

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INDICADORES DE QUALIDADE DO LEITE DE VACAS CRIADAS
NO SISTEMA SILVIPASTORIL

CARMEN ALICIA DAZA BOLAÑOS

Botucatu - SP

Fevereiro 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO MESQUITA FILHO - UNESP

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INDICADORES DE QUALIDADE DO LEITE DE VACAS CRIADAS
NO SISTEMA SILVIPASTORIL

CARMEN ALICIA DAZA BOLAÑOS

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção
do título de Mestre.

Área: Saúde Animal, Saúde Pública
Veterinária e Segurança Alimentar.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Garcia Ribeiro.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Bolaños, Carmen Alicia Daza.

Indicadores de qualidade do leite de vacas criadas no sistema silvipastoril /
Carmen Alicia Daza Bolaños. - Botucatu, 2014

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Márcio Garcia Ribeiro

Capes: 50500007

1. Bovino de leite. 2. Leite - Qualidade. 3. Mastite. 4. Pastagens - Manejo. 5.
Manejo florestal.

Palavras-chave: Bovino; CBT; CCS; Silvipastoril.

Nome do Autor: Carmen Alicia Daza Bolaños.

Título: INDICADORES DE QUALIDADE DO LEITE DE VACAS CRIADAS NO SISTEMA SILVIPASTORIL.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Márcio Garcia Ribeiro
Presidente e Orientador
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ – UNESP – Botucatu, SP.

Prof. Dr. Paulo Francisco Domingues
Membro
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ – UNESP – Botucatu, SP.

Profa. Dra. Amanda Keller Siqueira
Membro
Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes.
Instituto de Biologia - UNICAMP – Campinas, SP.

Data da defesa: 17 de fevereiro de 2014.

DEDICATÓRIA

A Alba Leonor, Mariana de Jesus e Nacor Ernesto (R.I.P), exemplo de entrega total e luta incansável pela união da família, responsabilidade e amor pelo trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Deus por cada dia de minha vida, pelas bênçãos recebidas porque me enchem de alegria e pelas dificuldades porque me fazem mais forte.

A meus pais Robert e Carmen Eugenia por seu apoio incondicional e sua preocupação por meu bem-estar.

A meus irmãos Daniel Ernesto e Robert Sebastian, meus amigos.

Dario Alejandro, meu amigo, colega, namorado, que me tem acompanhado e ajudado incondicional e desinteressadamente.

Professor Márcio Garcia Ribeiro, por ter-me aceito como orientada ainda sem me conhecer.

Fernando José Paganini Listoni pela ajuda na interpretação das culturas e antibiogramas.

Professor José Carlos de Figueredo Pantoja pela assessoria estatística.

Cristian Araya pela assessoria estatística.

Rafaela Riseti, Marília Salgado Caxito, Ana Carolina Alves e Giselle Pineli, pela ajuda no transporte do material à Clínica do Leite em Piracicaba, e realização das culturas.

Dra. Sonia Abe pela informação e documentação para o processo de importação do material de pesquisa.

Dr. Esteban Cadena Vinueza, Dr. Andrés Sinisterra e senhor Carlos Berrio Cavalli, pela ajuda no contato com os pecuaristas, assim como acompanhamento na coleta do material na Colômbia.

Pecuaristas da cooperativa COGANCEVALLE, por permitir a coleta do material em suas propriedades.

Clínica do Leite–ESALQ-USP-, pelo serviço de análises do material de pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa do mestrado (processo 14657-2).

Muito obrigada!

“A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo que seus animais são tratados”.

(Mahatma Gandhi)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Principais constituintes do leite bovino.....	13
Tabela 2-	Concentrações de minerais (mg/ 100mL) e vitaminas no leite bovino ($\mu\text{g}/100\text{ mL}$).....	17

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1. Principais constituintes do leite individual e coletivo (tanque de expansão e latões) em vacas criadas no sistema silvipastoril no Vale do Cauca. Colômbia, 2013..... 44
- Quadro 2. Análise de variância da composição do leite individual e coletivo (tanque de expansão e latões) segundo diferentes árvores utilizadas no sistema silvipastoril no Vale do Cauca. Colômbia, 2013..... 45
- Quadro 3. Valores de CCS e CBT para amostras individuais e coletivas (tanque de expansão e latões) de leite de vacas produzido em sistema silvipastoril no Vale do Cauca. Colômbia, 2013..... 47
- Quadro 4. Micro-organismos isolados em amostras leite individual e coletivo (tanque de expansão e latões) produzido no sistema silvipastoril no Vale do Cauca. Colômbia, 2013..... 49
- Quadro 5. Perfil de sensibilidade microbiana “in vitro” de micro-organismos isolados do leite de vacas provenientes de sistema silvipastoril no Vale do Cauca. Colômbia, 2013..... 51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Sistema silvopastoril na Fazenda El Samán, Colômbia, 2013.....	08
Figura 2-	Vaca consumindo folhas de leucena (<i>Leucaena leucocephala</i>) Fazenda El Hatico, Colômbia.....	09
Figura 3-	Vaca consumindo folhas de acácia (<i>Acácia magnum</i>).....	09

