

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS E DE MANEJO DE REBANHOS
LEITEIROS CORRELACIONADOS À QUALIDADE DO LEITE CRU
REFRIGERADO**

ALESSANDRA MARIA CORTEZI

Médica Veterinária

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS E DE MANEJO DE
REBANHOS LEITEIROS CORRELACIONADOS À QUALIDADE
DO LEITE CRU REFRIGERADO**

ALESSANDRA MARIA CORTEZI

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Centola Vidal-Martins

Co-orientadora: Profa. Dra. Karina Paes Bürger

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área: Medicina Veterinária Preventiva.

2014

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALESSANDRA MARIA CORTEZI – nascida em 21 de novembro de 1986, na cidade de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, é Médica Veterinária formada pelo Centro Universitário de Rio Preto – UNIRP em 2010. Durante a graduação realizou estágio curricular em uma propriedade produtora de leite (Fazenda Santo Antônio) no município de José Bonifácio, Estado de São Paulo, acompanhando o manejo higiênico-sanitário dos animais durante a ordenha, bem como o controle e prevenção da mastite bovina e também todas as atividades referentes ao manejo reprodutivo do rebanho. Realizou também estágio curricular na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento (APTA) no município de Mirassol, no Estado de São Paulo, acompanhando as pesquisas relacionadas ao controle de endoparasitas gastrointestinais em ovinos, confinamento de gado de corte e seleção de forrageiras. Durante a pós-graduação pode participar de projetos de pesquisa no Laboratório de Leite e Derivados do DETA na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de São José do Rio Preto, aprendendo técnicas analíticas e elaboração de projetos de pesquisa. Realizou pós-graduação *latu sensu* em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal no Instituto de Pós-Graduação Qualittas (500 horas). Ministrou duas disciplinas; Bioética e Atendimento e Controle Sanitário de Produtos de Origem Animal, no curso de técnico em veterinária do Colégio e Faculdade Uniterp em São José do Rio Preto – SP. Participou de cursos importantes para a realização do presente estudo: I e II Simpósio de Qualidade de Leite (16 horas) e International Mastitis Course (14 horas). Ainda, membro do grupo de estudo cadastrado no CNPq, intitulado Grupo de estudos em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal, sob coordenação da Profa. Dra. Ana Maria Centola Vidal-Martins, da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo (FZEA/USP), onde foi membro da comissão organizadora do 1º Ciclo de Palestras em Qualidade de Produtos de Origem Animal – realizado pela FZEA – USP, Pirassununga-SP (4 horas).

EPÍGRAFE

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível”.

Charles Chaplin

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a minha família pela
fé e confiança demonstrada
Aos meus amigos pelo apoio incondicional
A minha orientadora pela paciência e dedicação
demonstrada no decorrer deste trabalho
Enfim a todos que de alguma forma
tornaram este caminho mais fácil de ser
percorrido

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora por nunca terem me deixado desistir, me dando muita força e fé nos momentos mais difíceis, me iluminando para que seguisse sempre o caminho certo.

A minha querida orientadora Profa. Dra. Ana Maria Centola Vidal-Martins por toda a dedicação desde o início deste trabalho, por seus ensinamentos, paciência, amizade, companheirismo e competência. Por sempre acreditar que seria capaz de realizar este trabalho. Um exemplo de profissional e mulher!

Aos meus pais Alexandre Augusto Cortezi e Marta Regina Belchior Cortezi, por terem me dado toda força e incentivo, sendo essenciais para que eu chegasse até aqui, pelo amor e dedicação que sempre prestaram e por estarem sempre presentes em todos os momentos da minha vida, tenho certeza que sem vocês não seria possível a realização deste sonho. Amo vocês!

A minha irmã, amiga e companheira Lisia Maria Cortezi, por estar sempre presente em minha vida, me dando apoio em todas as minhas decisões, acreditando que tudo vai dar certo, se preocupando comigo e torcendo sempre pela minha felicidade. Te amo, irmã!

Ao meu sobrinho Alexandre, essa criança maravilhosa que Deus colocou em nossas vidas, por encher meu coração de alegria e amor e me mostrar o lado simples da vida.

A Andréia Cristina Nakashima Vaz, por toda a paciência e ensinamento prestado, pela amizade e força durante todo o período que passamos no laboratório. Uma grande profissional!

Ao Prof. Dr. Arlindo Saran Netto, por toda dedicação e ajuda prestada durante as coletas e correções.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral, por ter acreditado em minha capacidade de realizar o mestrado e ser um exemplo profissional a ser seguido.

Ao Prof. Dr. Waldir Barros pela força prestada desde o início, acreditando na minha vontade de realizar o mestrado e disponibilizando sua ajuda sempre que precisei.

A minha amiga Tatiana Aparecida Julião que esteve sempre presente em todos os momentos me ajudando, dando conselhos e muita força, além dos momentos de distração que me proporcionou, sendo mais que amiga uma irmã do coração, uma amizade sincera que construímos ao longo deste período e que levaremos para o resto de nossas vidas.

A Fernanda Mendes de Lima, pela ajuda prestada tanto nas coletas como no processamento das amostras, pelo seu comprometimento, força e amizade.

A todos do Laboratório de Saúde Animal e Segurança Alimentar (LMSA & SA) FZEA - USP - Pirassununga – SP, que de forma direta ou indireta me ajudaram a concluir este trabalho, muito obrigada pela amizade, troca de idéias e auxílio prestado.

A todos os produtores de leite que abriram as portas de suas propriedades, aceitando participar deste projeto.

Ao meu tio Antônio Afonso Cortezi um exemplo de docente e profissional, que sempre me auxiliou com conselhos que foram muito validos durante todo o mestrado.

A Capes pela Bolsa de mestrado proporcionada.

Aos Funcionários e professores da Pós Graduação e do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV – UNESP, pela paciência, ensinamentos e momentos de apoio e descontração.

E a todos da minha família que de alguma forma puderam contribuir para que eu chegasse até aqui, acreditando sempre na minha competência, na minha dedicação, me dando forças e palavras de incentivo. Muito obrigada!

SUMÁRIO

Assunto	Página
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE QUADROS.....	v
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO.....	06
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	07
2.1 Leite	07
2.2 Mastite.....	10
2.3 Alterações no leite causadas pela mastite.....	14
2.4 Diagnóstico de mastite bovina.....	17
2.5 Medidas de prevenção, controle e tratamento da mastite.....	19
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivos gerais.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Colheita de amostras.....	24
4.1.1 Teste da caneca de fundo escuro e CMT.....	25
4.1.2 CCS e CBT.....	25
4.2 Isolamento microbiológico.....	26
4.2.1 Provas bioquímicas.....	26
4.2.2 Antibiograma.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
6 CONCLUSÕES.....	51
7 REFERÊNCIAS.....	52
ANEXO.....	66

CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS E DE MANEJO DE REBANHOS LEITEIROS CORRELACIONADOS À QUALIDADE DO LEITE CRU REFRIGERADO

RESUMO -O objetivo do presente trabalho foi de avaliar 10 propriedades, produtoras de leite cru refrigerado, localizadas no Sudeste do Estado de São Paulo, quanto às condições higiênico-sanitárias do rebanho bem como o manejo; e correlacionar a qualidade do leite produzido por cada uma delas com o estabelecido pela IN62 de 2011. Foi aplicado um checklist, foi avaliado o índice de mastite clínica e subclínica e identificados os micro-organismos envolvidos e seu perfil de sensibilidade a antimicrobianos, assim como analisados os parâmetros físico-químicos, de Contagem de Células Somáticas (CCS) e microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente. Após a aplicação do checklist era realizado o teste da caneca de fundo escuro e o California Mastitis Tests (CMT), e colhidas amostras dos quartos positivos em tubos estéreis para isolamento microbiológico. As amostras de leite colhidas dos tanques de expansão eram submetidas à CCS, Contagem Bacteriana Total (CBT) e a análise de composição. Dos 1280 quartos mamários avaliados, 43,67% foram positivos ao CMT, caracterizando mastite subclínica e 2,89% dos quartos positivos ao teste da caneca de fundo escuro caracterizando mastite clínica. O *Staphylococcus aureus* foi o micro-organismo mais isolado, sendo que nos casos de mastite clínica ele representou 64,86%, seguido de *S. epidermidis* com 18,91% e 2,70% de *S. intermedius*. Nos casos de mastite subclínica o *S. aureus* foi isolado de 73,60% dos quartos analisados, seguido de *S. epidermidis* com 16,57%, *Corynebacterium* sp. com 3,66%, *S. dysgalactiae* com 3,08%, *S. intermedius* com 1,93%, *Bacillus* sp. com 0,58% e *Enterococcus* sp. com 0,59%. No teste de sensibilidade antimicrobiana, *in vitro*, o Florfenicol foi o antimicrobiano, do qual os micro-organismos isolados nos casos de mastite clínica apresentaram maior sensibilidade. Das 10 propriedades produtoras de leite sete apresentaram valores superiores ao de 500 mil céls./mL para CCS em relação ao estabelecido pela IN62, porém para CBT e proteína, todas atenderam ao estabelecido de no mínimo 300 mil UFC/mL e 2,9 g/100g, respectivamente, porém em relação a extrato seco desengordurado, duas propriedades apresentaram valores abaixo do estabelecido de no mínimo 8,4 g/100g e para gordura uma propriedade apresentou valor abaixo do estabelecido de no mínimo 3,0 g/100g. Sendo assim, pode-se concluir que a maioria das propriedades não apresentou condições higiênico-sanitárias adequadas, justificando os altos índices de mastite subclínica e o isolamento de *Staphylococcus* spp. na maioria dos casos, em decorrência destes fatores o leite cru refrigerado produzido por 9 das 10 propriedades avaliadas não atenderam ao estabelecido pela IN62.

Palavras-chave: CBT, CCS, mastite, IN62

SANITARY-HYGIENIC CONDITIONS AND HANDLING OF LIVESTOCK DAIRY CORRELATED TO THE QUALITY OF RAW MILK REFRIGERATED

ABSTRACT-The objective this study was to assay 10 dairy farms that produce refrigerated raw milk, located in the southeastern of São Paulo State, on the hygienic-sanitary conditions and management of the herd and, if possible, to correlate the quality of the milk produced with the standards recommended by IN62. For this, a checklist was applied together with the assessment of the rate of clinical and subclinical mastitis, identification of the microorganisms involved and their sensitivity to antimicrobials. The microbiological, physical-chemical and SCC parameters were also analyzed according to the established by law. Following application of the checklist, test of the black deep mug and CMT were performed and samples from the positive mammary quarters were collected in sterile tubes for microbiological isolation. Bulk tank milk samples were submitted to SCC, TBC and composition analysis. From 1280 mammary quarters evaluated, 43.67% were positive for the CMT, characterizing subclinical mastitis; and 2.89%, in the test of the black deep mug, characterizing clinical mastitis. *Staphylococcus aureus* was the most frequently isolated microorganism, and in cases of clinical mastitis, represented 64.86% of all positive samples, followed by *S. epidermidis* 18.91% and *S. intermedius* 2.70%. In cases of subclinical mastitis, *S. aureus* was isolated from 73.60% of the quarters examined, followed by *S. epidermidis* 16.57%, *Corynebacterium* sp. 3.66%, *S. dysgalactiae* 3.08%, *S. intermedius* 1.93%, *Enterococcus* sp. 0.59% and *Bacillus* sp. 0.58%. Regarding the in vitro antimicrobial susceptibility test, florfenicol was the antibiotic to which the microorganisms isolated in clinical mastitis cases showed higher sensitivity. Of the 10 farms milk producers seven had values higher than the 500,000 cels. / mL for SCC in relation to that established by IN62, but for TBC and protein, all attended the set of at least 300,000 CFU / mL and 2.9 g / 100g, respectively, but for nonfat dry extract, two properties had values below the set of at least 8.4 g / 100 g fat and a property presented valore below the set of at least 3.0 g / 100g. Thus, it can be concluded that most of the properties did not have adequate sanitary conditions, justifying the high rates of subclinical mastitis and isolation of *Staphylococcus* spp. in most cases, as a result of these factors the refrigerated raw milk produced by 9 of the 10 properties assessed did not meet the established by IN62.

Key words: TBC, SCC, mastitis, IN62

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Total de animais avaliados e número e porcentagem de quartos e animais positivos para mastite clínica e subclínica das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.....	36
2. Micro-organismos isolados e sua relação com o número e porcentagem de animais e quartos acometidos com mastite clínica das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.....	37
3. Perfil de sensibilidade antimicrobiana, <i>in vitro</i> , dos <i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Corynebacterium</i> sp., isolados dos casos de mastite clínica, das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.....	40
4. Micro-organismos isolados, número e porcentagem de quartos e animais acometidos com mastite subclínica e escore da reação ao CMT, das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.....	41
5. Porcentagem e escore dos quartos mamários positivos ao CMT e CCS, CBT e teores de gordura, proteína e ESD do leite do tanque de expansão, das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.....	45

LISTA DE QUADROS

Quadro	Página
1. Reação entre CCS e escore de CMT.....	25
2. Dados obtidos através da realização do checklist sobre as condições higiênico-sanitárias e de manejo dos animais e das instalações das 10 propriedades produtoras de leite cru refrigerado, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.....	29

1 INTRODUÇÃO

O manejo sanitário dos bovinos leiteiros compreende um conjunto de medidas de natureza profilática que tem a finalidade de impedir que doenças, como a mastite interfiram no desempenho produtivo do rebanho.

A mastite bovina é uma doença de grande importância econômica, caracterizada pela infecção da glândula mamária, causada pela invasão de micro-organismos contagiosos ou ambientais. Esta pode se manifestar de forma clínica ou subclínica, causando alterações físico-químicas e microbiológicas no leite e conseqüentemente redução na produção e na qualidade do leite dos quartos mamários afetados, além de interferir no processo industrial de derivados lácteos, levando a prejuízos econômicos.

A infecção intramamária é o fator que mais afeta a contagem de células somáticas no leite (CCS), sendo tal parâmetro utilizado para avaliar a saúde da glândula mamária, auxiliando no diagnóstico e avaliação da qualidade do leite.

Outro parâmetro que auxilia na avaliação da qualidade do leite é a Contagem Bacteriana Total (CBT), onde valores acima dos limites estabelecidos pela legislação são indicativos de deficiência na limpeza e higienização dos equipamentos de ordenha, do sistema de refrigeração, da glândula mamária e também da presença de mastite.

A CCS e a CBT são critérios de qualidade do leite cru afixados pela Instrução Normativa nº62 (IN62), de 29 de setembro de 2011, que estabelece como limite máximo até 30 de junho de 2016, 500 mil céls./mL para CCS e 300 mil UFC/mL para CBT, sendo que as indústrias de laticínio passam a bonificar ou penalizar pela qualidade do produto visando melhoria dos aspectos do leite como a CBT, CCS, o Extrato Seco Desengordurado (ESD) e a Proteína Total (PT).

Portanto para o produtor, elevadas CCS e CBT significam menor retorno econômico em decorrência da redução na produção, dos gastos com medicamentos e também das penalizações aplicadas pelos laticínios.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leite

Segundo Brito; Lange (2005) o leite é a secreção característica das fêmeas mamíferas, produzido por células do úbere, a partir de nutrientes provenientes do sangue.

De acordo com o RIISPOA (Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal), entende-se por leite o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas, sendo que o leite de outras espécies deve denominar-se segundo a espécie a qual proceda (BRASIL, 1952).

O leite é um sistema coloidal constituído por uma solução aquosa de lactose, sais minerais e outros elementos, em que a proteína se encontra em suspensão e a gordura em forma de emulsão (RIEL, 1991).

Segundo Muller (2002) o leite é um alimento de elevado valor biológico, reconhecido por fornecer micro e macronutrientes essenciais para o adequado crescimento e desenvolvimento do ser humano em suas diferentes fases de vida, sendo largamente consumido pela população.

Dentro deste contexto o termo qualidade do leite tem sido muito utilizado, dada a importância que adquiriu no setor de produção leiteira, fazendo-se necessária a sua correta conceituação. O leite de boa qualidade pode ser caracterizado como um alimento livre de agentes patogênicos e outros contaminantes (resíduos de antibióticos e pesticidas), apresentando reduzida contaminação microbiana, sabor agradável, adequada composição e baixa CCS (SANTOS, 2004).

A pecuária leiteira vem passando, nos últimos anos, por modificações estruturais que resultaram em mudanças na gestão técnica e econômica dos sistemas de produção, neste contexto, a qualidade do leite é uma ferramenta importante para a gestão dos sistemas e para a cadeia de produção de lácteos (KOLLING, 2012).

Segundo projeção do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2014, a produção de leite no Brasil deve aumentar 5%, e se confirmado este

aumento a produção de leite deve chegar a 36,75 bilhões de litros em um ano (IBGE, 2014).

A legislação vigente para o leite no Brasil é Instrução Normativa nº 62 (IN62), que estabelece mudanças nos prazos e nos valores máximos permitidos para CBT e CCS. Sendo estabelecido que a partir de 01 de julho de 2014 até 30 de julho de 2016 para as regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste os valores máximos permitidos para CCS sejam de 500 mil céls./mL e para CBT de 300 mil UFC/mL. Estabelecendo que estes valores alcancem a partir de 01 de junho de 2016, limite máximo de 100 mil céls./mL para CCS e 100 mil UFC/mL para CBT (BRASIL, 2011).

