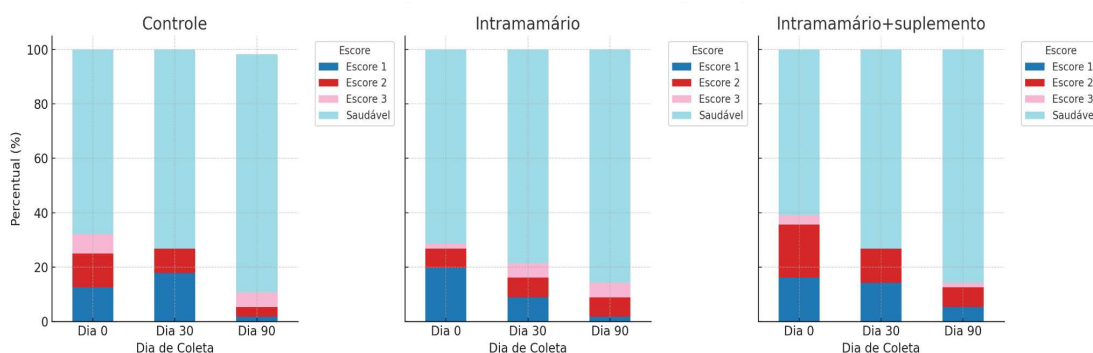
Esses resultados podem estar relacionados ao fato de que os óleos essenciais possuem um tempo de ação mais prolongado dentro da glândula mamária. Conforme observado no estudo de Teixeira (2023), que utilizou um gel fitoterápico à base de óleos essenciais no tratamento da mastite bovina, inicialmente em testes *in vitro* e posteriormente *in vivo*, houve avaliação dos efeitos sobre a CCS, sendo observada uma melhora progressiva ao longo das semanas, indicando que a resposta é mais duradoura em comparação aos métodos convencionais.

Além disso, as propriedades antimicrobianas presentes nos óleos essenciais atuam diretamente sobre a integridade celular das bactérias, desestruturando a membrana e comprometendo processos metabólicos essenciais para a sobrevivência microbiana. Por ser lipofílico favorece sua interação com a bicamada fosfolipídica das membranas celulares bacterianas, aumentando sua permeabilidade e provocando o extravasamento de compostos importantes do interior da célula. Este efeito está relacionado principalmente à presença de compostos fenólicos,

como carvacrol, timol e eugenol, que desorganizam a membrana e prejudicam o funcionamento de enzimas essenciais, resultando na destruição da célula bacteriana (Regis et al., 2024).

A partir da aplicação do teste de CMT, observou-se ao longo do tempo um aumento significativo no escore de grau 1 no grupo submetido ao tratamento intramamário ($p=0,0275$) (Gráfico 4). Por outro lado, os grupos controle ($p=0,1078$) e intramamário associado ao suplemento ($p=0,3962$) não apresentaram alterações estatisticamente significativas nesse escore. Em relação aos escores de grau 2 e 3, nenhum dos grupos demonstrou mudança significativa ($p>0,05$) ao longo do tempo. No entanto, o grupo tratado com intramamário associado ao suplemento apresentou um aumento significativo na frequência de animais saudáveis ao longo do tempo ($p=0,0084$). Já os grupos controle ($p=0,070$) e intramamário ($p=0,102$) não mostraram diferença significativa em relação ao percentual de quartos mamários saudáveis. Esses indicadores corroboram a melhora observada na CCS no grupo que recebeu o tratamento intramamário com a suplementação, evidenciando sua eficácia.

Gráfico 4: Percentual dos escores de CMT por tratamento ao longo do tempo



Fonte: O autor (2025)

Esses resultados obtidos sugerem um efeito sinérgico entre o tratamento local e a suplementação, o qual promoveu melhoras significativas na saúde da glândula mamária dos animais, conforme evidenciado pela redução da CCS e pelo aumento de glândulas saudáveis, evidenciando assim a sua contribuição para a recuperação clínica e a manutenção da saúde do úbere.

Na propriedade foram identificados sete tipos de patógenos distintos, sendo que aproximadamente 73% das ocorrências estão relacionadas a *Staphylococcus spp.* não aureus, *Bacillus spp.* e *Staphylococcus aureus* (Tabela 3), indicando que a

maior parte das contaminações bacterianas estão associadas a esses três grupos, enquanto os demais patógenos foram encontrados com menor frequência.