LISTA DE ABREVIATURAS

Christie, Atkins, Munch-Petersen	CAMP
California Mastitis Test	CMT
Contagem Bacteriana Total	CBT
Contagem de Células Somáticas	CCS
Estafilococos Coagulase Negativa	ECN
Estafilococos Coagulase Positiva	ECP
Escola Paulista de Medicina	EPM
Motilidade Indol Lisina	MILi
Sistema Silvipastoril	SSP
Unidade Formadora de Colônias	UFC

SUMARIO

	Página
RESUMO.....	XV
ABSTRACT.....	XVII
CAPITULO I.....	01
1. INTRODUÇÃO.....	02
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	07
2.1 Sistemas Silvopastoris.....	07
2.2 Qualidade do Leite.....	11
2.3 Composição do leite bovino.....	12
2.3.1 Gordura.....	13
2.3.2 Proteína.....	14
2.3.3 Extrato Seco (ES).....	15
2.3.4 Extrato Seco Desengordurado (ESD).....	15
2.3.5 Lactose e pH.....	15
2.3.6 Ureia.....	16
2.3.7 Minerais e vitaminas.....	17
2.4 Contagem de Células Somáticas (CCS).....	17
2.5 Contagem Bacteriana Total (CBT).....	19
2.6 Adulterantes.....	19
2.6.1 Resíduos de antimicrobiano/inibidores de multiplicação de micro-organismos.....	20
2.8 Mastite bovina.....	21
2.8.1 Aspectos gerais.....	21
2.8.2 Etiologia.....	21
2.8.2.1 Micro-organismos contagiosos.....	22
2.8.2.2 Micro-organismos ambientais.....	23
3. OBJETIVOS.....	25

3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivos Específicos.....	25
CAPITULO II – Trabalho Científico	26
Pesquisa Veterinária Brasileira – Instruções aos autores.....	27
ABSTRACT.....	34
RESUMO.....	35
INTRODUÇÃO.....	36
MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
Propriedades.....	37
Animais e coleta de material.....	38
Diagnóstico de mastite.....	39
Isolamento e identificação dos micro-organismos.....	39
Perfil de sensibilidade microbiana “in vitro”.....	39
Contagem eletrônica de células somáticas.....	40
Contagem Bacteriana Total.....	40
Avaliação de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação de micro-organismos.....	40
Análise da composição do leite.....	41
Análise estatística e universo amostral.....	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
Composição do leite.....	42
Contagem de Células Somáticas.....	46
Contagem Bacteriana Total.....	47
Ocorrência e etiologia da mastite.....	48
Perfil de sensibilidade microbiana “in vitro”.....	49
Detecção de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação de micro-organismos.....	51
Agradecimentos.....	51
REFERÊNCIAS.....	52
CAPITULO III	59

4. CONCLUSÕES.....	60
5. REFERÊNCIAS.....	61

BOLAÑOS, C.A.D. Indicadores de qualidade do leite de vacas criadas em sistema silvipastoril. Botucatu, 2014. 89p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

RESUMO

O sistema silvipastoril caracteriza-se por aumentar a produção de leite, com maior número de vacas por hectare, devido ao maior aporte de proteína na dieta. No sistema silvipastoril as vacas possuem a disposição para alimentação, além do pasto, pequenas árvores e arbustos. O objetivo do presente estudo foi investigar os principais indicadores de qualidade do leite e agentes causais de mastite em vacas criadas em sistema silvipastoril. Foram avaliadas a composição (teor de gordura, proteína, lactose, extrato seco, extrato seco desengordurado e nitrogênio ureico), contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), ocorrência de mastite clínica e subclínica, isolamento microbiológico, perfil de sensibilidade bacteriana “in vitro” e detecção de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação de micro-organismos, no leite de vacas, e do tanque de expansão e latões em propriedades do Vale do Cauca, Colômbia. Os teores médios dos principais constituintes do leite foram: 3,24% de gordura, 3,27% de proteína, 4,40% de lactose, 10,62% de extrato seco, 8,57% de extrato seco desengordurado e 15,82 mg/dL de nitrogênio ureico, enquanto do tanque de expansão e latões foi: 3,51% de gordura, 3,20% de proteína, 4,34% de lactose, 11,72% de extrato seco, 8,47% extrato seco desengordurado e 14,57 mg/dL de nitrogênio ureico. A celularidade média dos quartos mamários e do tanque de expansão e latões foram 141.252,75 CS/mL e 363.078,05 CS/mL, respectivamente. A CBT média dos quartos mamários e do tanque de expansão foram 4.466,84 UFC/mL e 24.547,01 UFC/mL respectivamente. Os principais micro-organismos isolados dos quartos mamários foram *Staphylococcus* spp. (17%), *Corynebacterium bovis* (5%), *Staphylococcus aureus* (4%), *Streptococcus* spp. (3%), *Streptococcus dysgalactiae* (2%) e *Staphylococcus hyicus* (1%),

enquanto do tanque de expansão e latões foram identificados *Streptococcus* spp. (29%), *Enterobacter cloacae* (14%), *Hafnia alveii* (14%) e *Streptococcus* α -hemolítico (14%) com maior frequência. A detecção de resíduos de antimicrobianos em leite individual das vacas e do tanque ou latão foi em 30% e 86% das amostras respectivamente. O sistema silvipastoril é uma boa alternativa para nutrição de vacas, no entanto é importante a análise de todos os parâmetros de qualidade para garantir um produto diferenciado.