Com relação aos requisitos físico-químicos a IN 62 estabelece teor de gordura de no mínimo de 3,0 g/100g, densidade relativa de 1,028 a 1,034 g/mL, acidez titulável 0,14 a 0,18 g/mL, extrato seco desengordurado de no mínimo de 8,4 g/100g, índice crioscópico de $-0,530^{\circ}\text{H}$ a $0,550^{\circ}\text{H}$ e para teor de proteína de no mínimo 2,9 g/100g (BRASIL, 2011).

Com relação á composição físico-química o leite contém em media 87% de água, 3,5 a 3,7% de gordura, 4,9% de lactose, 3,5% de proteínas e 0,7% de sais minerais. Sendo que esta composição varia de acordo com diversos fatores como individualidade, raça, alimentação, estágio de lactação, número de lactações, idade, temperatura ambiente, estação do ano, fatores fisiológicos, patológicos, persistência de lactação, tamanho do animal e intervalo entre as ordenhas e paralela a estas, existem variações da composição do leite relacionadas á espécie produtora (PRATA, 2001).

Segundo Salomão (2012) a gordura é o componente do leite que apresenta maior variação, sendo fortemente influenciada pela genética e pelo manejo nutricional. Quanto maior o teor de fibra na dieta, maior a concentração de gordura no leite.

A qualidade do leite *in natura* pode ser influenciada por muitos fatores, destacando-se os fatores produtivos como sanidade, manejo dos animais, condições dos equipamentos durante a ordenha, presença de micro-organismos, resíduos de drogas, alimentação, genética dos rebanhos e os relacionados á obtenção, refrigeração e armazenamento do leite (ANDRADE; HARTMANN; MASSON, 2009).

A ordenha, preferencialmente mecânica, deve ocorrer dentro dos mais criteriosos padrões higiênicos porque, mesmo em condições ótimas, o leite apresentará uma carga microbiana inicial que deve ser mantida constante, evitando a multiplicação da mesma no leite e conseqüentemente afetando sua qualidade (COSTA, 2006).

Um importante parâmetro utilizado para se verificar a qualidade do leite é o seu perfil microbiológico, determinado principalmente pela forma de obtenção, armazenamento e transporte. Grupos específicos de micro-organismos são pesquisados para esse fim, como aeróbios mesófilos, psicrotróficos e coliformes. A presença de altos níveis de contaminação microbiana no leite e seus derivados compromete a vida de prateleira desses produtos, devido à deterioração dos seus componentes (SALOMÃO, 2012).

De acordo com a IN 62, a refrigeração eficiente imediatamente após a ordenha, é o primeiro desafio, sendo que a sua manutenção em temperatura inferior a 4°C, não deve ultrapassar três horas pós-ordenha (BRASIL, 2011).

Segundo Langoni (2013), a temperatura de 4°C inibe a multiplicação bacteriana e o número de micro-organismos permanece estável por até 48 horas, havendo após proliferação de bactérias que alteram as características do leite, influenciando na qualidade da matéria prima a ser processada pela indústria, prejudicando conseqüentemente a qualidade dos derivados nos laticínios.

O estado de saúde do animal deve ser observado, pois o leite é sintetizado na glândula mamária e seus componentes são retirados do sangue, dessa forma para se obter um leite de qualidade é necessário que o animal esteja saudável, pois toxinas ou até mesmo micro-organismos patogênicos podem ser excretados no leite afetando sua qualidade (CARVALHO et al., 1995).

Dentre os fatores que afetam a qualidade do leite, destaca-se a infecção da glândula mamária, comumente conhecida como mastite que trata-se de uma doença complexa de caráter multifatorial, envolvendo diversos patógenos, o ambiente e fatores inerentes ao animal, constituindo como uma das causas que desempenham maior influência negativa sobre a qualidade e quantidade de leite produzido (ANDRADE; HARTMANN ; MASSON, 2009).

2.2 Mastite

A mastite é uma inflamação da glândula mamária, que caracteriza-se como sendo uma doença infecciosa mais comum que afeta o rebanho leiteiro. Ela provoca extensas perdas econômicas devido à diminuição da produção de leite, a produção de leite com baixa qualidade, custos elevados com tratamento e abates prematuros de vacas com mastite crônica (MANZI et al., 2012).

Fatores importantes como causadores de mastites estão, as falhas de higiene durante o processo de ordenha, contaminação das mãos dos ordenhadores, problemas com ordenhadeiras mecânicas, vasilhames contaminados e contaminação ambiental, sendo estes fatores que levam a contaminação dos tetos, podendo aumentar as chances de surgimento das doenças. As altas temperaturas e umidade do ar são condições que favorecem o aparecimento de micro-organismos no ambiente onde os animais são mantidos, sendo a manutenção do ambiente o principal fator associado com a prevalência de mastites nos rebanhos (SARKER et al., 2013).

O esfíncter do teto e o canal do teto são importantes barreiras primárias contra a invasão de patógeno no úbere. Assim, é essencial que tais estruturas estejam em condições físicas e de higiene perfeitas para prevenir a infecção intramamária (MANZI et al., 2012).

No manejo da ordenha deve-se assegurar que os tetos estejam limpos e secos antes do seu início, realizando o pré e o pós-dipping onde a imersão dos tetos em solução desinfetante antes da ordenha reduz o número de novas infecções e a imersão dos tetos após a ordenha em solução desinfetante cobrindo toda a extensão do teto é recomendado principalmente para o controle de mastite ambiental (DINGWEEL et al., 2004).

A etiologia da mastite pode ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica, porém os patógenos são considerados como sendo causa predominante, sendo capazes de penetrarem no canal do teto, multiplicar-se e progredirem em direção aos seios lactíferos, ductos coletores e alvéolos, porém, além disso, existem outros fatores que contribuem para a infecção da glândula mamária como estágio de lactação, paridade, nutrição e equipamentos de ordenha (MULLER et al., 2012).

De acordo com a manifestação clínica a mastite é dividida em dois grupos: mastite clínica e subclínica (SIMÕES; OLIVEIRA, 2012).

A mastite na forma clínica é de fácil diagnóstico e apresenta sinais clínicos como formação de edemas no úbere, endurecimento da glândula afetada, aquecimento do teto infectado, reação ao toque em razão da dor, além da presença de grumos, filamentos, pús e sangue no leite que se torna mais aquoso e sofre descoloração (NASCIF JR., 2001).

Segundo Herti et al. (2014), episódios de mastite clínica prejudicam o bem-estar de vacas e estão associados com reduções significativas de produção de leite. Além disso, a mastite clínica é a forma de infecção intramamária (IM) que mais demanda gastos com antimicrobianos e gastos com médico veterinário, além de causar prejuízos na fertilidade e aumento do risco de descarte e morte de vacas acometidas.

A mastite clínica determina perdas elevadas por descarte do leite, gasto com medicamentos, perda funcional da glândula mamária e até por morte do animal. No entanto, os maiores prejuízos são causados pela mastite subclínica (CASSOL et al., 2010).

A mastite subclínica não apresenta sinais clínicos evidentes, sendo que o leite apresenta aspectos macroscópicos normais e não há sinais visíveis de inflamação do úbere, caracterizando-se pela elevação da CCS e mudanças na composição do leite relacionadas com a superfície do tecido mamário atingido pela reação inflamatória (NASCIF JR., 2005).

De acordo com Fonseca; Santos (2000) essa característica da mastite subclínica favorece sua disseminação no rebanho e ainda proporciona ao produtor uma falsa tranquilidade, em relação à ocorrência da mesma. No entanto estima-se que para cada caso clínico da enfermidade ocorrem 35 casos de mastite subclínica.

No Brasil, a alta prevalência da mastite em rebanhos leiteiros representa prejuízo de 12 a 15% na produção. Já na Região Sudeste, onde se encontra a maior bacia leiteira, esses valores variam entre 20 a 71%, respectivamente, nos estados de Minas Gerais e São Paulo (RIBEIRO et al., 2008).

Segundo Pardo et al. (1999) as perdas econômicas que ocorrem na mastite são devidas à redução na produção, ao descarte de leite e de animais, aos gastos

com medicamentos, com serviços veterinários e com o aumento de mão de obra e, em alguns casos, à morte do animal.

A redução na produção de leite é considerada o fator individual mais importante das perdas econômicas da mastite. Estudos realizados no Brasil mostraram que quartos mamários com mastite subclínica produziram em média 25 a 42% menos leite do que quartos mamários normais (PARDO et al., 1999).

Com relação ao agente etiológico envolvido, as mastites são classificadas em ambientais e contagiosas, sendo as mastites ambientais causadas por microorganismos presentes no esterco, barro e água os quais ao ingressar no interior do úbere encontram condições de multiplicação e provocam casos severos de mastite (WALCHER, 2011).

Ainda segundo Walcher (2011) os agentes causadores de mastite ambiental são: *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. e algumas espécies de *Streptococcus* sp. (*S. uberise* *S. dysgalactiae*), *S. epidermiditis*, bolores e leveduras (*Candida* sp., *Cryptococcus* sp. e *Aspergillus* sp.) e algas como prototecas.

A *E. coli* é habitante natural do trato gastrointestinal dos animais, já a *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. são comumente encontradas no solo, grãos, na água, as *Pseudomonas* spp., normalmente contaminam a água utilizada para lavar os tetos dos animais antes da ordenha e o grupo dos *Streptococcus* sp. têm sido isolados de materiais de cama, solo, rúmen, fezes, vulva, lábios, narinas, silagens, forrageiras podendo facilmente contaminar a glândula mamária (HOGAN; SMITH, 2012).

S. dysgalactiae subsp. *dysgalactiae* é um dos patógenos mais comuns de mastite bovina e causa grandes perdas econômicas (SANTOS et al., 2007). Segundo Souza (2010), *S. dysgalactiae* ocupa uma posição intermediária nos grupos de patógenos contagiosos e ambientais da mastite com cepas adaptadas aos animais e ao ambiente. As infecções ocorrem com frequência em vacas secas e novilhas o que mostra a independência do processo de ordenha e o caráter ambiental da bactéria, sua forma de apresentação não é específica variando de casos clínicos a subclínicos.

As mastites contagiosas são causadas por micro-organismos que estão presentes no úbere e são transmitidos geralmente pelas mãos dos ordenhadores e equipamentos de ordenha (SILVA; SANCHES, 2010). Sendo os micro-organismos mais envolvidos neste tipo de mastite o *S. agalactiae*, *S. aureus* e *Corynebacterium bovis* (RIBEIRO JR.; BELOTI, 2012).

No diagnóstico da mastite os *Staphylococcus* spp. são divididos em dois grupos, os coagulase positiva e negativa com base na capacidade de coagular o plasma de coelho (NMC, 1999). Sendo que o *S. aureus* ou Estafilococos coagulase positiva (SCP) são as bactérias mais comuns em infecções mamárias de bovinos leiteiros e responsáveis por grandes gastos com antimicrobianos. O *S. aureus* destaca-se como o micro-organismo causador de mastite contagiosa de maior importância, de maior ocorrência nos rebanhos mundiais e de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antibióticos onde o reservatório primário da infecção é a glândula mamária e a pele do teto, podendo causar infecções subclínicas, resultando em contagem de células somáticas elevadas no leite, queda na produção e também mastite clínica (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

A infecção intramamária por *S. aureus* é transmitida durante a ordenha, quando o micro-organismo presente no leite de uma glândula infectada entra em contato com uma glândula não infectada, penetrando pelo orifício do teto, rompendo o canal de queratina e aderindo-se nas células epiteliais da mesma, diminuindo assim a probabilidade da bactéria ser levada para fora do teto durante a ordenha, esta transmissão ocorre principalmente durante a lavagem e secagem dos tetos através do uso de papel toalha em comum, teteiras, mãos de ordenhadores, moscas e equipamentos de ordenha que não estejam funcionando de forma correta principalmente quando há flutuações no vácuo. Tetos rachados e danos no canal de queratina tornam a glândula mais propensa a desenvolver infecções intramamárias (MIDDLETON, 2013).

Algumas características de virulência contribuem para a persistência do *S. aureus* no tecido mamário, destacando-se a produção de exotoxina, que provoca regiões de necrose e fibrose e certa facilidade para surgimento de cepas resistentes, favorecido pelo uso indiscriminado de antibióticos. Normalmente está envolvido em

tipos severos de mastite, da forma gangrenosa à subclínica, e clinicamente, evolui para quartos hiperêmicos, edemaciados e sinais de toxemia (SANTOS et al., 2003).

Ainda segundo Santos et al. (2003) situações crônicas ou mal tratadas, podem induzir uma mastite gangrenosa hiperaguda, devido ao edema e a congestão da glândula mamária que favorecem a formação de trombos sanguíneos, o que compromete a perfusão e precipita a morte tecidual. Os animais clinicamente afetados por *S. aureus* mostram inchaço moderado na glândula mamária e coágulos visíveis no leite (WOLF, 2010).

Já o grupo de Estafilococos coagulase negativa (SCN), é composto por bactérias consideradas oportunistas, presentes na microbiota da superfície do teto, podendo causar mastite (SANTOS et al., 2011).

Mais de dez espécies de SCN foram isoladas de leite bovino, sendo os mais envolvidos nos casos de mastite os *S. epidermidis*, *S. hyicu*, *S. haemolyticus*, *S. chromogenes*, *S. simulans*, entre outras (THORBER et al., 2009). Ainda de acordo com Santos et al. (2011) as mastites causadas por estes micro-organismos causam fibrose interalveolar do tecido mamário, perda da função secretória e alterações qualitativas e quantitativas do leite produzido pelo quarto afetado ocasionando expressiva queda na produção de leite.

Com relação à mastite causada pelo *Corynebacterium* sp., Gonçalves (2012) relatou que o mesmo é considerado um patógeno secundário que infecta principalmente vacas durante a lactação, sem apresentar sinais clínicos e com aumentos moderados na CCS. Em geral, a mastite provocada por este patógeno pode ser caracterizada por sinais clínicos leves e de pouca alteração na constituição físico-química do leite. Por outro lado, este agente já foi isolado em casos de mastite clínica persistente, e por isso, sendo responsável por alterações na CCS.

2.3 Alterações do leite causadas pela mastite

A mastite subclínica é responsável por provocar mudanças na concentração dos principais componentes do leite, como: proteína, gordura, lactose, minerais e enzimas. O principal fator relacionado com a alteração dos componentes do leite são as lesões provocadas nas células produtoras de leite que resultam no aumento da permeabilidade vascular, o que determina o aumento da passagem de substâncias

do sangue para o leite, tais como sódio, cloro, imunoglobulinas e outras proteínas séricas (STEFFERT, 1993).

Segundo Kitchen (1981) no leite mastítico, há uma redução das proteínas sintetizadas ao nível do tecido mamário, como as alfa e beta-caseínas, alfa-lactoalbumina e beta-lactoglobulina, e um aumento das proteínas de origem sanguínea, como a albumina sérica e as imunoglobulinas, em virtude do aumento de permeabilidade vascular secundária ao processo inflamatório o que no final se traduz em um leite com aumento da concentração de proteína.

Em vacas com mastite, as alterações mais pronunciadas nas características físico-químicas do leite ocorrem no pH e na condutividade elétrica. Em menor escala, o ponto de congelamento ou ponto crioscópico e a densidade podem sofrer alterações causadas pela diminuição dos sólidos totais (FONSECA; SANTOS, 2000).

A CBT avalia a qualidade microbiológica do leite sendo as principais fontes de contaminação bacteriana do leite as superfícies dos equipamentos de ordenha e tanque, superfície externa dos tetos e úbere e os patógenos causadores de mastite no interior do úbere (MOLINERI et al., 2012).

A saúde da glândula mamária, a higiene de ordenha, o ambiente em que as vacas ficam alojadas e os procedimentos de limpeza do equipamento de ordenha são fatores que afetam diretamente a contagem bacteriana total do leite cru (GUERREIRO et al., 2005).

Altas contagens bacterianas indicam falhas na limpeza dos equipamentos, na higiene da ordenha ou problemas na refrigeração do leite (RIBEIRO NETO et al., 2012).

A CBT está relacionada com a composição do leite, principalmente nas concentrações de gordura, proteína, lactose e sólidos totais, e que resultam em alterações nos produtos fabricados pela indústria. Em leites com elevada CBT, a fermentação da lactose por bactérias produz ácido láctico, diminuindo o pH, o qual ainda é um dos problemas enfrentados pelos laticínios. A produção de enzimas extracelulares, como lipases e proteases de origem microbiana, alteram o sabor e o odor, levando à perda de consistência na formação do coágulo para fabricação do queijo e à geleificação do leite UAT (ultra alta temperatura) (TAFFAREL et al., 2013).

Devido às alterações na composição do leite, diversos efeitos, podem ser observados na produção de derivados lácteos entre os quais destacam: menor rendimento industrial, diminuição do valor nutritivo dos alimentos, menor qualidade microbiológica do produto final resultante do aumento na CBT do leite (KITCHEN, 1981).

A técnica de CCS é o instrumento mais moderno e preciso de avaliação da saúde da glândula mamária, individualmente e do rebanho sendo que a análise pode ser coletiva, representativa do rebanho, quando a amostra de leite é retirada do tanque de expansão, ou individual, quando é amostra do leite de cada vaca onde o tipo de análise a ser realizado depende da condição do rebanho quanto à incidência de mastite (GONÇALVES, 2007).