Tabela 3 - Quantidade de patógenos presentes na propriedade durante o período experimental

Patógeno	Ocorrência (n)	%
<i>Staphylococcus spp.</i>	32	27,59%
<i>Bacillus spp.</i>	29	25,00%
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	20,69%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	12	10,34%
<i>Escherichia coli</i>	10	8,62%
<i>Lactococcus lactis</i>	5	4,31%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4	3,45%

Fonte: O autor (2025)

O *Staphylococcus aureus* é um dos principais patógenos causadores da mastite bovina. Este microrganismo é capaz de causar infecções profundas no tecido mamário, reduzindo a quantidade de tecido secretor saudável e, conseqüentemente, a produção de leite pela glândula afetada. Além disso, apresenta diversos fatores de virulência, incluindo a capacidade de formar biofilmes, o que dificulta a ação de antimicrobianos e contribui para a persistência das infecções (Ferreira, 2020).

A transmissão deste patógeno ocorre predominantemente durante o processo de ordenha, caracterizando a mastite contagiosa. Devido à elevada prevalência de casos subclínicos no rebanho, a ausência de sinais clínicos evidentes e seu diagnóstico depender da realização do teste de CMT, favorece a disseminação silenciosa do agente etiológico entre os animais do rebanho. Essa condição está diretamente relacionada ao aumento da CCS no leite do tanque, impactando negativamente no preço pago por litro de leite. Além disso, infecções persistentes elevam o risco de comprometimento irreversível do tecido mamário, resultando na diminuição da produção ou na perda funcional do quarto mamário afetado o que

impacta diretamente no preço recebido ao litro de leite, além do risco da perda do quarto mamário (Santos; Alves, 2016).

Os microrganismos *Bacillus spp.* e *Escherichia coli* estão entre os principais agentes etiológicos da mastite ambiental. Esses patógenos são frequentemente encontrados em ambientes contaminados, como cama suja, fezes, água estagnada e solo, principalmente em propriedades com manejo de higiene inadequado. A infecção se manifesta por sinais clínicos evidentes, incluindo edema e vermelhidão na glândula mamária, além de alterações visíveis no leite, como presença de grumos ou coloração anormal. Por ser uma infecção aguda e agressiva, a intervenção deve ser imediata, evitando complicações sistêmicas e minimizando os prejuízos à produção de leite (Santos; Fonseca, 2019).

Tabela 4 - Porcentagem de ocorrência de patógenos dentro de cada tratamento ao longo do tempo

Protocolos	Patógenos	Dia 0		Dia 30		Dia 90	
		Ocorrência (n)	%	Ocorrência (n)	%	Ocorrência (n)	%
Controle	<i>Escherichia coli</i>	3	21,43	1	7,14	0	0,0
	<i>Staphylococcus spp.</i>	3	21,43	4	28,57	1	12,5
	<i>S. agalactiae</i>	3	21,43	0	0,0	1	12,5
	<i>S. aureus</i>	3	21,43	3	21,43	3	37,5
	<i>Bacillus spp.</i>	2	14,28	4	28,57	2	25,00
	<i>L. lactis</i>	0	0,0	1	7,14	0	0,0
	<i>S. dysgalactiae</i>	0	0,0	1	7,14	1	12,5
	TOTAL	14	100	14	100	8	100
Bisnaga	<i>Escherichia coli</i>	1	7,69	1	5,88	0	0,0
	<i>Staphylococcus spp.</i>	4	30,77	6	35,29	3	42,86
	<i>S. agalactiae</i>	2	15,38	1	5,88	0	0,0
	<i>S. aureus</i>	1	7,69	1	5,88	2	28,57
	<i>Bacillus spp.</i>	4	30,77	7	41,18	2	28,57
	<i>L. lactis</i>	1	7,69	1	5,88	0	0
	<i>S. dysgalactiae</i>	0	0,0	0	0,0	0	0
	TOTAL	13	100	17	100	7	100
Bisnaga + Suplemento	<i>Escherichia coli</i>	1	8,33	3	11,54	0	0,0
	<i>Staphylococcus spp.</i>	5	41,67	6	23,08	0	0,0
	<i>S. agalactiae</i>	2	16,67	3	11,54	0	0,0
	<i>S. aureus</i>	2	16,67	5	19,23	3	60,0
	<i>Bacillus spp.</i>	0	0,0	5	19,23	2	40,0

<i>L. lactis</i>	0	0,0	2	1,72	0	0
<i>S. dysgalactiae</i>	2	16,67	2	1,72	0	0
TOTAL	12	100	26	100	5	100

Fonte: O autor (2025)

A análise da frequência dos patógenos em cada tratamento ao longo do tempo revelou, que, em todos os tratamentos, houve um aumento na proporção de patógenos durante a segunda coleta, seguido por uma redução na terceira coleta. Isto possivelmente pode estar relacionado às condições ambientais ou ao manejo da propriedade neste período, ocasionando este aumento temporário na população bacteriana (Tabela 4). Entre os microrganismos observados, destacam-se os *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* spp., que se mostraram os mais persistentes, estando presentes em praticamente todas as coletas e tratamentos, indicando sua elevada resistência aos tratamentos e ao ambiente da propriedade.