Palavras-Chave: silvipastoril, bovino, CCS, CBT, resíduos de antimicrobianos.

BOLAÑOS, C.A.D. Quality milk indicators from cows bred in silvopastoral system. Botucatu, 2014. 89p. Dissertation (Master of Science in Veterinary Medicine) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

ABSTRACT

The silvopastoral system is characterized by increasing the production of milk with a greater number of cows per hectare due to the higher amount of protein in the diet. In silvopastoral system cows are fed in addition to pasture, with small trees and shrubs. The aim of present study was determinate the main indicators of milk quality and mastitis causal agents in cows bred on silvopastoral system. We evaluated the composition (fat, protein, lactose, solids, dry extract, nonfat dry and urea nitrogen), somatic cell count (SCC), total bacterial count (TBC), occurrence of clinical and subclinical mastitis, microbiological isolation, "in vitro" bacterial sensitivity profile and detection of antimicrobial/multiplication inhibitors residues in milk produced by cows raised in silvopastoral systems, as well as the bulk tank and churns in farms of Cauca Valley, Colombia. The concentration of the major constituents of milk were 3.24% fat, 3.27% protein, 4.40% lactose, 10.62% dry extract, 8.57% nonfat dry and 15.82 mg/dL urea nitrogen, while the bulk tank and churns was: 3.51% fat, 3.20% protein, 4.34% lactose, 11.72% dry extract, 8.47% nonfat dry and 14.57 mg/dL urea nitrogen. The cell count of the cows and the bulk tank were 141,252.75 CS/mL and 363,078.05 CS/mL, respectively. The TBC mean in cows and the bulk tank were 4,466.84 CFU/mL and 24.547.01 CFU/mL respectively. The main microorganisms isolated from the udder cows were *Staphylococcus* spp. (17%), *Corynebacterium bovis* (5%), *Staphylococcus aureus* (4%), *Streptococcus* spp. (3%), *Streptococcus dysgalactiae* (2%) and *Staphylococcus hyicus* (1%), while the bulk tank and churns were identified more often *Streptococcus* spp. (29%), *Enterobacter cloacae* (14%), *Hafnia alveii* (14%) and *Streptococcus* α -haemolytic (14%). Antimicrobial residues in cow milk and bulk or churn were detected in 30% and 86% respectively. The silvopastoral system is a

good alternative to cow nutrition, however is important the analysis of all quality parameters to ensure a differentiated product.

Keywords: silvopastoral, bovine, SCC, TBC, antimicrobial residues.

CAPÍTULO I

Introdução, Revisão da Literatura e Objetivos

1. INTRODUÇÃO

O leite é um dos produtos mais nobres de origem animal. É produzido pela glândula mamária das fêmeas mamíferas (mais de 4.000 espécies) para atender os requerimentos nutricionais do neonato. Possui várias funções como nutrição fornecida pelas proteínas, gordura, vitaminas e minerais, entre outros e imunidade conferida por imunoglobulinas (FOX, 2002).

Os humanos têm utilizado o leite na dieta há aproximadamente 8.000 anos. As espécies animais de maior produção de leite de interesse comercial são a bovina, bubalina, ovina e caprina. No entanto, o leite de vaca representa o 80% da produção mundial respondendo pela maioria do leite industrializado para o consumo humano (ROBINSON, 2002; THOMPSON et al., 2009).

A pecuária leiteira é uma das mais importantes atividades do agronegócio mundial devido ao valor do leite para a nutrição humana. No entanto, o setor leiteiro está exposta a variáveis econômicas, político-sociais, ambientais e culturais, fato que desafia os produtores para atender as demandas dos consumidores, no que tange à quantidade e qualidade do leite, de forma sustentável. Conseqüentemente, os criadores devem modificar e incrementar continuamente o manejo no sistema de produção com intuito de superar os desafios do mercado (RISCO; MELÉNDEZ, 2011). Com efeito, as tendências atuais para produção pecuária estimulam modelos que tenham harmonia entre os aspectos sociais, ambientais, econômicos e de bem-estar animal visando à obtenção de alimentos de qualidade e baixo custo, atendendo a sustentabilidade (RIVERA et al., 2006). Os sistemas leiteiros em países tropicais estão focados atualmente em alcançar o aumento da produtividade dos rebanhos utilizando tecnologias viáveis e com menor uso de insumos externos (HERNÁNDEZ; PONCE, 2004). Assim, o desenvolvimento de modelos alternativos de produção de leite deve priorizar a nutrição equilibrada, ordenha higiênica e condições de

manejo, que reflitam em aumento da produtividade e qualidade do leite (RISCO; MELÉNDEZ, 2011).