Muitos fatores podem estar envolvidos na alteração da CCS, como estágio de lactação, idade da vaca, estação do ano, tamanho do rebanho, nível de produção de leite, nutrição, gestação, procedimento de ordenha, porém, o fator que exerce maior influência sobre o nível de CCS no leite é a infecção intramamária, onde as vacas com mastite subclínica contribuem substancialmente para a presença de CCS no leite do rebanho (PHILPOT; NICKERSON, 2002).

Segundo Barkema et al. (1999) é importante a avaliação do período de lactação em relação aos níveis de CCS, pois tanto no início quanto no final da lactação seus valores tendem a aumentar, devido às descamações das células epiteliais da glândula mamária.

Ultimamente foi proposto um limite de 100 mil céls./mL para CCS de um quarto mamário sadio e quando a CCS for maior que 200 mil céls./mL o quarto mamário apresenta alta probabilidade de estar infectado (SANTOS, 2006). Segundo Gonçalves (2007) a CCS individual por animal a partir de 250 mil céls./mL indica, com 80% de probabilidade, a presença de infecção no úbere.

Essa faixa de variação pode ser atribuída ao tipo de bactéria causadora de mastite, sendo que os patógenos principais (*S. agalactiae*, *S. aureus*, estreptococos ambientais e *Mycoplasma* sp.) causam maior elevação da CCS no quarto afetado que os patógenos secundários (*Corynebacterium bovis* e *Staphylococcus* spp.) (SANTOS, 2006). Quanto maior for a extensão de tecido mamário afetado maiores

serão as alterações nos componentes do leite, e mais elevada será a CCS (AIRES, 2010).

A CCS do leite do tanque de refrigeração também pode estar altamente correlacionada com a prevalência de mastite subclínicas nos rebanhos, ou seja, quanto maior a CCS, maior a prevalência, estudos apontam correlações de 53 a 83% (EMANUELSON; FUNKE, 1991; LUKAS et al., 2005).

Existe uma relação entre a CCS do tanque de expansão e a porcentagem de quartos mamários contaminados, onde rebanhos com índices de mastite de 6,2%, 12,8%, 24,3% e 32,6% apresentam CCS de 200 mil, 400 mil, 750 mil e 1.000 mil céls./mL, respectivamente (SOUTO, 2006).

O NMC (1996) relata que a relação existente entre a CCS do leite do tanque e a porcentagem de quartos mamários contaminados é de 6%, 16%, 32% e 48%, apresentando CCS de 200, 500, 1.000 e 1.500 mil céls./mL e perdas na produção de 0%, 6%, 18% e 29%, respectivamente.

2.4 Diagnóstico da mastite bovina

O diagnóstico da mastite clínica pode ser feito pela semiologia, através de sinais clínicos marcantes, como inflamação do úbere, secreção láctea com grumos, sangue e pús, entre outras anormalidades (SCHVARZ; SANTOS, 2012). O teste da caneca de fundo escuro é um processo que consiste no exame dos três primeiros jatos de leite antes da ordenha em uma caneca de fundo escuro, ou telada, neste exame busca avaliar a presença de alterações na secreção láctea características da mastite clínica (WHALCHER, 2011).

Segundo Santos; Fonseca (2001) a mastite clínica também pode ser diagnosticada através da palpação da glândula mamária, onde é possível verificar alterações do parênquima glandular, o aumento de temperatura, vermelhidão no local e consistência enrijecida da glândula.

No caso da mastite subclínica não existem sinais clínicos evidentes da doença, não sendo possível diagnosticá-la sem a utilização de testes auxiliares, sendo que o sinal clássico da mastite subclínica é a elevação da CCS que pode ser mensurada direta ou indiretamente por meio do California Mastitis Test (CMT),

condutividade elétrica, Wisconsin Mastitis Test (WMT) ou pela contagem eletrônica de células somáticas (SANTOS; FONSECA, 2001).

O CMT é um método indireto bastante utilizado para o diagnóstico de mastite subclínica a campo podendo ser realizado no momento da ordenha, este exame é um método prático, de baixo custo sendo capaz de fornecer resultados imediatos ao detectar a presença de processo inflamatório na glândula mamária de forma subjetiva através do aumento das células somáticas, principalmente polimorfonucleares (RIBEIRO JR. et al., 2008).

Segundo Silva (2007) o número de células somáticas no leite tende a aumentar durante a ordenha e permanecerem altos por várias horas. Portanto, para que o resultado seja confiável, o CMT deve ser conduzido antes da ordenha, mas depois da estimulação da vaca e da eliminação dos primeiros jatos de leite.

De acordo com Brito et al. (2007) uma das restrições ao CMT é que tanto no início da lactação quanto no final o leite pode apresentar fisiologicamente um aumento na contagem de células somáticas o que pode interferir no teste.

O teste baseia-se na reação de um detergente aniônico (alquil-lauril sulfato de sódio) capaz de emulsionar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite e conseqüentemente liberar o material presente no núcleo dos mesmos, sendo que o DNA liberado leva a formação de um composto geleificado de intensidade correspondente a quantidade de células presente (BRITO; LANGE, 2005). De acordo com a espessura do gel, o resultado é dado em escores, que variam de traço (leve formação de gel), + (fracamente positivo), ++ (reação positiva) e +++ (reação fortemente positiva) (BRITO et al., 2007).

Ainda segundo BRITO et al. (2007), o grau de positividade é correlacionado com o número de células somáticas sendo, negativo (0 a 200 mil céls./mL de leite), traço (150 a 400 mil céls./mL de leite), + (400 a 1.000 mil céls./mL de leite), ++ (700 a 2.000 mil de céls./mL de leite) e +++ (com mais de 2.000 mil de céls./mL de leite).

O Wisconsin Mastitis Test (WMT), também chamado de viscosímetro é resultado do aprimoramento do CMT, tendo a finalidade de eliminar a subjetividade da interpretação dos resultados obtidos. É realizado em tubos graduados, ao qual se adicionam quantidades exatas de leite e o mesmo reagente utilizado no CMT, em seguida é realizada a homogeneização da mistura com movimentos de rotação do

tubo, invertendo-o e deixando escoar por 15 segundos, retornando-se então a posição inicial (LANGONI, 2000).

O reagente irá agir sobre as células somáticas do leite formando um gel viscoso na presença de alterações como a mastite. Como o tubo é graduado, o resultado será expresso em mililitros, de acordo com a maior ou a menor viscosidade da reação, acrescentando-se, à leitura do teste, quatro zeros ao número constatado (COSER et al., 2012)

A análise da condutividade elétrica do leite é muito utilizada nas máquinas de ordenha mais modernas, que têm incorporado um sistema que permite a análise do leite de cada vaca, ou mesmo de cada teto da vaca a ser ordenhada. Este teste baseia-se no aumento da condutividade elétrica do leite mastítico devido ao aumento na concentração dos íons de Na^+ e Cl^- (AIRES, 2010).

A contagem eletrônica de células somáticas é feita pelo exame de citometria de fluxo, no qual os impulsos luminosos fluorescentes, sob luz ultravioleta, emitidos pelas células, decorrentes da associação DNA – corante (brometo etídio), após sua conversão em impulsos elétricos no tubo fotoaplicador, são lidos por aparelhos específicos. Esses pulsos de luz são convertidos em pulsos elétricos, amplificados eletronicamente filtrados e ordenados por tamanho para que especifiquem as células somáticas. O computador conta os pulsos elétricos como células inflamatórias e os números encontrados são expressos em mil células por mililitro de leite (mil céls./mL) (SILVA, 2007).

O exame microbiológico é o método confirmatório para o diagnóstico da mastite porque revela o agente etiológico específico e permite escolher a terapêutica, se associado ao antibiograma, e profilaxia adequada (MEDEIROS et al., 2008).

2.5 Medidas de prevenção, controle e tratamento da mastite

Os programas de prevenção de mastite, normalmente, buscam reduzir o aparecimento de novas infecções, visto que é impossível manter as vacas em ambiente livre de patógenos (SOUZA, 2013).

Os pontos fundamentais de controle destas infecções consistem na eliminação da infecção existente (tratamento de vaca seca, descarte de casos

crônicos e tratamento durante a lactação), prevenção de novas infecções (medidas de higiene de ordenha e correto funcionamento do equipamento de ordenha) e no monitoramento da saúde da glândula mamária (SANTOS; FONSECA, 2007).

A utilização em conjunto de procedimentos constitui a estratégia mais eficiente no controle preventivo da mastite sendo o manejo de prevenção realizado dentro e fora da sala de ordenha (MALUF et al., 2009).

Rupp et al. (2000) relata que um adequado manejo de ordenha (higiene, procedimentos e equipamentos corretos) pode diminuir o número de animais acometidos por mastite clínica e subclínica, reduzir a taxa de novas infecções, melhorar a CCS do rebanho e a qualidade do leite produzido, isto trará benefícios direto aos produtores de leite, indústrias e consumidores.

Segundo Zeni (2012) um programa de controle de mastite bovina esta quase sempre intimamente ligado, de forma direta ou indireta, com uma ordenha de qualidade, e é por isso que o controle de qualidade e limpeza da ordenha se tornam importantes.

De acordo com Muller (2002) a ordenha deve ser realizada por pessoas treinadas, destacando os princípios de higiene, fisiologia da lactação, funcionamento e manutenção do equipamento.

Os princípios de um procedimento de ordenha adequado incluem higiene do úbere pré-ordenha, estimulação da descida do leite, remoção eficiente do leite e desinfecção do teto pós-ordenha (RODOSTITIS et al., 2007).

Um ponto crucial na profilaxia é a higiene do ordenhador, pois suas mãos são o grande agente transmissor de bactérias para o úbere, para o leite e todo o material utilizado durante a ordenha (DIAS, 2007).

Segundo Silva (2003) antes da ordenha os tetos e a parte inferior do úbere quando apresentarem sujidades devem ser lavados com água corrente de boa qualidade ou água clorada e secar com papel-toalha descartável.

No pré-dipping, deve-se fazer a imersão dos tetos em solução desinfetante antes da ordenha, usando uma solução eficaz, na diluição certa e que não seja irritante para a pele. Deve acabar com todas as bactérias de pele e atuar preferencialmente até a próxima ordenha (SILVA, 2003).

No pós-dipping, a imersão dos tetos deve ser feita em solução anti-séptica depois da ordenha. Essa é considerada uma medida prática, econômica e eficaz para o controle da mastite, reduzindo mais de 50% das novas infecções intramamárias durante a lactação (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

De acordo com Rebhun (2000) é importante que as vacas tenham acesso ao alimento depois da retirada do leite, para mantê-las em pé até que a extremidade do teto seque e o esfíncter do teto feche completamente. Essa técnica ajuda a impedir uma contaminação ambiental imediatamente após a ordenha.

Segundo Muller (2002) a terapia da vaca seca consiste no tratamento das vacas no dia da secagem e tem por finalidade a cura de infecções subclínicas e a prevenção de novas infecções no período seco. Nas primeiras semanas pós secagem a taxa de risco para novas infecções é muito alta. Onde neste período, o tratamento da mastite subclínica apresenta taxa de cura mais elevada em relação ao tratamento durante a lactação.

Com relação ao tratamento de vacas com mastite Erskine (2000) relata que o uso inadequado de antibióticos pode gerar o aparecimento de cepas resistentes e comprometer a eficiência do tratamento. O uso continuado de um determinado antimicrobiano no tratamento dos animais desencadeia um processo de seleção nos micro-organismos que mantém linhagens resistentes ao princípio ativo o que obriga a indústria a sintetizar continuamente novos produtos químicos, gerando dependência destes insumos no processo produtivo, com consequências indesejáveis no custo de produção e na saúde pública (COSTA et al., 2002).

A presença de resíduos de antibiótico afeta os processos de industrialização do leite que retardam o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido láctico, ocasionando custos mais elevados e alteração dos programas de produção, o que afeta a qualidade do leite além de envolver perdas de rentabilidade para a indústria (RAMIREZ et al., 2012).

Outra consequência é a presença de resíduos de antibióticos no leite, o que pode ocasionar uma série de problemas ao consumidor, como a ocorrência de reações de hipersensibilidade e possível choque anafilático em indivíduos mais sensíveis, caracterizando outro relevante risco à saúde pública (MARTINS et al., 2006).

Sendo, assim o controle e prevenção da mastite bovina é uma questão importante dentro da cadeia produtiva do leite, pois sua presença acarreta varias consequências negativas tanto na quantidade, quanto na qualidade do leite produzido (REBHUN, 2000).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do manejo de vacas em lactação em propriedades leiteiras produtoras de leite cru refrigerado, localizadas no Sudeste do Estado de São Paulo, quanto às condições higiênico-sanitárias do rebanho e correlacionar a qualidade do leite produzido com o estabelecido pela IN62.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar as condições higienico-sanitárias e de manejo.
- Avaliar a sanidade de rebanhos leiteiros através do diagnóstico de mastite clínica e subclínica.
- Realizar o isolamento microbiológico de casos de mastite clínica, bem como verificar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos dos isolados.
- Realizar o isolamento microbiológico de casos de mastite subclínica.
- Correlacionar os casos de mastite clínica e subclínica com os micro-organismos mais frequentemente isolados.
- Correlacionar o perfil das propriedades, com o atendimento ao estabelecido pela IN 62 para o leite cru refrigerado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite utilizadas nesse estudo foram obtidas de 10 propriedades produtoras de leite cru refrigerado (A, B, C, D, E, F, G, H, I e J), localizadas no Sudeste do Estado de São Paulo, totalizando 320 animais mestiços, com média de produção de 20 litros/animal/dia, sendo que das 10 propriedades, 4 eram propriedades providas de ordenha mecânica tipo balde ao pé e 6 de ordenha mecânica tipo circuito fechado, todas possuíam tanque de expansão individual sendo as ordenhas realizadas 2 vezes ao dia com intervalo médio entre as ordenhas de 8 a 12 horas.

Foram avaliados no total 1280 quartos mamários por meio do teste da caneca de fundo escuro para diagnóstico de mastite clínica e CMT para diagnóstico de mastite subclínica.

Foi realizado um checklist das condições higiênicas e de manejo dos animais e das instalações durante e após a ordenha com o objetivo de verificar as características individuais dos animais, bem como as características das propriedades (anexo 1).

4.1 Colheita de amostras

No momento da ordenha a secreção láctea foi avaliada por meio do teste da caneca de fundo escuro e CMT. Após a execução dos testes foi realizado o pré-dipping dos quartos mamários em frasco sem retorno com solução de cloro (0,2%) e assepsia dos tetos com solução de álcool 70%, e secagem dos tetos com papel toalha descartável, para subsequente colheita de 10 mL de leite, dos quartos positivos para um dos testes, em frascos estéreis e acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e encaminhadas ao Laboratório Multiusuário de Saúde Animal e Segurança Alimentar da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo – FZEA/USP, Pirassununga – SP, para realização do isolamento microbiológico.

Ao final de cada ordenha foi realizada a colheita de amostras de leite do tanque de expansão em frascos específicos contendo conservantes (com 4 ordenhas sobrepostas ou 48 horas de armazenamento) em cada propriedade, e

enviados para Clínica do leite para a realização de CCS, CBT e teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado.

4.1.1 Teste da caneca de fundo escuro e CMT

O teste da caneca de fundo escuro foi realizado antes da ordenha dos animais descartando os três primeiros jatos de leite a fim de avaliar os aspectos físicos da secreção láctea conforme recomendações do NMC (1999), quanto á presença de grumos, pús, sangue e leite aquoso a fim de avaliar a frequência de mastite clínica.

O CMT foi realizado previamente a ordenha no quarto mamário negativo ao teste da caneca de fundo escuro, a fim de avaliar a ocorrência de mastite subclínica, o resultado foi avaliado em função do grau de gelatinização ou viscosidade da mistura de partes iguais de leite e reagente, onde as reações foram interpretadas com anotação dos escores em negativo, traço, +, ++ e +++, segundo recomendações de Philpot; Nickerson (1991).

Quadro 1. Relação entre escore do CMT e CCS.

Escore do CMT	Reação visível ao CMT	Faixa de CCS (mil céls./mL)
Negativo	Mistura permanece líquida; sem evidência de precipitação	0 - 200
Traço	Leve precipitação; desaparece com movimentos contínuos	150 - 400
+	Precipitação distinta; sem tendência a formação de gel	400 – 1.000
++	Mistura engrossa imediatamente e se concentra	700 – 2.000
+++	Formação de gel e superfície se torna convexa	>2.000

Fonte: BRITO et al. (2007).

4.1.2 CCS e CBT

As amostras de leite foram coletadas em frascos específicos contendo pastilhas do conservante bronopol® para determinação da composição e CCS e, para CBT, em frascos contendo pastilhas de conservante azidiol®, e posteriormente encaminhadas ao Laboratório de Fisiologia da Lactação “Lair Antônio de Souza” (LAFLA) da Clínica do Leite, no Departamento de Produção Animal da Escola

Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP (CASSOLI; MACHADO, 2006).