A diminuição da ocorrência de patógenos na terceira coleta reflete os resultados observados na melhora significativa da CCS nos tratamentos com aplicação intramamária e com aplicação intramamária associada ao suplemento, bem como o aumento no número de glândulas mamárias saudáveis no tratamento intramamário + suplemento. Esses achados evidenciam o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais, corroborando os estudos de Silva et al. (2025), que destacam, em suas pesquisas, o potencial dos óleos essenciais no controle de patógenos causadores da mastite bovina.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de bisnaga intramamária reduziu a CCS ao longo do tempo e aumentou a quantidade do escore de grau 1 de CMT. Já o protocolo com bisnaga intramamária associado com o suplemento alimentar auxiliou na persistência da lactação, reduziu os níveis de CCS, e aumentou a frequência de quartos mamários saudáveis. Os patógenos mais frequentes na propriedade foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.* não aureus e *Bacillus spp.*

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, A, C; et al. Mastite em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2016. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/pvb/a/sTnKKCCMgPWxTmFM3NzDfdq/?lang=pt>. Acesso em 01 de set. 2024.
- BORGES, J, L. **Estudo das atividades antimicrobianas de óleos essenciais e suas associações no controle da mastite em bovinos**. Tese (Doutorado em Ciência Animal com ênfase em Produtos Bioativos) – UNIPAR, 2023.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018. Disponível em:
<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2019/04/INSTRU%C3%87%C3%83O-NORMATIVA-N%C2%BA-76-DE-26-DE-NOVEMBRO-DE-2018-Di%C3%A1rio-Oficial-da-Uni%C3%A3o-Imprensa-Nacional.pdf>. Acesso em 16 de setembro de 2025.
- BRASIL. **Produção de leite no Brasil em 2022 (mil litros)**. Ministério da Agricultura e Pecuária – MAPA. Disponível em:
https://mapaindicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/DSN_OQL/DSN_OQL.html. Acesso em 15 de jun. 2024.
- BRASIL. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. **Pesquisa da Pecuária Municipal, 2023**. Disponível em:
<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2023>. Acesso em: 08 jun. 2024.
- BRITO, R, F. **Análise do ponto de congelamento do leite por método de precisão e por espectroscopia com Transformada de Fourier no Infravermelho (FTIR)**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, 2019.
- CAMPANHA, E, R; et, al. Óleos essenciais como suplementação na dieta de vacas leiteiras e a sua influência na composição do leite. **Vet. e Zootec.** 2023; v.30: 001-014.
- COSER, S, M; LOPES, M, A; COSTA, G, M. Mastite bovina: controle e prevenção. **Boletim técnico, Universidade Federal de Lavras – Departamento de Medicina Veterinária**. n.º 93 - p. 1-30, Lavras, 2012.

DERAL. **Números da Pecuária Paranaense – 16 de outubro de 2023**. Governo do Paraná - Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, 2023. Disponível em: https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2023-12/N%C3%BAmeros%20da%20Pecuaria_23_pdf.pdf#:~:text=Vacas,Ordenhadas%2015.740.153. Acesso em 13 de jun. 2024.

DIAS, J, A; ANTES, F, G. Qualidade físico-química, higiênico-sanitária e composicional do leite cru Indicadores e aplicações práticas da Instrução Normativa 62. **EMBRAPA**, Porto Velho, 1 edição, p. 7-8, Out. 2014. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1018827/1/Doc158leite.pdf>. Acesso em 23 de jun. 2024.

DIAS, J, A; SOUZA, G, N; GREGO; C, R. **Qualidade do leite na Amazônia**. **EMBRAPA**, 2019. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1126173/1/cpafro18459.pdf>. Acesso em 25 de jun. 2024.

FERREIRA, E, M. **Fatores de patogenicidade de Staphylococcus spp. em leite de vacas com tratamento não convencional da mastite**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Programa de pós Graduação de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2020.

FILGUEIRAS, E, A. **Contagem de células somáticas e sua relação com a produção e a qualidade do leite e derivados**. Seminário (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, 2011.