Para vários países da América Latina o leite é uma das principais divisas da balança comercial. Dentre estes países, para a Colômbia o constante melhoramento da qualidade do leite é uma prioridade, pois o produto contribui com 20% do PIB nacional, com total de 6.452.000 milhões de litros produzidos no ano de 2011, representando o quarto produtor da América Latina. Segundo o último censo agropecuário, a Colômbia possui 494.593 propriedades dedicadas à criação de vacas, com cerca de 23,5 milhões de cabeças, das quais 8,2 milhões são de dupla aptidão e 1,5 milhão de produção leiteira especializada (FEDEGAN, 2011). A dinâmica na produção primária encontra reflexo em inovações na alimentação e manejo do rebanho bovino, posto que a Colômbia tem adotado novas formas de criação, com a otimização dos recursos ambientais e diminuição do impacto negativo para o meio ambiente (PROEXPORT, 2011).

Na última década, uma alternativa emergente de alimentação animal é a criação de vacas no sistema silvipastoril. Este sistema é caracterizado como uma modalidade de produção pecuária, onde pequenas árvores e arbustos lenhosos, perenes são mantidos nos pastos em consórcio com gramíneas tradicionais para a alimentação de vacas (MAHECHA, 2002). O sistema silvipastoril tem sido utilizado como uma alternativa de produção sustentável, que reduz o impacto ambiental de sistemas de produção tradicionais e aumenta o rendimento de produção por unidade de área. O sistema silvipastoril se caracteriza por elevada produção de biomassa, com altos teores de proteína e de excelente qualidade para vacas de leite, utilizado como suporte nutricional aos animais, resultando em incremento substancial na produção do leite (MURGUEITIO; IBRAHIM, 2001).

Nas Américas, o sistema silvipastoril tem sido utilizado em Cuba, Costa Rica, Nicarágua, Guatemala, México, Venezuela e Colômbia (FIORAVANTE, 2012). Além de fundamental para a reabilitação e conservação da biodiversidade

das paisagens agrícolas (MURGUEITIO, 2011), o sistema silvipastoril incrementa a produção de leite e a qualidade composicional, notadamente pelo elevado teor proteico.

O Brasil produziu cerca de 32 bilhões de litros de leite no ano 2012 e é considerado o primeiro produtor de leite na América Latina e o quarto no mundo (FAO, 2011). Possui também um dos maiores rebanhos bovinos comerciais do mundo (USDA, 2010). No entanto, o sistema silvipastoril é incipiente ou praticamente inexistente no país, visto que os animais são criados principalmente a pasto, de forma extensiva. A implementação do sistema silvipastoril no Brasil poderia se constituir em uma forma alternativa de produção de leite, de baixo custo e alto rendimento, particularmente para pequenos produtores (FIORAVANTE, 2012).

Apesar do aumento da produção e melhor composição nutricional, o sistema silvipastoril - como qualquer sistema de criação de vacas - tem que garantir leite higiênico e de qualidade, prevenindo e controlando a mastite, uma das doenças com maior prejuízo na criação de vacas leiteiras (RUEGG, 2012). A profilaxia da mastite é obtida adotando preceitos de ordenha higiênica, provas de triagem como Califórnia Mastitis Test (CMT) para detecção de mastite subclínica, e a prova de caneca telada de fundo escuro para diagnóstico de mastite clínica, além do cultivo microbiológico de quartos com mastite. Outros métodos utilizados na avaliação da qualidade são fundamentados em parâmetros que indicam a sua aptidão para consumo, processamento e/ou o “status” sanitário da vaca ou rebanho produtor de leite (KELLY, 2002). Neste contexto, destacam-se, mundialmente, a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT).

A CCS pode ser aferida em nível de quarto mamário, “pool” dos quartos de uma vaca, ou do tanque de expansão e latão contendo a mistura do leite de todas as vacas do rebanho. A celularidade está intimamente associada à ocorrência de

mastite e é considerada indicador de aptidão do leite para consumo humano ou processamento industrial (KELLY, 2002), refletindo o status sanitário do úbere (LANGONI, 2000; SANTOS, 2004).

A CBT é o reflexo da contagem microbiológica do leite. A presença de bactérias no leite pode ser originada do úbere, equipamento de ordenha, ordenhador e do ambiente. A principal preocupação com relação à presença de bactérias no leite é, inquestionavelmente, a saúde do consumidor. A CBT é utilizada como parâmetro de pagamento por qualidade do leite ou de rejeição, juntamente com a CCS (NICKERSON; PHILPOT, 2000).