4.2 Isolamento microbiológico

Aliquotas de 0,01mL de cada amostra de leite foram semeadas em placas de petri contendo ágar sangue de carneiro desfibrinado 5%, ágar McConkey e Manitol salt ágar, onde foram realizadas leituras diárias durante 72 horas a temperatura de 30°C. Simultaneamente, as amostras de leite foram semeadas em Agar Sabouraud dextrose (DIFCO), visando o isolamento e identificação de micro-organismos fúngicos e o isolamento de *S. aureus* (QUINN et al., 2005), as quais foram em seguida incubadas em condições de aerobiose a 37°C por 24 a 72 horas (QUINN et al., 1994).

Os micro-organismos isolados foram submetidos à verificação das características morfológicas, de cultivo e em seguida submetidas a provas bioquímicas.

4.2.1 Provas bioquímicas

As provas bioquímicas foram realizadas de acordo com a metodologia estabelecida por MacFADIN (1976).

Coloração de Gram: as colônias isoladas dos meios de cultura foram preparadas a um esfregaço e submetidas à coloração pelo método de Gram.

Prova da catalase: uma alíquota da cultura pura foi colocada sobre uma gota de peróxido de hidrogênio a 3%. Havendo desprendimento de bolhas de gás, a cultura foi considerada como catalase positiva.

Hemólise em sangue de carneiro: foram utilizadas placas de ágar nutriente com 5% de sangue de carneiro. As culturas, a partir do BHI (Brain Heart Infusion) foram semeadas em forma de estrias com a ajuda de uma alça de platina e incubadas a 30 °C por 24 horas. Havendo a formação de um halo transparente a prova foi considerada positiva, na ausência do halo ao redor das colônias, a prova foi considerada negativa.

Fermentação de manitol: foram utilizadas placas de ágar manitol contendo 7,5% de cloreto de sódio. As culturas foram semeadas em forma de estrias com a

ajuda de uma alça de platina e incubadas a 30°C por 24 horas. Havendo a formação de halo amarelo ao redor da colônia a prova foi considerada positiva.

Fermentação de lactose: foram utilizadas placas de ágar McConkey sendo as culturas semeadas em forma de estrias com a ajuda de uma alça de platina e incubadas a 30°C por 24 horas. Colônias bacterianas que fermentaram a lactose tornaram o meio rosa choque e as bactérias que não fermentaram a lactose tornaram o meio amarelo claro.

Prova da coagulase: foi adicionado 0,1 mL de caldo BHI, incubado over night, com colônias suspeitas a um tubo de ensaio contendo 0,5 mL de plasma de coelho liofilizado, onde foram incubados por 4 horas a 35°C em banho-maria. A prova foi considerada positiva com a formação de coágulo.

Prova de Voges-Proskauer: em tubos de ensaio contendo 2 mL de caldo MR-VP, foi semeado a cultura pura (a partir do BHI). Após a incubação a 30°C por 48 – 72 horas (usando controle negativo), foi acrescentado 0,5 mL de solução de alfa-naftol (reagente 1) com o auxílio de pipetas e pêra de borracha e 0,3 mL de solução de hidróxido de potássio a 40% (reagente 2). A mistura foi homogeneizada, e considerada positiva a amostra que apresentasse coloração avermelhada em até 15 minutos e negativa quando a mesma permaneceu amarelada.

Kit EPM®- MILI – CITRATO: com uma agulha bacteriológica foi tocada uma porção da colônia isolada e inoculada ao tubo de EPM com uma picada central até o fundo do tubo e depois estriada a parte inclinada do mesmo. Com o mesmo inóculo foi estriada a porção inclinada do tubo de citrato. A colônia selecionada (foi tocada novamente onde foi realizada uma picada central no tubo de MILI sem encostar no fundo do tubo, mas chegando bem próximo do mesmo. Os tubos foram incubados a 35 – 37°C, por 18 a 24 horas sendo que os tubos de EPM e de citrato foram incubados com as tampas frouxas para permitir a entradas de oxigênio e o tubo MILI com a tampa bem apertada favorecendo uma atmosfera anaeróbica facilitando a ativação da enzima descarboxilase.

Camp test: foi inoculada uma estria única de uma amostra de *S. aureus* produtora de beta lisina no centro de uma placa de ágar sangue preparada obrigatoriamente com sangue de carneiro. Em seguida foram inoculadas as amostras a serem testadas em estrias formando um ângulo reto com a linha de

inoculação da amostra de *S. aureus*, onde as estrias não se tocarão entre si, ficando a 1 mm de distância. As placas foram incubadas a 35 - 37°C por 18 – 24 horas. A positividade da prova é evidenciada pelo alargamento da zona de lise, que adquire a forma de ponta de flecha característica, na área de intersecção entre as duas estrias.

Crescimento em caldo de NaCl a 6,5%: foram acrescentado em tubos 3 mL do caldo BHI, 6,5% de NaCl e inoculado uma alçada da colônia bacteriana. Os tubos foram incubados a 35 – 37°C por 18 – 24 horas. A reação foi considerada positiva para *Enterococcus* spp. se observado o crescimento (turbidez) no meio.

4.2.2 Antibiograma

Os isolados dos casos de mastite clínica foram submetidos ao antibiograma. Para tal, foram incubadas em caldo BHI, por 24 - 48 a 35°C. A partir do BHI as cepas foram semeadas em superfície de ágar Mueller Hinton para a técnica de difusão de discos (Kirby-Bauer). Foram utilizados discos Sensifar® dos seguintes antimicrobianos: florfenicol - FLF, clotrimoxazol - SUT, ciprofloxacina - CIP, oxacilina - OXA, gentamicina - GEN, ceftiofur - CTF, enrofloxacina - ENO, neomicina – NEO, penicilina – PEN e amoxicilina – AMO, foram colocados em diferentes zonas da placa, sendo incubados a 30 – 35°C por 18 – 24 horas. Após o período de incubação foram medidos os halos de sensibilidade dos micro-organismos aos antimicrobianos testados (BAUER et al., 1966).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da aplicação do checklist (quadro 2), que contém informações correlacionadas às medidas de controle e prevenção de mastite bovina foi possível avaliar as condições higiênicas e de manejo das instalações e dos animais das 10 propriedades analisadas no presente estudo, antes, durante e após a ordenha e correlacionar a influência destas informações com a incidência dos casos de mastite no rebanho.

Quadro2. Dados obtidos através da realização do checklist sobre as condições higiênico-sanitárias e de manejo dos animais e das instalações das 10 propriedades produtoras de leite cru refrigerado, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.

Questões	Propriedades									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Pasto?	S	S	S	S	S	N	N	S	S	N
Free stall?	NA	NA	NA	NA	NA	S	S	NA	NA	S
Se free stall que tipo de cama?	NA	NA	NA	NA	NA	AR	AR	NA	NA	B C
Tem dimensionamento correto?	NA	NA	NA	NA	NA	S	N	NA	S	N
Existem animais circulando no free stall?	NA	NA	NA	NA	NA	N	S	NA	N	S
A limpeza é feita de forma correta?	NA	NA	NA	NA	NA	S	N	NA	S	N
A sala de espera dos animais esta em condições de higiene adequada?	N	N	N	S	S	S	S	S	S	S
O piso das instalações é impermeável?	S	S	N	S	S	S	S	S	S	S
Os pisos são laváveis?	S	S	N	S	S	S	S	S	S	S
Os animais são conduzidos de maneira adequada para a sala de ordenha?	S	S	S	N	S	S	S	S	S	S
Sem estresse?	S	S	S	N	S	S	S	S	S	S
Existe linha de ordenha?	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
O piso é de fácil limpeza e desinfecção?	S	S	N	S	S	S	S	S	S	S
Instalações (solução desinfetante, toalha descartável, caneca de fundo escuro, material para realizar CMT, energia elétrica, equipamentos utilizados na ordenha) antes de receber os animais?	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Sala de ordenha limpa?	S	S	N	N	S	S	S	S	S	S
Equipamento de ordenha limpo?	S	S	N	N	S	S	N	N	S	S
Higiene pessoal?	S	S	S	N	N	S	S	S	S	S
O ordenhador lava as mãos antes e durante a ordenha?	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Os tetos são lavados antes da ordenha?	N	S	N	N	N	S	N	S	S	S
Há secagem dos tetos?	N	N	NA	NA	NA	N	NA	S	S	S
Se sim é realizada com material descartável?	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	S	S	S
Realiza teste da caneca de fundo escuro e CMT?	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Aplica-se pré-dipping?	S	N	S	N	N	S	S	S	S	N
Aplica-se pós-dipping?	N	S	S	S	S	S	S	S	S	S
As teteiras são posicionadas de maneira adequada?	S	S	S	N	S	N	N	S	S	S

São encaixadas perfeitamente no teto?	S	S	S	S	S	N	S	S	S	S
Utiliza-se peso/mão no conjunto de teteiras para aumentar ejeção?	N	N	N	S	S	N	S	N	N	S
Realiza-se manutenção dos equipamentos de ordenha?	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Realiza-se o manejo de secagem das vacas?	N	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Utiliza-se filtro no sistema de ordenha?	N	N	N	S	N	N	N	N	N	N
Se sim, este apresenta sujidades?	NA	NA	NA	S	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Há limpeza de equipamentos (latões, ordenhadeiras) após a ordenha?	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
É realizado o ciclo completo de limpeza?	S	N	N	N	S	S	S	S	S	S
A água utilizada na higienização dos tetos e equipamentos recebe tratamento?	N	N	N	N	S	S	N	N	N	N
Os animais permanecem em pé por pelo menos 30 min após a ordenha?	N	S	N	N	S	S	S	S	S	S
O tanque de expansão esta localizado em local adequado?	S	N	N	S	S	S	S	S	N	S
Protegido de contaminação?	S	N	N	S	S	S	S	S	N	S
O material dos quais são feitos os equipamentos e recipientes possibilitam completa limpeza e desinfecção?	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
As instalações estão situadas distantes de contaminantes (fumaça, poeira)?	S	N	N	S	N	S	S	S	N	S

S = SIM N= NÃO AR= AREIA BC= BAGAÇO DE CANA NA= NÃO SE APLICA

Das 10 propriedades avaliadas no presente estudo, as propriedades A, B, C e D eram providas de ordenha mecânica tipo balde ao pé, e as propriedades E, F, G, H, I e J possuíam ordenhadeira mecânica tipo circuito fechado. No Quadro 2 pode ser verificado que as propriedades providas de sistema de ordenha balde ao pé apresentavam condições higiênico-sanitárias mais precárias (sala de ordenha apresentando falhas na higienização, os tetos dos animais que apresentavam-se sujos antes da ordenha não eram lavados e onde eram lavados não eram secados com papel toalha descartável, não foi verificado a aplicação do pré-dipping, os animais não permaneciam em pé por pelo menos 30 minutos após a ordenha e o tanque de expansão netas propriedades estavam localizados próximos a contaminação) em relação as que possuíam ordenha mecânica tipo circuito fechado.

Barzon et al. (2013), analisando a influência do sistema de ordenha com o número de amostras positivas no exame microbiológico do leite verificaram que as propriedades que possuíam ordenha mecânica tipo balde ao pé apresentaram maior número de amostras positivas no exame microbiológico, com relação as propriedades que possuíam ordenha mecânica tipo circuito fechado, apontando

assim como no presente estudo, que nas propriedades com ordenha tipo balde ao pé as condições higiênico-sanitárias das instalações e equipamentos de ordenha eram mais precárias se comparadas as condições das propriedades que eram providas de ordenha canalizada.

O mesmo foi verificado por Brito et al. (2004) em um estudo conduzido em 48 propriedades leiteiras (Minas Gerais e Rio de Janeiro), que ao comparar as propriedades providas de ordenha mecânica tipo circuito fechado e balde ao pé com relação a adoção de procedimentos de manejo e higiene de ordenha e dos ordenhadores, verificaram que nas propriedades que adotavam o modelo balde ao pé haviam deficiências mais acentuadas em relação a higienização dos equipamentos e instalações e também na higiene pessoal do ordenhador.

Foi observado através da aplicação do checklist, que todas as propriedades (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J) apresentavam problemas relacionados às boas práticas de ordenha, onde foi verificado que não era realizado o teste da caneca de fundo escuro para diagnóstico de mastite clínica, sendo os três primeiros jatos de leite desprezados no chão, o uso do CMT para diagnóstico de mastite subclínica também não foi verificado, o que pode justificar a não realização de linha de ordenha entre os animais, sendo esta técnica de manejo importante, onde os animais que apresentavam mastite clínica ou alta CCS no teste de CMT devem ser ordenhados por último, evitando a transmissão de agentes contagiosos causadores de mastite de um animal para outro durante a ordenha.

Também foi observado que as instalações não eram adequadas para receber os animais a serem ordenhados, pois não havia, papel toalha descartável, matérias para a realização dos testes da caneca de fundo escuro e teste de CMT e energia elétrica adequada. Também pode ser verificado que não era realizada a manutenção periódica dos equipamentos de ordenha, onde foram constatadas alterações de vácuo, pulsação e deslizamento de teteiras durante a ordenha, estes fatores contribuem para a ocorrência de lesões no esfíncter do teto, o que facilita a entrada de patógenos, favorecendo os casos de mastite.

Schuchet al. (2005), ao acompanharem durante um ano as práticas de ordenha quanto a manejo e controle de mastite em propriedades leiteiras (Piratini – RS), verificaram uma diminuição significativa de 13,37% para 7,43% de índice de

mastite subclínica com a adoção de medidas de controle e prevenção de mastite, dentre estas medidas estão, o rígido controle do equipamento de ordenha, cuidados na higienização dos tetos antes da ordenha, higienização geral da sala de ordenha e dos utensílios utilizados durante o processo, fato este, que também não foi verificado no presente estudo e que colaborou para a incidência dos casos de mastite.

Fonseca; Santos (2000) durante visitas realizadas em propriedades produtoras de leite destacaram também a importância da realização de linha de ordenha entre os animais, pois verificaram que apenas 50% das propriedades utilizavam esta técnica de manejo, destacando assim como no presente estudo a importância deste procedimento para evitar a transmissão de mastite entre os animais.

Bexiga et al. (2005), reportaram que em 58,3% das 10 propriedades leiteiras analisadas, os animais com mastite clínica eram ordenhados sem segregação com relação a mastite, apontando assim como no presente estudo, um fator que colabora para transmissão de patógenos causadores de mastite entre os animais sadios.

Durante a aplicação do checklist, também foram observadas falhas na higiene pessoal dos ordenhadores nas propriedades D e E, pois os mesmos não tinham o hábito de lavar as mãos antes e durante a realização da ordenha dos animais, outro fato importante, e que foi verificado em apenas uma das propriedades avaliadas (I), foi o hábito de usar luvas, pelo ordenhador, este hábito auxilia na diminuição da disseminação de patógenos causadores de mastite através das mãos contaminadas, o que conseqüentemente pode contribuir para o aparecimento dos casos de mastite nos rebanhos.

Costa et al. (1985) já demonstravam que a alta prevalência de mastite bovina esta associada as más condições de higiene do ordenhador, antes, durante e após a ordenha. Porém, Oliveira et al. (2009) verificaram que animais manejados por ordenhadores que realizavam profilaxia das mãos não diferiram quanto a presença de mastite, frente aquelas propriedades onde não se faziam a higienização.

Foi observado, nas propriedades A e C, que as salas de espera dos animais não apresentavam-se limpas, sendo que na propriedade C, o piso não era impermeável o que dificultava ainda mais a limpeza, pois a limpeza do ambiente de ordenha é indispensável para o controle e prevenção da mastite. Brito et al. (2002)

também verificaram que o ambiente pode se tornar uma fonte de contaminação de mastite durante o período entre as ordenhas onde torna-se necessário que o ambiente seja bem manejado.

Todas as propriedades realizavam no final da ordenha a limpeza dos equipamentos (latões, teteiras e utensílios), porém, nas propriedades A, B, C, D, G, H, I e Jo o ciclo de limpeza não era realizado de forma correta onde pode ser verificado o uso de solução desinfetante em concentrações inadequadas e a não realização da limpeza das partes externas dos equipamentos de ordenha (coletores, latões e tubulações) com o uso de água, detergente e escovas.

Além disso, foi verificado que a água utilizada na limpeza das instalações e equipamentos de ordenha (coletores, conjunto de teteiras, baldes e etc.) e também para a limpeza dos tetos dos animais não recebiam tratamento nas propriedades A, B, C, D, G, H, I e J sendo assim, a água pode atuar como via de transmissão de micro-organismos para a glândula mamária bem como comprometer a qualidade do leite.

Resultados semelhantes, foram encontrados por Ramires et al. (2009), que ao avaliarem a qualidade da água utilizada na limpeza das instalações, equipamentos de ordenha e higienização dos tetos dos animais em 162 propriedades (Paraná), verificaram que a água de 100 propriedades estava fora dos padrões de potabilidade, afetando diretamente a qualidade do leite produzido. O mesmo foi verificado por Marcílio (2008), em propriedades produtoras de leite no município de Urupema/SC.

Outro ponto importante observado nas propriedades A, C, D, E e G foi que os tetos dos animais apresentavam-se sujos antes da ordenha, e não eram lavados antes de serem ordenhados, porém nas propriedades B e F a lavagem era realizada, mas não de forma correta pois não realizavam a secagem dos tetos com papel toalha descartável, o que evitaria principalmente o deslizamento das teteiras durante a ordenha, e a entrada de água e sujidades para dentro do úbere fato que prejudica a saúde dos mesmos. Nas propriedades D, F e G foi verificado que as teteiras não eram posicionadas adequadamente nos tetos dos animais e que nas propriedades D, E e J ainda utilizava-se do peso das mãos sobre o conjunto de ordenha para

facilitar a saída do leite, prática que também influencia de forma negativa na saúde do úbere, provocando lesões principalmente no esfíncter do teto.