FIORDALISI, S, A, L. **Extratos de própolis no tratamento da mastite bovina: avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana e da viabilidade celular em explantes da glândula mamária**. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

FIORDALISI, S, A, L. **Potencial de produtos naturais no controle da mastite bovina: teor de fenólicos e flavonoides, atividade microbiana e efeitos sobre células epiteliais mamárias bovina**. Tese (Doutorado em Agroecossistemas) -

Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2018.

FONSECA, M, E, B; et al. Mastite bovina: Revisão. **PUBVET**, Rio de Janeiro, v.15, n.02, a743, p.1-18, Fev. 2021.

FRANCISCATO, L, M, S, S. Antimicrobial activity of cinnamon (Cinnamomum verum) essential oil and cinnamaldehyde against Staphylococcus aureus. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. 1-16, set. 2022.

FREIRE, J. **Conheça os 5 maiores produtores de leite do mundo**. Compre Rural, 2024. Disponível em:

<https://www.comprerural.com/conheca-os-5-maioresprodutores-de-leite-do-mundo/>.

Acesso em 08 jun. 2024.

HORTOLANI, B. **Impactos da nutrição sobre a composição do leite**. Milkpoint, 2023. Disponível em:

<https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/impactos-da-nutricao-sobre-a-composicao-do-leite-234042/>. Acesso em 30 de jun. 2025.

L KUNG JR, P WILLIAMS, RJ SCHMIDT, W HU. Uma mistura de óleos essenciais de plantas usados como aditivo para alterar a fermentação da silagem ou usado como aditivo alimentar para vacas em lactação. **National Library of medicine**, 2008. Disponível em:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19038954/>. Acesso em 20 de setembro de 2025.

LOPES, T, S. **Estudo sobre a ação de óleos essenciais no controle de microrganismos causadores de mastite bovina**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, 2020.

MACEDO, S, N; CORTINHAS, C, S; SANTOS, M, V. Cultura microbiológica do leite na fazenda: uma nova ferramenta para o diagnóstico de mastite. **Revista leite integral**, 2023. Disponível em:

<https://www.revistaleiteintegral.com.br/noticia/cultura-microbiologica-do-leite-nafazenda-uma-nova-ferramenta-para-o-diagnostico-de-mastite>. Acesso em 02 de set. 2024.

MARLADETE, A. **Impacto global na produção de leite em 2024**. AGROLINK, 2024. Disponível em:

https://www.agrolink.com.br/noticias/impacto-global-na-producao-de-leite-em-2024_488189.html. Acesso em 10 de jun. 2024.

MARLADETE, A. **Produção Mundial de leite: perspectivas e desafios.**

AGROLINK, 2024. Disponível em:

https://www.agrolink.com.br/noticias/producaomundial-de-leite--perspectivas-e-desafios_487578.html#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20global%20de%20leite%20tem%20apresentado%20varia%C3%A7%C3%B5es,2022%20e%20uma%20estimativa%20de%201%2C3%25%20para%202023. Acesso em 11 de jun. 2024.

MARQUES, B, B, P; et al. Mastite bovina: impactos, diagnóstico e abordagens terapêuticas. *In: XXVIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica - Universidade do Vale do Paraíba*, 2024.

MATURANA, N, L; et al. Avaliação da atividade bacteriostática e bactericida da lactoferrina em isolados de mastite bovina. *In: ENCONTRO DE ATIVIDADES CIENTÍFICAS DA UNOPAR*. 10., 2007, Londrina. **Anais [...]** Londrina: UNOPAR ed., 2007.

MILKPOINT. **Sudoeste do Paraná aumentou a produção de leite em 98% em 10 anos.** MILKPOINT, 2020. Disponível em:

<https://www.milkpoint.com.br/noticias-mercado/giro-noticias/sudoeste-e-maior-produtor-de-leite-no-parana-220596/>. Acesso em 15 de jun. 2024.

NEVES, M, F. **A bovinocultura leiteira brasileira.** Veja negócios, 2024. Disponível em: <https://veja.abril.com.br/coluna/mundo-agro/a-bovinocultura-leiteira-brasileira/>. Acesso em 12 de jun. 2024.

NEVES, R, B, S. **Resposta imune da glândula mamária de bovinos: específica e inespecífica – Uso de citocinas na imunomodulação.** Seminário (Doutorado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

OGORA, J, F. **Indústria de laticínios amplia importância da cadeia produtiva do leite no Paraná.** Redação Bem Paraná, 2020. Disponível em:

<https://www.bemparana.com.br/noticias/parana/industria-de-laticinios-ampliaimportancia-da-cadeia-produtiva-do-leite-no-parana/>. Acesso em 14 de jun. 2024

OLIVEIRA, L, A. **Fatores que afetam a qualidade do leite**. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia goiano, Goiás, 2023.