A detecção de resíduos de antimicrobianos é outro parâmetro para avaliação da qualidade do leite. A presença de resíduos de antimicrobianos no leite devido ao tratamento de vacas com mastite é um fato inaceitável, visto que o produto é destinado ao consumo humano. O uso de antimicrobianos é uma abordagem que deve levar em consideração a escolha correta do fármaco, concentração, via de aplicação, tempo de carência de resíduos na lactação ou no período seco, evitando o uso inapropriado e aumento da pressão seletiva para linhagens multirresistentes (OLIVER; MURINDA, 2012). A pesquisa de resíduos no leite é fundamental para a indústria, pois a presença de antimicrobianos interfere na fabricação de derivados como queijos e iogurtes (NASCIMENTO et al., 2001; VAN SCHAİK et al., 2002).

Agências internacionais como a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), Organização Mundial da Saúde (WHO) e a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) têm ressaltado a necessidade do uso racional de antimicrobianos na produção animal, minimizando a emergência de patógenos multirresistentes que possam ser veiculados de animais para os humanos (FAO; WHO; OIE, 2007).

O monitoramento da composição do leite, aspectos higiênicos de ordenha e detecção de fraudes e adulterantes do produto também é uma exigência legal em vários países da América Latina. Na Colômbia os indicadores de qualidade do leite estão estabelecidos pelos decretos 616 de 2006 e 1880 de 2011 (COLOMBIA, 2006; 2011) e no Brasil pela Instrução Normativa 62 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2011).

Em que pese o impacto do leite no agronegócio na América Latina e a importância do sistema silvipastoril em alguns países, são escassos os estudos conduzidos na avaliação dos principais componentes nutricionais do leite, na etiologia da mastite clínica ou subclínica, na CCS, a CBT, assim como da presença de resíduos de antimicrobianos em vacas mantidas neste sistema de produção (MAHECHA, 2002). No presente estudo foram revisados os principais aspectos do sistema silvipastoril, com ênfase nos indicadores de qualidade de leite.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Sistemas Silvopastoris

Nas últimas décadas, uma alternativa recomendada ao pastoreio tradicional de bovinos é o sistema silvipastoril (MURGUEITIO; IBRAHIM, 2001). Este sistema peculiar de produção combina a alimentação a pasto com folhas de plantas, como gramíneas e leguminosas herbáceas, pequenas árvores e arbustos, visando à nutrição de vacas. Em todo o mundo, o sistema silvipastoril foi desenvolvido pelos próprios produtores com base em experiências práticas, auxiliado por métodos científicos. Nas Américas, o sistema silvipastoril tem sido utilizado principalmente em Cuba, Costa Rica, Nicarágua, Guatemala, México, Venezuela e Colômbia (FIORAVANTE, 2012).

No Brasil, o uso do sistema silvipastoril é praticamente inexistente, em virtude da grande extensão territorial e disponibilidade de pastagens no país, embora possa representar uma alternativa viável para o aumento da produção de leite e lotação dos criatórios notadamente em pequenas propriedades com pastos de baixa qualidade (FIORAVANTE, 2012).

As árvores utilizadas no sistema silvipastoril podem ser originadas de vegetação natural ou plantadas com fins de corte de madeira para produtos industriais, bem como árvores frutíferas, ou árvores específicas para a produção animal. Neste tipo de sistema, a alimentação dos animais inclui árvores distribuídas nas pastagens, cercas vivas, barreiras quebra-ventos, plantações de árvores para pastoreio direto e sistemas silvipastoris intensivos (MURGUEITIO et al., 2011).

Na Colômbia, este sistema é utilizado em pastoreio de vacas em florestas naturais, em florestas para produção de madeira, pastagens em plantações de árvores para fins industriais, pastagens contendo árvores frutíferas, pequenas

árvores e/ou arbustos forrageiros. São utilizados também sistemas mistos, com árvores de corte multiuso ou arbustos, cercas vivas e bancos de forragem de pastagem de lenhosas perenes (MAHECHA, 2002).



FIGURA 1. Sistema Silvipastoril na Fazenda El Samán, Colômbia.

Fonte: Carmen A.D. Bolaños (Arquivo pessoal).

Entre as espécies arbustivas empregadas no sistema silvipastoril na Colômbia para a alimentação de vacas, com vistas ao incremento na produção e composição nos teores do leite, merecem destaque o uso das acácias (*Acacia* sp.), o nacedero (*Trichantera gigantea*), o bucare (*Erythrina poeppigiana*), leucena (*Leucaena leucocephala*), a algaroba (*Prosopis juliflora*), o chachafruto (*Eythrina edulis*), o pízamo (*Erythrina fusca*), o guacimo (*Guazuma ulmifolia*), a gliricídia (*Gliricidia sepium*), o carnavalito (*Cassia spectabilis*) e o botão de ouro (*Tithonia diversifolia*) (MAHECHA et al., 2001; MAHECHA, 2002; RIVERA et al., 2009).