Costa (2010) encontrou situação semelhante á do presente estudo ao avaliar a rotina de ordenha de 12 propriedades (Goiás), onde em 8, os tetos que apresentavam-se sujos eram lavados, porém a secagem dos mesmos não era realizada adequadamente, o que contribuía para o deslizamento das teteiras e a ocorrência de mastite.

No mesmo estudo Costa (2010) também constatou resultados semelhantes com relação á manutenção dos equipamentos de ordenha, onde verificou que a mesma não estava sendo realizada de forma correta, sendo que 33,3% dos produtores avaliados não efetuavam a troca dos insufladores de acordo com a recomendação do fabricante, o que constituía em um provável fator de risco para a incidência de mastite nos rebanhos.

Em estudo realizado por Oliveira et al. (2010) em 187 vacas leiteiras de 10 propriedades (Bahia), constataram situação semelhante ao presente estudo, onde associaram os casos de mastite com o uso de ordenhadeira mecânica devido ás falhas nos equipamentos de ordenha, caracterizados por alterações de vácuo, pulsação, sobreordenha, deslizamento de teteiras e deficiência na desinfecção, e concluíram que estes fatores comprometem a integridade da glândula mamária.

Apenas na propriedade D utilizava-se filtro no sistema de ordenha, porém este estava muito sujo, demonstrando falha na limpeza dos tetos (pré-dipping).

Com relação á desinfecção dos tetos com o uso do pré e pós-dipping foi verificado que o pré-dipping não era realizado nas propriedades B, D, E e J sendo esta prática importante para evitar que os micro-organismos presentes na superfície dos tetos sejam transmitidos entre os animais durante o processo de ordenha. Já a prática do pós-dipping não era realizada na propriedade A, sendo esta prática, o melhor meio de se reduzir o número de bactérias disseminadas de uma vaca para outra diminuindo, conseqüentemente, o número de novos casos de infecções intramamárias por patógenos contagiosos.

Lima (2014), ao avaliar nove propriedades produtoras de leite tipo A e leite cru refrigerado (São Paulo), verificou que a propriedade que apresentava más condições de manejo e de higiene durante a ordenha (falhas na higiene das instalações,

lavagem dos tetos com água e sabão ao invés do uso correto do pré-dipping) foi a que obteve maiores incidências de mastite.

Ferreira et al. (2007) ao avaliarem 8 propriedades leiteiras (Teresina – PI), verificaram que em nenhuma era realizada a desinfecção dos tetos pré e pós-ordenha atribuindo os altos índices de mastite no rebanho pelas más condições de higiene dos ordenhadores e também a não realização do pré e pós-dipping nas propriedades avaliadas, sendo o mesmo observado no presente estudo tanto em relação às falhas na higiene pessoal do ordenhador como falhas na realização do pré e pós-dipping.

Nas propriedades A, C e D foi verificado que os animais não permaneciam por pelo menos 30 minutos em pé após a ordenha, este fato favorece a entrada de micro-organismos no canal do teto uma vez que o esfíncter permanece aberto por aproximadamente meia hora após a ordenha.

Em trabalho realizado por Rebhun (2000), destaca-se que as vacas devem ter acesso ao alimento depois da retirada do leite, para mantê-las em pé até que a extremidade do teto seque e o canal estriado feche completamente. Essa técnica ajuda a impedir uma possível contaminação com patógenos ambientais imediatamente após a ordenha.

Por fim foi observado que nas propriedades B, C, E e I suas instalações (currais, sala de espera, ordenha e tanque de expansão) estavam localizadas muito próximas a contaminantes como fumaças e poeiras o que dificultava a limpeza das mesmas e colaboravam para a contaminação do leite ordenhado.

Na tabela 1 pode ser observado que dos 320 animais avaliados, totalizando 1280 quartos mamários, 596 (46,6%) quartos apresentaram resultado positivo para mastite clínica ou subclínica. Sendo que, 43,7% dos quartos mamários avaliados mostraram-se positivos no teste de CMT, caracterizando mastite subclínica e em 2,9% dos quartos analisados, ocorreu a presença de grumos no teste da caneca de fundo escuro caracterizando mastite clínica.

Tabela 1. Total de animais avaliados e número e porcentagem de quartos e animais positivos para mastite clínica e subclínica das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.

Propriedades	Número de animais	Mastite clínica		Mastite subclínica	
		Quartos n°/%	Animais n°/%	Quartos n°/%	Animais n°/%
A	12	-	-	21/ 43,7	11/91,7
B	21	-	-	36/42,8	18/85,7
C	42	16/8,9	11/26,9	121/72,0	40/95,2
D	33	5/3,7	5/15,5	51/38,6	23/69,7
E	16	2/3,1	2/12,5	22/34,3	10/62,5
F	24	3/3,1	3/12,5	50/52,0	17/70,8
G	60	3/1,2	2/3,3	89/37,0	39/65,0
H	46	-	-	62/33,6	30/62,2
I	40	5/3,1	3/7,5	52/32,5	27/67,5
J	26	3/2,8	2/7,6	55/52,8	26/80,7
Total	320	37	28	559	241

Nas propriedades A, B e H não foram diagnosticados casos de mastite clínica, este fato pode ser justificado por uma higiene melhor do ambiente de ordenha e um melhor manejo dos animais durante a ordenha, porém, foi observado que nestas propriedades e nas demais (C, D, E, F, G e I), o índice de mastite subclínica era elevado, o que pode ser justificado principalmente pelas falhas encontradas no manejo e prevenção da mastite subclínica detectadas através da aplicação do checklist, onde foram verificadas principalmente falhas na limpeza das instalações e equipamentos de ordenha, ausência na realização do CMT para diagnóstico da mastite subclínica, falhas na aplicação do pré e pós-dipping e as más condições de higiene dos ordenadores.

Oliveira et al. (2010), ao realizarem um estudo com 187 vacas mestiças no município de Ilhéus - BA, encontram 39,6% dos animais com mastite, sendo, 97,3% na forma subclínica e 2,7% na forma clínica, estes índices foram justificados por más condições de higiene do ordenhador, bem como falhas na higienização dos tetos antes e após a ordenha. Apesar da incidência de mastite verificada por Oliveira et al. (2010) ter sido inferior a encontrada no presente estudo (46,6%), o índice de mastite subclínica foi bem superior ao encontrado (43,7%), porém o índice de mastite clínica foi semelhante (2,9%).

Martins et al. (2010), em estudo realizado com 5 propriedades (Cuiabá – MT), verificaram 5,8% de mastite clínica e 65% de mastite subclínica analisando um total de 108 animais, onde assim como no presente estudo relatam que o elevado índice de mastite se deve principalmente a deficiência nas práticas de manejo, higiene e terapêutica, em especial durante a desinfecção dos tetos pós-ordenha.

Oliveira et al. (2013), encontraram resultados que diferem do presente, pois em um estudo conduzido em 5 propriedades (Araguaí-MG), analisando 69 animais, os índices de mastite clínica foram de 10,5% e os de mastite subclínica de 33,7%, apontando a responsabilidade destes índices às falhas encontradas no manejo, higiene de ordenha, instalações e também falhas na realização do pré e pós-dipping.

Chagas et al. (2012), investigando a presença de mastite em rebanhos leiteiros (Minas Gerais), também verificaram um índice maior de mastite subclínica (53%) se comparado com o índice de mastite clínica (16%), atribuindo esses resultados, assim como no presente estudo, às falhas encontradas na limpeza das instalações e equipamentos de ordenha bem como desinfecção incorreta dos tetos dos animais e também ao manejo incorreto no tratamento das vacas secas.

Na Tabela 2, estão apresentados os micro-organismos isolados dos casos de mastite clínica, sendo que dos 320 animais avaliados, 28 apresentaram mastite clínica, totalizando 37 quartos acometidos.

Tabela 2. Micro-organismos isolados e sua relação com o número e porcentagem de animais e quartos acometidos com mastite clínica das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.

Micro-organismos	Mastite Clínica			
	Animal		Quarto	
	número	%	número	%
<i>S. aureus</i>	16	57,1	24	64,9
<i>S. epidermidis</i>	7	25,0	7	18,9
<i>S. intermedius</i>	1	3,7	1	2,7
<i>S. dysgalactiae</i>	3	10,7	4	10,8
<i>Corynebacterium sp.</i>	1	3,5	1	2,7
Total	28	100	37	100

Os *Staphylococcus* spp. foram os micro-organismos mais isolados dos casos de mastite clínica representando 86,5% do total de quartos acometidos, sendo 64,9% de *S. aureus*, 18,9% de *S. epidermidis* e 2,7% de *S. intermedius*. Os *S. dysgalactiae* foram isolados de 10,8% dos quartos, e o *Corynebacterium* sp. em 2,7%. O fato dos *Staphylococcus* spp. terem sido os micro-organismos mais isolados dos casos de mastite clínica, pode estar associados às falhas no manejo de ordenha principalmente pela deficiência na limpeza das instalações e equipamentos, na prevenção e diagnóstico da mastite contagiosa verificada durante a aplicação do checklist, em que a transmissão dos agentes causadores é predominantemente causada durante a ordenha, uma vez que o reservatório destes micro-organismos é a glândula mamária.

Em estudo realizado por Martins et al. (2010), o micro-organismo mais isolado dos casos de mastite clínica foi o *S. aureus* com 44% seguido do *Corynebacterium* sp. com 12%, os autores atribuem estes resultados também devido às falhas de manejo encontradas nas propriedades analisadas o que facilitava a transmissão do agente contagioso entre os animais. Tais resultados diferem do presente estudo, onde *S. aureus* foi isolado de 64,9% dos casos e o *Corynebacterium* sp. de 2,7%.

Krewer et al. (2013), em estudo realizado com vacas leiteiras (Bahia e Pernambuco), tiveram como objetivo determinar a etiologia da mastite e também identificar os fatores de risco associados a infecção e encontraram resultados diferentes do presente estudo, onde os micro-organismos mais isolados nos casos de mastite clínica foram a *Prototheca* sp., seguido de *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* sp., tais resultados também foram justificados por falhas na gestão como; práticas de higiene inadequadas das mãos dos ordenadores, equipamentos de ordenha, falha na realização da antissepsia dos tetos.

Em estudo realizado por Langoni et al. (2011), examinando 283 vacas em lactação das raças Holandesa e mestiça, procedentes de 10 propriedades rurais (São Paulo), encontraram resultados que diferem do presente estudo, onde o micro-organismo mais isolado nos casos de mastite clínica foi o *S. dysgalactiae*, seguido do *S. agalactiae* e *Pasteurella multocida*, separadamente e associações de *Klebsiella pneumoniae* + *E. coli*, *S. aureus* + *S. dysgalactiae*, *S. agalactiae* + *S. dysgalactiae*, os autores atribuem estes resultados, assim como no presente estudo, a má

utilização da ordenhadeira mecânica que favorece a transmissão dos patógenos durante a ordenha, deficiência na higienização das instalações e equipamentos de ordenha.

No estudo realizado por Mira et al. (2012), analisando 112 amostras de leite de vacas da raça Holandesa (São Paulo), também encontraram resultados diferentes do presente estudo, onde verificaram que a maior frequência de isolamento foi para *Corynebacterium bovis* com 58,8%, seguidos de *S. dysgalactiae* com 38,2% e 2,9% de *S. chromogenes*, justificando esses dados pela ausência da realização da desinfecção dos tetos no pré e no pós-dipping, sendo estes um dos fatores apontados no presente estudo que contribuiu para a incidência de mastite nos rebanhos avaliados.

Oliveira et al. (2009) ao analisarem 893 amostras de leite oriundas de 2 rebanhos leiteiros (Sergipe), isolaram o *S. aureus* (21,9%), *Staphylococcus* coagulase negativa (11,6%), *S. agalactiae* (7,5%), *Streptococcus* sp. esculina negativa (3,2%), *Streptococcus* sp. esculina positiva (2,2%), *Corynebacterium* sp. (1,7%) e levedura (0,1%) Tais resultados diferem do presente, onde o *S. aureus* foi isolado de 64,9% das amostras de leite com mastite clínica analisada, o *S. epidermidis*, que é um estafilococos coagulase negativo, de 18,9% e o *Corynebacterium* sp. de 2,7%, os demais micro-organismos não foram isolados no presente.

Na tabela 3 está apresentado o perfil de sensibilidade antimicrobiana, *in vitro*, dos *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* sp., isolados dos casos de mastite clínica. Os *S. aureus* apresentaram sensibilidade de 93% a CIP e SUT, 90% a FLF, 86% a ENO, 76% a GEN e CTF e 72%, 52% e 45% a NEO, OXA e AMO, respectivamente. *S. intermedius* apresentaram 100% de sensibilidade a CEF, ENO, SUT, OXA, FLF, NEO, CIP enquanto que *S. epidermidis* foram 100% sensíveis a CEF, FLF e NEO e ainda apresentaram 86% de sensibilidade a GEN, ENO, SUT e CIP, 71% a AMO e OXA e 14% a PEN. *Corynebacterium* sp. apresentou 100% de sensibilidade a GEN, CTF, ENO, CIP, OXA, FLF, NEO, SUT e AMO.

Como descrito na tabela 3, os micro-organismos isolados dos casos de mastite clínica apresentaram maior sensibilidade ao florfenicol com média de sensibilidade de 97,5%, sendo a penicilina o antimicrobiano que os micro-organismos apresentaram menor sensibilidade com média de 14,0%.

Tabela 3. Perfil de sensibilidade antimicrobiana, *in vitro*, dos *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* sp., isolados dos casos de mastite clínica, das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.

Antibióticos	S. <i>aureus</i>	S. <i>epidermidis</i>	S. <i>intermedius</i>	<i>Corynebacterium</i> sp.	Média de sensibilidade
Gentamicina	76%	0	86%	100%	65,5%
Ceptiofour	76%	100%	100%	100%	94,0%
Enrofloxaxina	86%	100%	86%	100%	93,0%
Clotrimoxazol	93%	100%	86%	100%	94,7%
Oxaciclina	45%	100%	71%	100%	79,0%
Florfenicol	90%	100%	100%	100%	97,5%
Neomicina	45%	100%	100%	100%	86,2%
Ciprofloxacina	93%	100%	86%	100%	94,7%
Penicilina	0	0	14%	0	14,0%
Amoxilina	45%	0	71%	100%	54,0%

Zafalon et al. (2005) ao conduzirem um estudo em uma propriedade produtora de leite (Barretos – SP), verificaram que o antimicrobiano ao qual os micro-organismos apresentaram maior sensibilidade foi a gentamicina com 97%, resultados que diferem do presente estudo, onde foi o florfenicol (97,5%).

Carmo et al. (2013), ao desenvolverem um estudo em duas fazendas de leite (Apodi – RN), verificaram que os isolados apresentaram resistência de 86,7% á penicilina, resultados semelhantes podem ser verificados no presente estudo, onde apenas o *S. intermedius* apresentou 14,0% de isolados sensíveis a penicilina, sendo o antimicrobiano testado de menor sensibilidade entre os micro-organismos testados.

Krewer et al. (2013) ao estudarem a etiologia da mastite, e o perfil de sensibilidade dos *Staphylococcus* spp. aos antimicrobianos (Bahia e Pernambuco), verificaram que o menor percentual de sensibilidade foi para a amoxicilina (32,6%), penicilina (34,0%), oxacilina (98,2%), ciprofloxacina (99,1%), enrofloxaxina (99,5%) e gentamicina (99,5%), o que difere do presente estudo onde o menor percentual de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. foi para penicilina (14,0%).

Já no estudo realizado por Zanetti et al. (2010) avaliando a sensibilidade antimicrobiana de *S. aureus* isolados de 55 amostras de leite de vacas suspeitas de mastite (Santa Catarina), verificaram que a penicilina foi um dos antimicrobianos que apresentou menor eficácia comparada com outros antimicrobianos testados, concordando com os dados do presente estudo.

Nader Filho et al. (2007) ao avaliarem a sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de 72 isolados de *S. aureus* de casos de mastite, verificaram sensibilidade a gentamicina com 98,6%, já com relação a penicilina assim com no presente estudo apresentaram uma baixa sensibilidade com 2,8% quando comparada aos outros antimicrobianos.

Na tabela 4, estão descritos os micro-organismos mais frequentemente isolados dos casos de mastite subclínica e o escore da reação ao CMT. Verifica-se na tabela 4 que os micro-organismos mais isolados nos casos de mastite subclínica foram os *S. aureus* acometendo 73,6% dos quartos mamários, seguido pelos *S. epidermidis* com 16,6%, *Corynebacterium* sp. 3,7%, *S. dysgalactiae* 3,1%, *S. intermedius* 1,9%, *Enterococcus* 0,6% e *Bacillus* 0,6%.

Tabela 4. Micro-organismos isolados, número e porcentagem de quartos e animais acometidos com mastite subclínica e escore da reação ao CMT, das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.