OYARZABAL, M, E, B. **Aplicação do óleo essencial do orégano (*Origanum vulgare*) no tratamento da mastite bovina e presença de fungos no leite bovino *in natura***. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.

PORN, T, A; et, al. Ozone therapy as a treatment method for bovine mastitis – Literature review. **Seven Editora**, [S. l.], p. 990–996, 2024. Disponível em: <https://sevenpublicacoes.com.br/editora/article/view/4182>. Acesso em: 21 out. 2024.

REGIS, T; et al. Mastite Bovina: Terapias alternativas. **Rev. ESFERA ACADÊMICA SAÚDE** (ISSN 2675-5823), vol. 9, nº 1, p. 70-82, 2024.

REVISTA OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMIA LATINOAMERICANA, Curitiba, v.23, n.1, p. 01-13. 2025.

RUMINANTES. Observatório do leite e produtos do leite (FAO – FOOD OUTLOOK, NOV. 2023). **Revista Ruminantes**, 2023. Disponível em: <https://revistaruminantes.com/2023/11/20/observatorio-do-leite-e-produtos-do-leite-fa-o-foodoutlook-nov-2023/>. Acesso em 11 de jun. 2024.

SALDANHA, M. **Produção de leite: saiba quais são os principais fatores que afetam a produção**. Dsm-firmenich, 2022. Disponível em: <https://apecuariadeprecisao.com.br/blog/producao-de-leite/>. Acesso em 30 de jun. 2025.

SANTANA, B, B. **Ação antimicrobiana do óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) frente ao agente da mastite: *Staphylococcus aureus***. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Brasil, Fernandópolis, 2019.

SANTOS, M, V; Alves, B, G. **Práticas de manejo associadas com ocorrência de *Staphylococcus aureus* no tanque**. Milkpoint, 2016. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/praticas-de-manejo-as-sociadas-com-ocorrencia-de-staphylococcus-aureus-no-tanque-206083/>. Acesso em 31 de out. 2025.

SANTOS, M, V; FONSECA, L, F, L. **Controle da mastite e qualidade do leite: desafios e soluções**. 1. ed. São Paulo, 2019.

SANTOS, M, V; FREU, G. **Cultura microbiológica na fazenda: despesa ou investimento?**. MILKPOINT, 2022. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/cultura-microbiologica-na-fazenda-despesa-ou-investimento-229119/>. Acesso em: 28 de ago. 2024.

SANTOS, M, V; TOMAZI, T; GONÇALVES, J, L. **Novas estratégias para o tratamento da mastite bovina – parte 1**. MILKPOINT, 2012. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/novas-estrategiaspara-o-tratamento-da-mastite-bovina-parte-1-204258/>. Acesso em 02 de set. 2024.

SANTOS, W, B, R; et al. Mastite bovina: uma revisão. **Colloquium Agrariae**, Goiás, vol. 13, n. Especial, p. 301-314, Jan–Jun, 2017.

SILVA, T, A, S; et al. **Manual de qualidade do leite**. Família do leite, 2022. Disponível em: <https://familiadoleite.com.br/uploads/familiadoleite.com.br/QUALIDADE%20DO%20LEITE.pdf>. Acesso em: 24 de jun. 2024.

TEIXEIRA, I, C. **Gel fitoterápico a base de óleo essencial no tratamento da mastite bovina**. Repositório institucional, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ifes.edu.br/handle/123456789/4616>. Acesso em 20 de setembro de 2025.

TEIXEIRA, S. Mastite subclínica – aprenda a diagnosticar. **Cursos bovinos gado de leite**, 2023. Disponível em: <https://www.cpt.com.br/cursos-bovinosgadodeleite/artigos/mastite-subclinica-aprenda-a-diagnosticar>. Acesso em 01 de set. 2024.

UFMG. Tratamento da mastite à base de barbatimão pode aumentar os lucros do produtor de leite. **Revista veterinária**, 2011. Disponível em: <https://www.revistaveterinaria.com.br/barbatimao-pode-ser-alternativa-sustentavelno-tratamento-da-mastite-bovina/>. Acesso em 01 de setembro de 2024.

WALCHER, U. **Mastite bovina**. Revisão bibliográfica – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Medicina Veterinária. p.1-16, Porto Alegre, 2012.