A introdução de leguminosas arbóreas em pastagens permite melhorar a qualidade de forragem da pastagem associada, mantendo altos níveis de proteína no inverno, comparativamente às gramíneas forrageiras em sistemas convencionais de monocultura. Também é possível aumentar a quantidade total da forragem para os animais, dependendo do manejo realizado nas árvores e arbustos (MAHECHA, 2002).



FIGURA 2. Vaca consumindo folhas de leucena (*Leucaena leucocephala*).
Fonte: Fazenda El Hatico, Colômbia.



FIGURA 3. Vaca consumindo folhas De Acacia (*Acacia magnum*)
Fonte: <http://redpecuariasena.blogspot.com.br>

No tocante à produção de leite em sistemas silvipastoris, vários autores têm enaltecido os efeitos desse sistema no aumento da produção, bem como a influência na composição e qualidade do leite, notadamente no aumento dos teores de proteína, assim como na possibilidade de alocar maior número de animais/hectare. A título de exemplo, o sistema silvipastoril comporta de 0,8 – 4 animais/hectare no Caribe, região Andina na Colômbia e na região Pacífica no México (MURGUEITIO et al., 2011), enquanto no sistema convencional de

produção a pasto a taxa de lotação é 0,5 – 1 animal/hectare (MAHECHA, 2001, 2002; HERNÁNDEZ; PONCE, 2004; FIORAVANTE, 2012). Em estudo realizado exclusivamente em sistema silvipastoril utilizando pastoreio e árvores consorciadas com o capim estrela africana (*Cynodon plectostachyus*), como a leucena (*Leucaena leucocephala*) e a algaroba (*Prosopis juliflora*), sem suplementação de ração, foi observada produção média anual de 11 litros/vaca/dia (MAHECHA, 2002).

No Brasil, Fioravante (2012) afirmou que em sistemas de pastoreio comum, sem árvores, é possível abrigar uma vaca por hectare. Em contraste, no sistema silvipastoril sem adubação e quase sem suplementação alimentar, a lotação de pasto pode atingir até cinco animais/hectare, com produção entre 10 a 15 mil litros de leite/ano. Ademais, as árvores no sistema silvipastoril preservam as nascentes e protegem o solo da erosão. Possibilitam, também, a diminuição dos gastos com medicamentos veterinários, fertilizantes e pesticidas, além de recuperarem parte da biodiversidade original perdida com a atividade agropecuária ao atraírem aves e outros animais silvestres.

Rivera et al. (2009) investigaram os aspectos de produção, qualidade do leite, conforto animal, oferecimento de forragem no verão, uso eficiente da terra e do equilíbrio de nutrientes em vacas de leite ao compararem o sistema de produção convencional com o silvipastoril na América do Sul. Diferenças significativas foram observadas nos teores de gordura, proteína, extrato seco desengordurado, sólidos totais e produção de leite/animal/dia nos animais criados em regime silvipastoril. Estudos similares também registraram aumento na produção de leite individual e por unidade de área em vacas mantidas no sistema silvipastoril no Vale do Rio Cesar, na Colômbia, com destaque para os altos teores de gordura, proteína (URBANO et al., 2006; RIVERA et al., 2009) e sólidos totais (HERNANDEZ; PONCE, 2004; RIVERA et al., 2011).

As experiências com a produção de leite no regime silvipastoril têm mostrado efeitos tão benéficos que foram adotados por vários países com clima tropical, como Cuba, Venezuela, México, Nicarágua, entre outros, que têm observado o incremento na composição de certos teores dos constituintes do leite. Urbano et al. (2006) na Venezuela, encontraram diferenças significativas na pesagem do leite produzido em sistema silvipastoril contendo leucena (*Leucaena* spp.) consorciada com capim Guiné, quando comparado somente com capim Guiné, embora não tenham observado alterações significativas nos teores de gordura e sólidos totais.

Gonzales et al. (2002) na província de Matanzas, em Cuba, avaliaram a qualidade físico-química de leite de vacas Mambi em regime silvipastoril e encontraram incremento nos teores de gordura e sólidos não gordurosos. Em estudo similar em Cuba, Hernandez e Ponce (2004) encontraram em três rebanhos aumento marcante nos teores de proteína, gordura, sólidos não gordurosos e sólidos totais em vacas criadas no sistema silvipastoril.

A despeito dos benefícios do sistema silvipastoril em certos países, os aspectos de higiene de ordenha e saúde das vacas sempre devem ser levados em consideração visando à alta produção aliada à qualidade do leite, bem-estar dos animais e seleção genética (MARD, 2007). Apesar da intensificação da implementação do sistema silvipastoril em vários países da América Central e do Sul, como alternativa de criação de vacas de alta produção e com alta lotação dos pastos (GONZALES et al., 2002; HERNANDEZ; PONCE, 2004; URBANO et al., 2006; RIVERA et al., 2009, 2011), tem-se observado pouca preocupação com o estudo da ocorrência de mastite, tampouco com a celularidade, CBT e a presença de resíduos de antimicrobianos/substâncias inibidoras da multiplicação de micro-organismos em animais mantidos neste sistema de produção.