Micro-organismos	Mastite Subclínica %		Reação ao CMT por quarto %			
	Animal	Quarto	-	+	++	+++
	n°/%	n°/%	n°/%	n°/%	n°/%	n°/%
<i>S. aureus</i>	175/64,3	382/73,6	25/6,5	85/22,2	133/34,8	139/36,4
<i>S. epidermidis</i>	46/16,9	86/16,6	5/5,8	21/24,4	20/23,2	40/46,5
<i>S. intermedius</i>	7/2,6	10/1,9	2/20,0	2/20,0	5/50,0	1/10,0
<i>S. dysgalactiae</i>	14/5,2	16/3,1	0	3/18,7	8/50,0	5/31,2
<i>Corynebacterim</i>	23/8,4	19/3,7	2/10,5	7/36,8	9/47,4	1/5,3
<i>Bacillus</i> sp.	4/1,5	3/0,6	0	1/33,3	2/66,7	0
<i>Enterococcus</i> spp.	3/1,1	3/0,6	0	1/33,3	1/33,3	1/33,3
Total	272	519	34/6,5	120/23,1	178/34,3	187/36,0

O isolamento do *S. aureus* em maior frequência pode ser explicado pela ausência na prevenção e controle de mastite subclínica principalmente devidos

áspráticas relacionadas à prevenção de micro-organismos contagiosos como ineficiência na limpeza e desinfecção das instalações e equipamentos de ordenha, falhas na higiene pessoal dos ordenhadores, a não realização do CMT, e linha de ordenha entre os animais.

Em estudo realizado por Chagas et al. (2012), foram encontrados resultados semelhantes ao presente estudo onde o *S. aureus* foi o micro-organismo predominante nos casos de mastite subclínica com 45%, seguido do *S. epidermidis* com 10%, tais resultados foram explicados também pela falha na higienização dos utensílios utilizados no momento da ordenha e erros na terapia da vaca seca.

Os mesmos resultados foram encontrados por Fontana et al. (2010) em um estudo realizado (Jataí – GO) com 174 vacas leiteiras avaliadas por meio do CMT e isolamento microbiano, sendo o *Staphylococcus* spp. isolado de 40,9%, seguido do *Corynebacterium* sp. (35,6%), *Streptococcus* spp. (19,7%) e *E. coli* (3,8%), e os autores atribuem esses resultados ao fato do *S. aureus* apresentar diversos fatores de virulência, resistência a diversos antimicrobianos e também as falhas de manejo durante a ordenha.

Andrade et al. (2009) avaliando três rebanhos da raça Jersey (Curitiba-PR), verificaram que dos 966 isolados, o micro-organismo mais frequentemente verificado nos casos de mastite subclínica foi o *Staphylococcus* spp. (32,7%), sendo a espécie *S. aureus* (19,5%) mais isolada, seguido de *S. agalactiae* (14,0%), *E. coli* (13,6%) e *Bacillus* sp. (4,5%), os autores, assim como no presente estudo, atribuem estes resultados à deficiências higiênico-sanitárias, o que justifica o isolamento de agentes contagiosos nos casos de mastite subclínica.

Já em estudo realizado por Langoni et al. (2011), examinando 283 vacas da raça Holandesa e mestiças, procedentes de 10 propriedades rurais (São Paulo), encontram resultados que diferem do presente estudo, onde houve prevalência maior de *C. bovis* (29,5%) nos casos de mastite subclínica, seguido de *S. dysgalactiae* (11,9%) e *S. aureus* (10,5%), sendo que, o maior isolamento de *C. bovis* no estudo foi justificado por falhas verificadas durante a realização do pós-dipping onde haviam erros na concentração da solução utilizada e na aplicação do produto.

Ribeiro et al. (2014) ao avaliarem os principais agentes causadores de mastite de um rebanho leiteiro (Pomba-MG), constataram que o grupo de micro-organismos mais isolados nos casos de mastite subclínica foram os coliformes fecais (85,4%), seguido de *E. coli* (38,3%), coliformes totais (31,9%) e *S. aureus* (17,0%), resultado este que difere do presente estudo, sendo justificados pela necessidade de implementação de boas práticas higiênicas e sanitárias, uma vez que os micro-organismos mais isolados são de origem entérica.

Resultados diferentes dos encontrados no presente trabalho, foram verificados por Saab et al. (2014) que ao analisarem 1324 quartos mamários através do CMT, encontraram maior prevalência de *Staphylococcus* coagulase negativa (32,9%), seguido de *Streptococcus* spp. (31,6%), *C. bovis* (12,3%), *Staphylococcus* coagulase positiva (12,3%), bacilo gram negativo (7,7%), *Corynebacterium* sp. (1,9%) e *Candida* sp. (1,2%), onde também justifica esses resultados pelas falhas higiênicas e sanitárias encontradas.

Oliveira et al. (2009), verificaram que de todos os micro-organismos isolados, os contagiosos apresentaram maior frequência quando comparados a reação positiva ao CMT, sendo que o *S. aureus* teve uma frequência de isolamento de 70%, justificando a presença maior de micro-organismos contagiosos nos quartos mamários decorrentes da higienização precária nos sistemas de produção, o mesmo fato analisado no presente estudo.

Do total de quartos mamários analisados pelo CMT para diagnóstico de mastite subclínica, 43,7% foram positivos e 55,1% apresentaram-se negativos ao teste. De acordo com a intensidade da reação, determinam-se os escores, sendo eles: traço, +, ++, +++, os resultados foram de 34 (6,5%) quartos mamários com reação traço, 120 (23,1%) com reação leve (+), 178 (34,3%) com reação moderada (++) e 187 (36,0%) com reação severa (+++) ao CMT.

Ribeiro et al. (2008) encontraram resultados que diferem do presente estudo, onde a maioria das amostras submetidas ao CMT foram positivas (53,4%) ao teste em graus variados e 46,6% não apresentaram reação positiva.

Kolling (2012) relata que dos 84 quartos avaliados pelo CMT, 27,4% apresentaram reação negativa ao teste, porém, 30,9% apresentaram reação positiva leve (+), 25% reação moderada (++) e 16,6% reação severa (+++), o que difere dos

resultados encontrados no presente estudo, onde a reação mais severa (+++) foi a mais verificada. Em estudo realizado por Oliveira et al. (2010), dos 110 tetos analisados pelo CMT, 48 tetos apresentaram reação leve (+), 44 moderada (++) e 17 apresentaram reação severa (+++) também diferenciando-se do presente estudo.

Lima (2014) encontrou resultados semelhantes ao presente estudo ao avaliar 9 propriedades produtoras de leite tipo A e cru refrigerado, onde relata que dos 1892 quartos mamários analisados pelo CMT, 496 (26,2%) apresentaram-se positivos ao CMT, sendo que 154 (31,0%) apresentaram intensidade leve (+), 183(36,9%) intensidade moderada (++) e 159 (32,1%) reação severa (+++).

Saab et al. (2014), encontraram resultados semelhantes ao presente estudo onde a reação (+++) ao CMT foi a mais identificada nas propriedades de maior produção de leite justificando as falhas no manejo.

Na tabela 5 são apresentados os valores referentes à porcentagem de quartos mamários positivos ao CMT quanto aos respectivos escores dos animais de cada propriedade avaliada, e também os resultados do leite do tanque de expansão de cada uma delas referentes à CCS, CBT e aos teores de gordura, proteína e extrato seco desengordurado (ESD) do leite.

Tabela 5. Porcentagem e escore dos quartos mamários positivos ao CMT e CCS, CBT e teores de gordura, proteína e ESD do leite do tanque de expansão, das 10 propriedades produtoras de leite, localizadas em diferentes regiões do Sudeste do Estado de São Paulo, no ano de 2013.

Propriedades	CMT		CCS Mil cél/s/mL	CBT Mil UFC/mL	Parâmetros		
	escore	% de quartos			Gordura %	Proteína %	ESD %
A	Negativo	58,7	445	153	3,38	3,07	8,34
	traço	6,5					
	+	10,9					
	++	15,2					
B	+++	8,7	600	16	3,90	3,35	8,96
	Negativo	57,1					
	traço	4,8					
	+	13,1					
C	++	10,7	1747	96	3,97	3,40	8,67
	+++	14,3					
	Negativo	29,3					
	traço	0,6					
D	+	20,7	570	15	3,14	3,08	8,58
	++	19,5					
	+++	29,9					
	Negativo	60,4					
E	traço	0,4	205	40	2,67	3,16	8,77
	+	8,3					
	++	10,4					
	+++	14,6					
F	Negativo	63,6	1160	40	3,74	3,15	7,96
	traço	0					
	+	17,4					
	++	14,4					
G	+++	3,0	807	58	3,69	3,13	8,68
	Negativo	65,6					
	traço	7,8					
	+	7,8					
H	++	7,8	174	50	4,14	3,23	8,81
	+++	10,9					
	Negativo	48,9					
	traço	0					
I	+	11,4	736	31	4,17	3,12	8,73
	++	12,5					
	+++	27,3					
	Negativo	63,0					
J	traço	5,4	800	43	3,57	3,32	8,77
	+	11,9					
	++	8,7					
	+++	8,7					
K	Negativo	68,1	800	43	3,57	3,32	8,77
	traço	0,6					
	+	6,9					
	++	8,1					
L	+++	15,6	800	43	3,57	3,32	8,77
	Negativo	51,0					
	traço	19,2					
	+	8,6					
M	++	10,6	800	43	3,57	3,32	8,77
	+++	14,4					
	Negativo	51,0					
	traço	19,2					
N	+	8,6	800	43	3,57	3,32	8,77
	++	10,6					
	+++	14,4					
	Negativo	51,0					
O	traço	19,2	800	43	3,57	3,32	8,77
	+	8,6					
	++	10,6					
	+++	14,4					

Apesar da subjetividade do CMT, Brito et al. (2007) correlacionaram os escores com a CCS (traço 150 a 400; + 400 a 1.000; ++ 700 a 2.000; +++ > 2.000). Se utilizarmos tal correlação, e analisarmos os dados do presente trabalho considerando escores de +, ++ e +++, teríamos oito propriedades (A, B, C, D, E, G, I e J) com mais de 30% dos quartos dentro desta faixa, ou apresentando mais de 400 mil céls./mL, fato este, que pode estar correlacionado com o aumento da CCS do leite do tanque. Na propriedade F, a porcentagem de quartos com o escore supracitado foi, inferior a 30%, sendo o mesmo 26,6%, porém, a CCS do tanque foi de 1.160 mil céls./mL e a maioria dos quartos (65,6%) apresentaram-se negativos ao CMT, este resultado pode ser justificado por vários fatores, sendo um dos principais que 10,9% dos quartos apresentaram escore +++ e segundo podem ter mais que 2.000 mil céls./ml de leite. A propriedade H apresentou apenas 29,3% dos quartos com escore acima de +, não se enquadrando nos 30%.

A propriedade C foi a que apresentou maior porcentagem de quartos (70,1%) com escores +, ++ e +++ e também a maior CCS (1.747 mil céls/mL), tais resultados podem ser decorrentes das falhas de manejo observadas durante a aplicação do checklist, pois esta foi a propriedade com maior número de respostas negativas às questões listadas no quadro 2.

Outro fato importante, é que se for levado em conta às propriedades que apresentaram mais que 10% dos quartos com escore +++, as sete propriedades com CCS acima de 500 mil céls./mL se enquadrariam nestas condições, e as propriedades A, E e G com 8,7%, 3,0% e 8,7%, respectivamente, ficariam fora do grupo, pois as mesmas apresentavam mais quartos acometidos por reações leves (+) e moderadas (++) ao CMT o que influenciou significativamente na CCS do leite do tanque, mostrando uma relação positiva entre a CCS e o escore de positividade do CMT.

Em trabalho semelhante, Barbosa et al. (2002) ao analisarem 60 amostras de leite pelo teste de CMT provenientes de 40 vacas em Uberlândia-MG, verificaram que onde a CCS do leite do tanque foi baixa (< 500 mil céls./mL) o CMT foi negativo e onde a CCS apresentou-se alta (> de 500 mil céls./mL) o CMT foi positivo variando de + até +++ mostrando uma relação positiva entre a CCS do leite do tanque e o teste de CMT.

Brito et al. (1997) encontraram relação de positividade entre a CCS e o teste de CMT ao avaliarem amostras de leite de 760 vacas Holandesas, onde as reações ao CMT foram interpretadas em escores negativo, traço, +, ++ e +++ e verificaram que a relação entre os escores do CMT e a CCS de 79,88 mil céls./mL, 2333,51 mil céls./mL, 670,33 mil céls./mL, 1.353,97 mil céls./mL e 4.555,60 mil céls./mL, respectivamente. Sendo assim, os autores, confirmaram a especificidade e sensibilidade do teste CMT em relação à CCS e concluíram que o uso regular do CMT pode contribuir para melhorar o estado sanitário dos rebanhos, se os dados obtidos forem usados para orientar a adoção de medidas para o controle da mastite e se forem associadas práticas adequadas de manejo e higiene. A mesma correlação entre os testes foi verificada por Rossi et al. (2012)

As altas CCS observadas no presente estudo podem ser explicadas por falhas no manejo, principalmente no que se refere aos cuidados higiênicos que foram observadas durante a realização do checklist, das condições de manejo e higiene dos animais e das instalações durante e após a ordenha. Nas sete propriedades que apresentaram CCS alta foi observado que em quatro tinham como rotina a prática de realizar o pré e o pós-dipping na desinfecção dos tetos, sendo que as outras três realizavam apenas a prática do pós-dipping.

Foi observado também que nenhuma dessas sete propriedades, realizava o teste da caneca de fundo escuro para diagnóstico de mastite clínica e nem o teste de CMT para diagnóstico de mastite subclínica.

Na tabela 5, pode-se observar também que as propriedades B, C, D, F, G, I e J apresentaram a CCS do leite do tanque de expansão acima dos limites estabelecidos pela IN 62 (500 mil céls./mL). Enquanto que para CBT as amostras do leite do tanque de todas as propriedades apresentaram-se abaixo do estabelecido (300 mil céls./mL). Para os parâmetros físico-químicos, apenas para porcentagem de proteína (mín. 2,9%) todas atendiam ao estabelecido, enquanto que para os teores de gordura (mín. 3,0%) a propriedade E estava abaixo com 2,67% e para o teor de ESD (8,4%), as propriedades A e F não atenderam ao estabelecido, com 8,34 e 7,96, respectivamente, sendo estes parâmetros ajustados pelo fornecimento de uma dieta balanceada aos animais.

Sendo assim, 70% das propriedades avaliadas no presente estudo apresentavam valores de CCS acima dos limites estabelecidos pela IN62, o que pode inviabilizar economicamente as propriedades leiteiras, uma vez as indústrias de laticínio estão pagando por qualidade sendo a CCS um dos principais parâmetros avaliados, além das perdas na produção de leite provocadas em rebanhos com alta CCS.

Santos; Fonseca (2007) relatam que em rebanhos com altas CCS podem ocorrer substancial redução na produção de leite, a qual é estimada em 6 a 18% em rebanhos com 500 e 1.000 mil céls./mL de leite.

Eberhart (1987) também verificaram uma diminuição na produção de leite de 6% em rebanhos com CCS do leite do tanque de 500 mil céls./mL, 18% em contagens de 1.000 mil céls./mL e 29% em contagens de 1.500 mil céls./mL.

De acordo com Monardes (1998) para as indústrias os principais elementos que definem a qualidade do leite são os sólidos totais (gordura, proteína e lactose) as células somáticas e contagem bacteriana total.

Sendo que as indústrias geralmente trabalham mais com os requisitos gordura, proteína, CCS e CBT, onde os valores estabelecidos em centavos/litros de leite captado variam de acordo com a tabela estabelecida por cada empresa onde os valores variam de descontos, caso o leite esteja com qualidade insatisfatória, porém ainda aceitável, neutro, quando apresenta qualidade de acordo com os parâmetros e bonificações quando os valores dos índices de qualidade superam em relação às normas estabelecidas (DIONIZIO, 2013).

Dados do CEPEA (Centro de estudos avançados em economia aplicada), da ESALQ/USP ao realizarem pesquisa junto a colaboradores de Minas Gerais verificaram que o bônus por qualidade pode agregar até 18 centavos/litros no estado e da mesma forma penalizar em 9 centavos/litros por falta de qualidade baseando-se na IN 62 (CEPEA, 2014).

Verifica-se também que a ocorrência de mastite subclínica e a elevação na CCS não influenciaram a CBT, a qual manteve valores dentro do estabelecido (300 mil UFC/mL) pela legislação, em todas as propriedades, pois a mesma é um parâmetro mais fácil de ser controlado pelos produtores, pois é uma medida de verificação direta de contaminação do leite e a CCS uma medida indireta de infecção

da glândula mamária, onde vários estudos mostram que as duas contagens não estão necessariamente relacionadas (BOZO et al., 2013).

Apesar de ter sido verificado que em nenhuma das propriedades era realizado um correto manejo higiênico durante a ordenha, onde não foi observada a lavagem correta das instalações e dos equipamentos de ordenha e nem higiene pessoal do ordenhador, o leite de todas as propriedades atendia o estabelecido para CBT, tal fato pode decorrer da temperatura de armazenamento do leite, pois se o leite foi mantido em temperatura inferior ou igual a 4°C, que é recomendado para armazenamento em tanque de expansão, a CBT fica inibida á esta temperatura.