2.2 Qualidade do leite

A qualidade do leite envolve principalmente a composição no produto, a presença de micro-organismos e adulterações, e é influenciada diretamente pelas condições de ordenha, nutrição e manejo dos animais (MORAN, 2005).

2.3 Composição do leite bovino

Os humanos têm usado o leite na sua dieta há 8.000 anos e uma grande indústria se desenvolveu em torno da transformação do leite de algumas espécies animais para alimentação humana, especialmente o leite bovino, bubalino, ovino e caprino. O leite de vaca representa 80% da produção mundial. É considerado um dos mais nobres produtos de origem animal, cuja matéria prima possibilita a fabricação de diferentes tipos de leite e derivados (BARLOWSKA et al., 2011), incluindo cerca de 1.400 variedades de queijo (THOMPSON et al., 2009).

Entre as propriedades físicas, o leite de vaca possui densidade média de 1.032 g/mL e contém aproximadamente 87% de água. O restante é constituído por extrato seco (130 g/L), do qual grande parte (35 - 45 g/L) é gordura (LARSON, 1979).

Outros componentes importantes são divididos em orgânicos: lactose, proteínas, lipídeos, vitaminas e inorgânicos: minerais (cálcio, sódio, potássio, magnésio e cloro) (Tabela 1).

As propriedades químicas compreendem o pH (6,6 – 6,8) e a acidez, ou a quantidade de ácido láctico, que usualmente é 0,15% (LARSON, 1979).

TABELA 1. Principais constituintes do leite bovino

Componente	Proporção ou Concentração
Água	87,5%
Gordura	3,5%
Proteína	3,3%
Caseína	2,9%
Sólidos Totais	12,5%
Sólidos não gordurosos	8,9%
Lactose	4,8%
Cálcio	0,12%
Fósforo	0,09%
Vitamina A	8 ug/g
Vitamina D	15 ug/g
Vitamina E	20 ug/g

Adaptado de NICKERSON e PHILPOT (2000).

2.3.1 Gordura

A gordura do leite é formada nas células secretoras da glândula mamária quando os ácidos graxos são combinados com o glicerol e convertidos em gordura neutra, denominada triglicerídeos. Os ácidos graxos são derivados de três fontes principais representadas pela gordura corporal, gorduras alimentares e da síntese na glândula mamária. A gordura corporal corresponde a 50% dos ácidos graxos totais. Assim, o escore de condição corporal é uma importante fonte dos níveis de gordura do leite, especialmente no início da lactação (EDMONSON et al., 1989).

As gorduras alimentares são constituídas principalmente por ácidos graxos de cadeia longa. A utilização de gordura protegida (gordura tratada com trânsito inalterado pelo rúmen) pode aumentar o conteúdo de gordura do leite. Por outro lado, os ácidos graxos de cadeia curta e os ácidos poli-insaturados na dieta podem levar a diminuição no teor de gordura do leite (MORAN, 2005).

Os ácidos graxos também são sintetizados na glândula mamária a partir do acetato, o qual é absorvido como um produto da fermentação do rúmen. Dietas ricas em fibras, que promovem o aumento dos níveis de acetato no rúmen, podem gerar aumento na produção da gordura do leite (BLOWEY; EDMONSON, 2010).

Nos ruminantes domésticos com mastite, os teores de gordura do leite são reduzidos. As vacas produzem geralmente entre 3 a 5% de gordura. A redução da gordura no leite em vacas com mastite impacta negativamente a produção dos derivados lácteos, assim como reduz a qualidade nutricional e sensorial do leite, visto que a gordura está envolvida na palatabilidade e sabor do produto (GALVÃO JR et al., 2010).

2.3.2 Proteína

A maioria das proteínas do leite se apresenta sob a forma de caseína. Os aminoácidos são transportados para o úbere pela corrente sanguínea e são transformados em caseína pelas células alveolares mamárias. Uma vez formada, a caseína é secretada a partir destas células por mecanismo semelhante ao das gotículas de gordura (BLOWEY; EDMONSON, 2010).

O conteúdo energético da dieta possui maior efeito sobre o teor de caseína do leite. A proteína dietética exerce, relativamente, pouca influência sobre o conteúdo da proteína láctea. Outros tipos de proteínas presentes no leite em pequenas quantidades são a albumina e as globulinas, que são transferidas diretamente do sangue para o leite (FOX, 2002).

O leite mastítico apresenta teor de caseína reduzido, e níveis elevados de albumina e globulina. O teor da proteína total do leite mastítico pode permanecer constante, mas é um produto inferior em qualidade para a indústria, visto que a coagulação da caseína é muito importante como parte do processo produtivo de queijo e iogurte. Além disso, o leite mastítico contém níveis aumentados da

enzima plasmina, que decompõe a caseína no leite armazenado (CHAVAN et al., 2011). Ademais, a plasmina não é destruída pela pasteurização e permanece viável entre 4°C a 8°C, temperatura de armazenamento do produto, em supermercados. Portanto, o leite mastítico pode continuar a ser degradado mesmo após a pasteurização e armazenagem a 4°C, fato que justifica a política industrial de bonificação ao produtor por leite de melhor qualidade, no tocante a composição, baixa celularidade e CBT (BLOWEY; EDMONSON, 2010).