Vieira et al. (2012) encontraram resultados semelhantes, onde 60% das propriedades avaliadas para CCS não atenderam ao padrão estabelecido pela IN 62 e 40% das propriedades estava foram dos padrões exigidos pela legislação com relação a CBT, sendo estes resultados justificados também pela ausência de um correto manejo higiênico-sanitário das propriedades estudadas

Com relação aos parâmetros físico-químicos, o baixo teor de gordura verificado na propriedade E, pode ser justificado pela raça dos animais serem predominantemente da raça Holandesa e o sistema de confinamento ser do tipo free stall onde o consumo de concentrado é maior o que colabora para a redução no teor de gordura no leite, devido ao aumento da produção de propionato e redução na relação acetato/propionato. Maziero et al. (2013) avaliando 156.465 amostras de leite de vacas da raça Holandesa, verificaram que 13,8% das amostras estavam em desconformidade para os teores de gordura, 12,7% para proteína e 24,6% para ESD e sendo também que 21,8% das amostras apresentavam resultados acima do estabelecido pela legislação para CCS, indicando a presença de animais com mastite nos lotes avaliados.

Em estudo semelhante ao presente, Frigotto et al. (2012), analisando amostras de leite cru de 5 propriedades (Pelotas e Capão- RS), compostas por animais da raça Jersey e Holandesa, verificaram que 3 propriedades apresentaram valores acima do permitido para CCS e 1 propriedade apresentou valores acima do recomendado pela legislação para CBT, onde observaram que as grandes variações com relação a CCS foram causadas por falhas no manejo e prevenção das mastites bovinas. Já com relação á composição do leite, não foi observado valores abaixo

dos exigidos pela legislação com relação a gordura e proteína, já em relação a sólidos totais desengordurados, observaram valores abaixo em 2 propriedades, podendo ter como influência fatores como nutrição, raça, estágio de lactação dentre outros fatores que são moduladores desses componentes em vacas leiteiras, o mesmo foi observado no presente estudo onde as altas CCS foram decorrentes de falhas no manejo dos animais durante a ordenha e ausência de um correto controle de mastite.

No estudo conduzido por Bozo et al. (2013) no período de janeiro a agosto de 2010 em 5 propriedades (Pitangueiras-PR), foi avaliada a CCS e CBT do leite do tanque antes e após a implantação de Boas Práticas. No início, 3 propriedades apresentavam valores acima do estabelecido pela legislação para CBT e após o estabelecimento de boas práticas todas as propriedades apresentaram redução na CBT. Houve uma diminuição nos valores de CCS, porém, em apenas 3 propriedades foram obtidos valores inferiores ao estabelecido pela legislação, demonstrando a influência de um correto manejo higiênico-sanitário sobre a CCS e CBT do leite do tanque e que os valores de CCS e CBT nem sempre estão correlacionados, assim como no presente estudo.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que o trabalho foi realizado, pode-se concluir que:

- Através da aplicação do checklist foram verificadas condições higiênico-sanitárias e de manejo deficientes em todas as propriedades.
- Apenas três das dez propriedades avaliadas não apresentaram casos de mastite clínica, porém nestas e nas demais propriedades o índice de mastite subclínica foi elevado representando 75,3% dos animais dos rebanhos avaliados, justificado principalmente pelo manejo deficiente encontrado nas propriedades.
- O antimicrobiano que apresentou maior eficiência *in vitro*, sobre os micro-organismos isolados dos casos de mastite clínica foi o florfenicol (97,5%) e o de menor eficiência a penicilina (14,0%).
- Os *Staphylococcus* spp. foram os micro-organismos mais frequentemente isolados nos rebanhos estudados, tanto nos casos de mastite clínica como subclínica, sendo o maior isolamento de micro-organismos contagiosos justificada do pelas falhas no manejo dos animais principalmente no que se refere a adoção de medidas de prevenção e controle de mastite.
- Nove amostras de leite cru refrigerado colhidas das 10 propriedades, apresentaram-se em desacordo com a legislação vigente (IN62), para pelo menos um parâmetro, sendo o parâmetro responsável pelo maior número de rejeição a CCS (70%), apresentando em média 917 mil céls./mL, muito superior á permitida (500 mil céls./mL), com relação ao ESD, 2 propriedades apresentaram teores abaixo do estabelecido e para os teores de gordura 1 propriedade, justificados também por medidas de manejo deficientes.
- Sendo assim, torna-se necessário a adoção de medidas higiênico-sanitárias e de manejo adequadas para a produção de leite com qualidade e que atenda ao estabelecido pela legislação vigente.

7 REFERÊNCIAS

AIRES T. A. C. **Mastite em bovinos: caracterização etiológica, padrões de sensibilidade e implementação de programas de qualidade de leite em explorações do Entre – Douro e Minho**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

ANDRADE U. V. C.; HARTMANN W.; MASSON M.L. Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. **ARS Veterinária**. Jaboticabal, v. 25, n. 3, p.129 – 135, 2009.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, n.4, p.493-496, 1966.

BARBOSA, C. P.; BENEDETTI, E.; RIBEIRO, S. C. A.; GUMARÃES E. C. Relação entre contagem de células somáticas (CCS), California Mastitis Tests (CMT), no diagnóstico de mastite bovina. **Biosci Journal**. Uberlandia, v. 18, n. 1, p. 93 – 102, 2002.

BARKEMA, H. W.; DELUYKER, H. A.; SCHUKKEN Y. H.; LAM, T. J. Quarter-milk somatic cell count at calving and at the first six milkings after calving. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 38, n. 1, p. 1-9, 1999.

BARZON, E. M.; MELLO, P. L.; SILVA, A. V.; MARTINS L. A. Fatores de risco relacionados a mastite bovina na região Sudoeste do Paraná. **Enciclopédia Biosfera**. Goiânia, v. 9, n. 17, p. 1393, 2013.

BEXIGA, R.; CAVACO, L. M.; VILELA, C. L. Mastites subclínica bovina na Zona do Ribatejo – Oeste. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 100, p. 39 - 44, 2005.

BOZO, G. A.; AÇEGRO, L. C. A.; SILAVA, L. C.; SANTANA, E. H. W.; OKANO, W.; SILVA, L. C. C. Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 65, n. 2, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000200040>>. Acesso em: 06 de junho de 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Pescados e Derivados, C.7, seção 1. Brasília, 1952.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, 30 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/visualizaindex.jsp?data=30/12/2011&jornal=1&pagina=6&totalArquivos=160>>. Acesso em: 15 de junho de 2014.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S. BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do "California Mastitis Test" como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação a contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Coronel Pacheco, v. 17, n. 2, p. 49 – 53, 1997.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. **Como reconhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos**. Juiz de Fora: Embrapa, 2002. 8 p. (Embrapa Gado Leite. Circular Técnica, 70).

BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; SOUZA, G. N.; ARCURI, E. F.; BRITO, M. A. V. P.; SILVA, M. R. Adoção de boas práticas agropecuárias em propriedades leiteiras da região Sudeste do Brasil com um passo para a produção de leite seguro. **Acta Scientiae Veterinariae**. Porto Alegre, v.32, n. 2, p. 125 – 131, 2004.

BRITO, M. A. V. P.; LANGE, C. C. Resíduos de antibióticos no leite. **Embrapa**. Juiz de Fora, v.44, n. 1, p. 65-67. 2005.

BRITO, L. G.; SALMAN, A. K. D.; GONÇALES, M. A. R.; FIGUEIRO, M. R. Manejo sanitário voltado ao controle da mastite bovina. In: BRITO, L. G. et al.. **Cartilha para o produtor de leite de Rondônia**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2007. p. 7-16. Parte II: Aspectos técnicos. (Documentos, 116). Disponível em: <http://www.cpafrro.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/doc116_cartilhaprodutordeleite_.pdf>. Acesso em: 14 de junho de 2014.

CARMO A. M. A.; SALES R. C.; GRACINDO A. P. A. C.; PEREIRA G. F.; ABRANTES, M. R. ; SILVA, J. B. A.; SOUSA, Ê. S. Avaliação da sensibilidade *in vitro* a antimicrobianos de micro-organismos isolados nos casos de mastite no município de Apodi/RN, - Campus Cidade Alta. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFRN, 9., 2013, Natal. **Anais eletrônico...** Natal: IFRN, 2013. Disponível em: <www2.ifrn.edu.br/ocs/index.php/congic/ix/paper/view/1086/88>. Acesso em: <15 de junho de 2014.

CARVALHO, A. L.; TANEZINI, C. A.; COSTA, F. M. A.; PONTES, I. S.; ROCHA, J. M.; CERQUEIRA, W. B. S.; D'ALESSANDRO, W. T. **Qualidade do leite do Centro-Oeste**, Goiânia: Editora da UFG, 1995.

CASSOL, D. M. S.; SANDOVAL, G. A. F.; PERICOLE, J. J.; GIL, P. C. N.; MARSON, F. A. Mastite bovina. **A Hora Veterinária**. São Paulo, v.29, n.175, p.27-31, 2010.

CASSOLI, L. D. ; MACHADO P. F. **Manual de instruções para coleta e envio de amostras de leite para análise**, 2006. b. Disponível em:<http://www.clínicadoleite.com.br/al_downloads.asp>. Acesso em: 13 de maio de 2014.

CEPEA. Centro de estudos avançados em economia aplicada. **Esalq/USP**. 2014

CHAGAS, L. G. S.; MELO, P. C.; BARBOSA, N. G.; GUIMARÃES, E. C.; BRITO, D. V. D. Ocorrência de mastite contagiosa causada por *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. e *Candida* sp. em uma propriedade rural no município de Indianópolis – Minas Gerais, Brasil. **Jornal of Biosciences**. Bangalore, v. 28, n. 6, p. 1007 – 1014, nov./dec. 2012.

COSER, S. M., LOPES, M. A., COSTA, G. M. **Mastite bovina: controle e prevenção**. Universidade Federal de Lavras. Departamento de Medicina Veterinária (Lavras/MG). Boletim Técnico - n.º 93 - p. 1-30 ano 2012.

COSTA, A. C. **Mastite subclínica: patógenos isolados e respectiva sensibilidade antimicrobiana, variação da contagem de células somáticas e fatores de risco**. 2010. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.443-455, 2002.

COSTA, E. O.; CARVALHO, V. M.; COUTINHO, S. D.; CASTILHO, W., CARAMORI, L. F. L. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Brasília, v. 5, n. 4, p. 117 – 120, 1985.

COSTA, F. F. **Interferência de práticas de manejo na qualidade microbiológica do leite produzido em propriedades rurais familiares**. 2006. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006.

DIAS, R. V. C.. Principais métodos de diagnósticos e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasileira**. Mossoró, RN, v. 1, n. 1, 2007, 23–27 p.

DIONISIO, F. L. **Qualidade do leite e impacto econômico de diferentes tipos de coleta e condições de transportes da fazenda à indústria**. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

DINGWELL, R. T.; LESLIE, K. E.; SCHUKKEN, Y.H.; SARGEANT, J.M.; TIMMS, L.L.; DUFFIELD, T.F.; KEEFE, G.P.; KELTON, D.F.; LISSEMORE, K.D.; CONKLIN, J. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infection during the dry period. **Preventive Veterinary Medicine**. Canadá, 2004; 63: 75–89.

DURR, J. W. **Como produzir leite de qualidade**, 2012. 44p. (Coleção SENAR. Documento,133) Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/SENAR%20%20Produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20leite%20conforme%20IN%2062.pdf>. Acesso em: 06 de junho de 2014.

EBERHART, R. J. Current concepts of bovine mastitis. In: **Natl. Mastitis Council**, 3 ed., Arlington,VA [s.n],1987.

EMANUELSON, U.; FUNKE, H. Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis. 1991. **Journal of Dairy Science**. United States, v. 74, p. 2479-2483.

ERSKINE, R. 2000. **Antimicrobial drug use in bovine mastitis**, p.712-734. In: Prescott J.F., Baggot J.D. & Walker R.D (Eds), **Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine**. Iowa State University Press, Ames.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA C. A. F. Infecções intramamária causadas por *Staphylococcus aureus* e suas complicações em saúde pública. **Ciência Rural**. Santa Maria, RS, v. 34, n. 4, jul./ago. 2004. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782004000400058>> Acesso em: 14 de junho de 2014.

FERREIRA, J. L.; LINS, J. L. F. H. A.; CAVALCANTE, V. T.; MACEDO, M. A.; BORJAS, A. R. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí, **Revista Ciência Animal Brasileira**, Araguaína, v. 8, n. 2, p. 261 – 266, abr./jun. 2007. Disponível em:<<http://revistas.jatai.ufg.br/index.php/vet/article/viewFile/1350/1406>>. Acesso em: 20 de setembro de 2014.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175 p.

FONTANA, V. L. D. S; GIANNINI, M. J. S. M.; LEITE, C. Q. F.; MIRANDA, E. T.; ALMEIDA, A. M. F.; FONTANA, C. A. P.; SOUZA, C. M.; STELLA, A. E. Etiologia da mastite bovina subclínica, sensibilidade dos agentes etiológicos as drogas antimicrobianas e detecção do gene da B-lactamase em *Staphylococcus aureus*. **Veterinária e Zootecnia**. Botucatu, v. 17, n. 4, p. 552 – 559, dez. 2010.

FRIGOTTO, D. F.; PIVA, N. V.; TIMM, C. D.; DIAS, P. A.; LACERDA, V.; CARRILHOS, S.; CHAGAS, D. B. OLIVEIRA, D. GONZALEZ, H. L. . **Qualidade e composição do leite: um comparativo entre a Instrução normativa nº 51 e a Instrução Normativa nº62**. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 4, 2012, Rio Grande do Sul. Anais...Rio Grande do Sul: Pelotas, 2012. p.3.

GONÇALVES, E. **Guia prático de produção intensiva de leite** [ebook na internet]. Rio de Janeiro; 2007 [acesso em: 15 de junho de 2014]. Disponível em:<[http://bis.sebrae.com.br/GestorRepositorio/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/5ED43C8F8C05B3D28325768000624CF0/\\$File/NT00042E26.pdf](http://bis.sebrae.com.br/GestorRepositorio/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/5ED43C8F8C05B3D28325768000624CF0/$File/NT00042E26.pdf)>. Acesso em: 08 de maio de 2014.

GONÇALVES, J. L. **Produção e composição do leite de vacas com mastite causada por *Corynebacterium* spp.** 2012. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, 2005.

HERTI, J. A.; SCHUKKENY, H.; WELCOME, F. L.; TAUER, L. W.; GROHN, Y. T. Pathogen-specific effects on milk yield in repeated clinical mastitis episodes in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. United States, 97:1465-1480, 2014.

HOGAN, J.; SMITH, K. L. Manageng enveromental mastitis. **Veterinary Clinics Food Animal**, USA, v. 28, p. 217 – 224, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.009>>. Acesso em: 15 de junho de 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Nacional**. 2014.

KITCHEN, B.J. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis, milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**. United States, v. 48, p. 167-188, 1981.

KOLLING, G. J. **Influência da mastite na qualidade do leite instável não ácido em diferentes quartos mamários**. 2012. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

KREWER, C. C.; LACERDA, I. P. S.; AMANSO E. S.; CAVALCANTE, N. B.; PEIXOT, R. M.; PINEIRO, J. W.; COSTA, M. M.; MOTA, R. A.. Etiologia, perfil de sensibilidade dos *Staphylococcus spp.* aos antimicrobianos e fatores de riscos associados a mastite bovina no estado da Bahia e Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 33, n. 5, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2013000500009>. Acesso em: 15 de junho de 2014.

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v.3, p.57-64, 2000.

LANGONI, H. PENACHIO, D. S. CITADELLA, J. C. C.; LAURINO, F.; MARTINS, P. Y. F.; LUCHEIS, S. B.; MENOZZI, B. D.; SILVA, A. V. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 31, n. 12, p. 1059-1065, dez. 2011.

LANGONI, H. Qualidade do leite: utopia sem um programa serio de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. **Revista Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 33, n. 5, 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000500012>>. Acesso em: 15 de junho de 2014.

LIMA, A. C. R. M. **Perfil microbiológico do leite de propriedades paulistas em relação as condições exigidas pela instrução normativa 62 do MAPA**. 2014. 114 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável) – Instituição de Zootecnia, Nova Odessa, 2014.

LUKAS, J. M.; HAWKINS, D.M.; KINSEL, M. L.; RENAAU, J. K. Bulk tank somatic cell counts analyzed by statistical process control tools to identify and monitor subclínical mastitis incidence. 2005. **Journal of Dairy Science**. United States, v. 88, p. 3944-3952.

Mac FADDIN, J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1976. 312p.

MALUF, H. J. G. M.; MACHADO, L. C.; RODRIGUES B. O.; LUIS, M. S. **Aspectos gerais de manejo preventivo da mastite bovina**. In: Semana de Ciências e Tecnologia IFMG e Jornada Científica. 2., 2009, Bambuí, Resumos... Bambuí, 2009.5 p.

MANZI, M.P.; FACCIOLLI, P.Y.; NOBREGA, D.B.; TRONCARELLI, M.Z.; LANGONI, H. Relationship between teat – end condition, udder cleanliness and bovine subclínical mastitis. **Research in Veterinary Science**. São Paulo, v. 93, p. 430 – 434. 2012.

MARCÍLIO, T. **Qualidade do leite**. 2008. 73 f. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Florianópolis, 2008.

MARTINS, R. P.; MARQUES, M. R. H.; NETO, A.C. Etiologia da mastite subclínica em vacas do rebanho de uma queijaria em Nossa Senhora do Livramento, MT. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 13, p. 104-110, 2006.

MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; ALMEIDA, E. S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, GO, v. 11, n. 1, p. 181 – 187, jan./ mar. 2010.

MAZIEIRO, M. T.; VIANA, C.; BERSOT, L. S. Influência da contagem de células somáticas sobre os componentes do leite. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 392, p. 18-22, mai./jun., 2013.

MEDEIROS, E. S.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; PEIXOTO, R. M.; SILVA FILHO, A.P.; FARIA, E. B.; MOTA, R. A. Avaliação do exame microbiológico, California Mastitis Test e Somaticell® no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos leiteiros. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. Recife, PE, v.2, n.2, p.16-22, 2008.

MIDDLETON, J. R. *Staphylococcus aureus* mastitis: Have we learned anything in the last 50 years. **NMC Regional Meeting Proceedings**. 2013.

MIRA, C. S.; LIBERA, A. M. P. D.; SOUZA, F. N.; LIMA, S. M.; BLAGITZ M. G. Celularidade do leite no diagnóstico de infecção intramamárias em bovinos. **Revista Ciências Agrárias**. Pernambuco, v. 56, n. 1, p. 7 – 11, jan./mar. 2012.

MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Québec, Canadá. In: **Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite**. Anais. Curitiba: UFPR, 88p. p.40- 43. 1998

MOLINERI, A. I.; SIGNORINI, M. L.; CUATRÍN, A. L.; CANAVESIO, V. R.; NEDER, V. E.; RUSSI, N.B.; BONAZZA, J. C.; CALVINHO, L.F. Association between milking practices and psychrotrophic bacterial counts in bulk tank milk. **Revista Argentina de Microbiologia**. Buenos Aires, v. 44, p. 187-194, 2012.

MULLER, A. B.; MEIERHOFER, R. S.; AMMON, C.; BRUNSCH R. The effects of quarter individual milking in conventional milking parlours on the somatic cell count and udder health of dairy cows. **Jornal of Dairy Research**. United States, v. 80, p. 36 – 44, jul. 2012.

MULLER, E. **Qualidade do leite, células somáticas de prevenção de mastite**. Anais do II Sul – Leite: Simpósio sobre sustentabilidade da pecuária leiteira na região Sul do Brasil: Editora Nupel, p. 206 – 217, 2002.

NADER, FILHO, A.; FERREIRA, L. M., AMARAL, L. A.; ROSSI JUNIOR, O. D. OLIVEIRA, R. P. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Arquivo do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 74, n. 1, p. 1 – 4, jan./marc., 2007.

NASCIF JUNIOR, I. A. **Diagnóstico da mastite subclínica bovina pela condutividade elétrica do leite, CMT e contagem de células somáticas: influência das estações do ano, fases da lactação e ordenhas da manhã e da tarde**. 2001. 47 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2001.

NASCIF JUNIOR. I. A. **Avaliação da eficácia do ácido láctico frente ao iodo na anti-sepsia dos tetos após a ordenha na prevenção da mastite bovina**. Jaboticabal. 2005. 84 f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2005.

NMC. **Current concepts of bovine mastitis**. 4. ed. Madison: NMC, 1996. 64 p.

NMC. 1999. **Laboratory and field handbook on bovine mastitis**, p. 11-19. National Mastitis Council, Inc., Arlington, VA.

OLIVEIRA, A. A.; MELO C. B.; AZEVEDO, H. C. Diagnóstico e determinação microbiologia da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 10, n. 1, p. 226 – 230, jan./mar. 2009.

OLIVEIRA, A. J.; MORAES G. F.; FERREIRA, I. C.; MONTEIRO, C. P.; CARVALHO, A. D. F. Mastite clínica e subclínica em pequenas propriedades leiteiras no município de Araguari – MG. **Revista Veterinária Notícia**. Uberlândia, v.19, n. 1, p. 7 – 13, jan./jun. 2013.

OLIVEIRA, U. V.; GALVÃO, G. S.; PAIXÃO, A. R. R.; MUNHOZ, A. D. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados a mastite bovina na microregião Itabuina-Ilhéus, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Bahia, v. 11, n. 3, p. 630 – 640, jul./set., 2010. Disponível em: <<file:///C:/Users/ALESSANDRA/Downloads/1803-8318-1-PB.pdf>>. Acesso em: 20 de agosto de 2014.

PARDO, R. B.; STURION, D. J.; BASILE, J. R.; CHAVES NETO, A. F.; DUARTE, D. D. S.; FERNANDES, A. A.; YOKOSAMA, S. Y.; MENCK, R. C.; GODOY, C. A.; FARINAZZ, A. M.; PANÍCIO, E. M. Levantamento dos agentes etiológicos da mastite bovina na região de Araponga, PR. **Unopar Científica**. Londrina, v. 1, n. 1, 1999.

PRATA, L. F. **Fundamentos de ciência do leite**. São Paulo: FUNEP, UNESP, 2001. 287p.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S.C. **Mastitis: Counter Attack**. Naperville: Babson Bros, 1991. 150p.

PHILPOT, N. W.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Piracicaba: Westfalia Surge/WestfaliaLandtechnik do Brasil, 2002. 192 p.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. 1994. Enterobacteriaceae, p.209-236. In: Ibid.(Eds), **Clínical Veterinary Microbiology**. Wolfe, London.

QUINN, P. J., MARKEY, B.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. 2005. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Artmed, Porto Alegre, p.115-130.

RAMIREZ, G. D.; RONDON, L. S.; GERMÁN V. Determinación de residuos de antibióticos y tiempo de retiro em leche proveniente del municipio de Cartago (Valle Del Cauca). **Revista Colombiana de Ciência Animal**. Colômbia, v. 5, n. 1, p. 25 – 31. 2012.

REBHUN, W. C. **Doenças do Gado Leiteiro**. São Paulo: Editora Roca, 2000. p.339-377.

RIBEIRO JUNIOR, E.; SILVA, M. H.; VIEGAS, S. A. A.; RAMALHO, E. J.; RIBEIRO, M. D. OLIVEIRA, F. C. S. California Mastitis Test (CMT) e wheteside como métodos de diagnostico indiretos da mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Bahia, v. 9, n. 4, p. 680 – 686, out./dez., 2008.

RIBEIRO, W. O.; OLIVEIRA, R. L.; MARTINS, M. L.; MARTINS, J. M.; ARCANJO, A. H, M.; NETO, O. B. A. Enumeração de micro-organismos causadores de mastite bovina e estudos da ação de antimicrobianos. **Revista Laticínios Candido Tostes**. Juiz de Fora, v. 69, n. 1, p. 45 – 52, jan./fev., 2014.

RIBEIRO, J. C.; BELOTI V. Mastite bovina e seu reflexo na qualidade do leite – Revisão de literatura. **Revista Eletrônica de Formação e Ciência**, v. 2, n. 02, p. 01–12, 2012. Disponível em:<www.fira.edu.br/revista/reec_vol2_num2_pag1.pdf>. Acesso em: 04 de abril de 2014.

RIBEIRO NETO, A. C.; BARBOSA, S. B. P.; JATOBÁ, R. B.; SILVA, A. M.; SILVA, C. X.; SILVA, M. J. A.; SANTORO, K. R. Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região Nordeste. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 64, n. 5, p. 1343-1351, 2012.

RIEL, R. **Ciência e tecnologia de laticínios Composición y estructura físico-química de la leche**. Zaragoza: Editorial Acribia S. A. 1991. p. 1-54.

RODOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCUFF, K. W.; **Clínica Veterinária – Um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. São Paulo: Editora Guanabara Koogan, 2007.

ROSSI, A. P.; KAZAMA, S.; LINO-LOURENÇO, A. D.; SANTOS F. S.; SANTOS, G. T.; DAMASCENO, J. C.; RIBAS NETO, P. G. Composição e qualidade do leite em função da fase e ordem de lactação. **Revista Colombiana de Ciência Animal**. Colombia, v. 4, n. 1, p. 4-23, 2012.

RUPP, R.; BEAUDEAU, F.; SEEGER H.; BOICHARD, D. Relationship between milk somatic-cell counts in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cows. **Preventive Veterinary Medicine**, Netherlands, v. 46, 2000, 99-111 p.

SAAB, A. B.; ZAMPROGNA T. O.; LUCAS, T. M.; MARTINIK. C.; MELLO, P. L.; SILVA, A. V.; MARTINS, L. A. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Nova Tebas, Paraná. **Ciências Agrárias**. Londrina, v. 35, n. 2, p. 835 – 844, mar./abr. 2014.

SALOMÃO, V. S. C. **Influência de diferentes tipos de micro-organismos na contagem bacteriana total e de células somáticas por citometria de fluxo e na composição centésima do leite cru.** 2012. 48 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

SANTOS, E. M. P.; BRITO, M. A. V. P.; LANGE, C.; BRITO, J. R. S.; CERQUEIRA, M. M. O. P. Streptococcus e gêneros relacionados como agentes etiológicos de mastite bovina. **Acta Scientiae Veterinariae**. Porto Alegre, v. 35, n. 1, p. 17 – 27, 2007.

SANTOS, F. G. B.; MOTA, R. A.; SILVEIRA FILHO, V. M.; SOUZA, H. M.; JOHNER, J. M. Q.; LEAL, N. C.; ALMEIDA, A. M. P.; LEAL T. C.. Tipagem molecular de *S. aureus* isolados do leite de vacas com mastite subclínica equipamentos de ordenha procedentes do estado de Pernambuco. **Napgama**. São Paulo, v.6, n.1, p.19-23, 2003.

SANTOS, L. L.; COSTA, G. M. P.; PÁDUA, U.; SILVA, M. A.; SILVA, N. Mastites clínicas e subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus coagulase negativa*. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 1- 7, 2011.

SANTOS, M. V. O uso da CCS em diferentes países In: Mesquita, A. J. Durr, J. W., Coelho, K. O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Editora Talento, p. 181-197, 2006.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Importância e efeito de bactérias psicrótróficas sobre a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 82, p. 13-19, 2001.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**, 1º Ed., Barueri; Manole, 2007. 314p.

SANTOS, M. V. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite. In: DURR, J. W., CARVALHO, M. P., SANTOS, M. V. **O Compromisso com a Qualidade do Leite**. Passo Fundo: Editora UPF, 2004, v.1, p. 269-283.

SARKER, S. C.; PARVIN M. S.; RAHMAN, A. K. M.; ISLAM, M. T. Prevalence and risk factors of subclinical mastitis in lactating dairy cows in north and south regions of Bangladesh. **Tropical Animal Health Production**. Edinburgh, v. 45, p. 1171 – 1176, 2013.

SILVA, A. F.; SANCHES, W. **Boas práticas agropecuárias em ordenha mecânica na região de São José do Rio Preto/ SP**. [Projeto de Graduação para obtenção do grau de tecnólogo em agronegócio]. São José do Rio Preto: Faculdade de tecnologia de São José do Rio Preto; 2010.

SILVA, N. Doença da glândula mamária: mamite/mastite. In: MARQUES, D. C. **Criação de bovinos**. 7 ed. Belo Horizonte: Consultoria Veterinária e Publicações, 2003.p. 435 - 451.

SILVA, T. F. **Correlação entre o crescimento bacteriano em placa com a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) de leite provenientes de vacas com mastite subclínica do Norte e Nordeste Fluminense**. 2007. 83 f. Dissertação (Mestre em Produção Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Goytacazes, 2007.

SIMÕES, T. V. M.; OLIVEIRA A. A. **Mastite bovina, considerações e impactos econômicos**. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2012. 25 p. (Embrapa Tabuleiro Costeiro. Documento, 170). Disponível em: <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2012/doc_170.pdf> Acesso em: 04 abr. 2014.

SOUZA, M. B. **Fundamento do controle e prevenção da mastite na produção de leite**. 2013. 23 f. Dissertação (Relatório Final do Curso de Zootecnia) – Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2013.

SOUZA, G. N. Mastite e Instrução Normativa 51. In: Simpósio de qualidade do leite e derivados, n.1, 2010, Rio de Janeiro. **Anais eletrônico...** Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2010. Disponível em:<<http://r1.ufrj.br/simleite/Guilherme%20Souza.pdf>>. Acesso em 05 de junho de 2014.

SCHUCH, L. F. D.; SOUZA, P. L.; LENZ, L.; COIMBRA, A. **Controle de mastite bovina através de manejo e uso de insumos naturais**. Pelotas, 2005.

SCHVARZ D. W.; SANTOS J. M. G. Mastite bovina em rebanhos leiteiros: ocorrência e métodos de controle e prevenção. **Revista em agronegócio e meio ambiente**. São Paulo, v. 5, n. 3, p. 453 – 473, set./dez., 2012.

STEFFERT, I. J. Compositional changes in cows milk associated with health problem. In: *MILK FAT FLAVOUR FORUM*, 1993, Palmerston North, New Zealand. *Proceedings...* Palmerston North, New Zealand: **New Zealand Dairy Research Institute**. New Zealand, 1993.p.119-125.

TAFFARELL, L. E.; COST, P. B.; OLIVEIRA, N. T. E.; BRAGA, G. C.; ZONIN, W. J. Contagem bacteriana total do leite em diferentes sistemas de ordenha e de resfriamento. **Revista Arquivo Instituto Biológico**. São Paulo, v. 80, n. 1, p. 7 – 11, jan./mar., 2013.

THORBERG, B. M.; DANIELLSON, M. L.; EMANUELSON, U.; WALLER, P. Bovine subclínical mastitis caused by different types of coagulase – negative staphylococci. **Journal of Dairy Science**. United States, v. 92, n. 10, p. 4962 – 4970, 2009.

VIEIRA, B.C.R.; RAMOS R. C.; SENHORELO, I. S.; BEZERRA, A. O.; DONATELE, D. M.; COGO, R. C. **Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados a mastite no gado leiteiro bovino do município de Alegre/ES**. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO E INOVAÇÃO DO FES, 7, 2012, Vitória. Anais... Vitória: Espírito Santo, 2012.

WALCHER, U. **Mastite bovina**. 2011. 22 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

WOLF, C. S. P. *Staphylococcus aureus* mastitis: cause, detection, end control. **Virginia Cooperative Extension**. 2010. Disponível em: <http://pubs.ext.vt.edu/404/404-229/404-229_pdf.pdf> . Acesso em: 08 de junho de 2014

ZAFALON, L. F.; NADER F. A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D. Perfis de resistência de *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite subclínica. **Boletim da Indústria Animal**, São Paulo, v. 62, n. 3, p. 229 – 234, 2005.

ZANETTE, E.; SCAPIN, D.; ROSSI, E.M. Suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de bovinos com suspeita de mastite. **Unesc & Ciência– ACBS**. Santa Catarina, v. 1, n.1, p. 65 – 70, jan./jun. 2010.

ZENI, F. **A importância da qualidade da ordenha no controle da mastite bovina**. 2012. 62 f. Dissertação (Trabalho de conclusão de curso para obtenção de graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

ANEXO

Checklist para avaliar as condições higiênicas e de manejo dos animais e das instalações durante e após a ordenha.

Raça dos animais			
Media de produção de leite/dia			
Número de animais em lactação			
Histórico de doença no rebanho			
Quantas ordenhas diárias?			
Tempo de duração entre a 1° e a 2° ordenha			
Tipo de alimentação dos animais			
Instalação: Pasto rotacionado?	sim	não	
Instalação: Pasto free stall?			
Se free stall que tipo de cama?			
Tem dimensionamento correto?			
Existem animais circulando no free stall?			
A limpeza é feita de forma correta?			
A sala de espera dos animais está em condições de higiene adequada?			
Piso das instalações são impermeáveis?			
Os pisos são laváveis?			
Os animais são conduzidos de maneira adequada para sala de ordenha?			
Sem stress?			
Existe linha de ordenha?			
O piso é de fácil limpeza e desinfecção?			
Instalação (solução desinfetante, toalhas descartáveis, caneca de fundo escuro, material para realizar CMT, energia elétrica, equipamentos utilizados na ordenha) antes de receber os animais?			
Sala de ordenha limpa?			
Equipamento de ordenha limpo?			
Ordenhador limpo?			
O ordenhador lava as mãos antes e durante a ordenha?			
Os tetos são lavados antes da ordenha?			
Há secagem dos tetos?			
Se sim é realizada com material descartável?			
Realiza teste da caneca de fundo escuro e CMT?			
Aplica-se pré-dipping?			
Aplica-se pós-dipping?			
As teteiras são posicionadas de maneira adequada?			
Vacuo da teteira reduzido para o posicionamento?			
São encaixadas perfeitamente no teto?			
Utiliza-se peso/mão no conjunto de teteiras para aumentar secreção?			
Realiza-se manejo de secagem das vacas?			

O filtro do sistema de ordenha apresenta sujidades?			
Pouco ou muita sujidade?			
Há limpeza de equipamentos (latões, ordenhadeiras) após ordenha?			
É realizado ciclo completo de limpeza?			
A água utilizada na higienização dos tetos e equipamentos recebe tratamento?			
Os animais permanecem em pé por pelo menos 30 min após ordenha?			
O tanque de expansão esta localizado em local adequado?			
Protegido de contaminação?			
O material dos quais são feitos os equipamentos e recipientes possibilitam completa limpeza e desinfecção?			
As instalações estão situadas distantes de contaminantes (fumaça, poeira)			
Histórico de CCS			
Histórico de CBT			
Caminhão passa com qual frequência?			