2.3.3 Extrato Seco (ES)

O extrato seco é o resíduo restante da evaporação completa da água. O extrato seco inclui proteína, gordura, lactose e matéria mineral. A quantificação do extrato seco é um parâmetro importante na avaliação dos principais componentes do leite. O nível normal do ES em vacas é 12,5% e pode estar diminuído em animais mastíticos (MOTTA, 2012; MALEK DOS REIS et al., 2013).

2.3.4 Extrato Seco Desengordurado (ESD)

O extrato seco desengordurado tem alto valor nutricional e está constituído por todos os sólidos do leite, proteínas, lactose e sais minerais, excluindo a gordura. O aumento de sólidos não gordurosos do leite favorece a obtenção de pequenos cristais de gelo por obstrução mecânica devido às propriedades hidrofílicas das proteínas. As proteínas também são importantes na produção de sorvetes mais compactos e macios, e são absolutamente indispensáveis na formação de uma emulsão estável na homogeneização da mistura, contribuindo para a nova membrana dos glóbulos de gordura (CHANDAN, 2009).

2.3.5 Lactose e pH

A glicose é produzida no fígado, primariamente a partir do propionato, produto da fermentação ruminal. Em seguida é transferida para o úbere e parte da

glicose é convertida em um açúcar simples, a galactose. Posteriormente, uma molécula de glicose se combina com uma de galactose para produzir a lactose (BLOWEY; EDMONSON, 2010).

A lactose é o principal determinante osmótico do leite. Para a manutenção do leite na mesma concentração do sangue, a lactose aumenta ou diminui na medida em que a concentração dos outros componentes varia. No entanto, o pH do leite (6,4 – 6,8) é levemente menor do que o pH sanguíneo (7,2 - 7,6). Nos animais com mastite ocorre a mistura dos componentes sanguíneos com o leite, devido à vasodilatação decorrente do processo inflamatório. Neste contexto, o pH do leite acaba se elevando (alcalinização). Este parâmetro é utilizado na prova do CMT para identificar animais com mastite subclínica, devido a presença de indicador de pH no reagente do CMT (PYÖRÄLÄ, 2003).

A diferença de pH também pode influenciar na ação de fármacos na glândula mamária, como a eritromicina, trimetoprim, tilosina e penetamato, que são soluções de pH baixo, atraídas para soluções com maior pH. Se as concentrações de lactose reduzem no úbere mastítico, os níveis de sódio e cloreto devem aumentar para manter a pressão osmótica do leite. Esta é uma das causas do sabor ligeiramente amargo e salgado do leite mastítico (KAILASAPATHY, 2009).

2.3.6 Ureia

A ureia faz parte da fração de nitrogênio não protéico (NNP) junto com a creatinina, ácido úrico e aminoácidos. A concentração do NNP varia consideravelmente no leite e possui efeito significativo na estabilidade térmica do produto. O leite normal de vaca apresenta 12 - 18 mg/dL de uréia (MOTTA, 2012). Os níveis de NNP são influenciados diretamente pela alimentação dos animais (DE CAMPENEERE et al., 2006; NOZAD et al., 2011).

2.3.7 Minerais e vitaminas

Diferentes minerais e vitaminas estão presentes no leite de vacas (Tabela 2).

TABELA 2. Concentrações de minerais e de vitaminas no leite bovino

Minerais	mg/100 mL	Vitaminas	µg/100 mL
Potássio	138	A	30,0
Cálcio	125	D	0,06
Cloro	103	E	88,0
Fósforo	96	K	17,0
Enxofre	58	B1	37,0
Magnésio	30	B2	180,0
Minerais (traços) ¹	<0,1	B6	46,0
		B12	0,42
		C	1,7

¹Inclui cobalto, cobre, ferro, manganês, molibdênio, zinco, selênio e iodo. Adaptado de FOX (2002).

2.4 Contagem de Células Somáticas (CCS)

A contagem de células somáticas é o número de células presentes no leite, utilizadas nas últimas décadas como indicador de inflamação na glândula mamária e, conseqüentemente, da qualidade do leite de vacas. As células somáticas são compostas por células inflamatórias (principalmente neutrófilos) e células epiteliais (BLOWEY; EDMONSON, 2010). No leite normal de vacas se encontra 60% de macrófagos, 25% de linfócitos e 5% de neutrófilos. Em contraste, 90% ou mais de todas as células presentes no leite de um quarto mamário infectado são representadas por células inflamatórias, especialmente neutrófilos, enquanto o restante são outras células inflamatórias e células secretoras de leite provenientes do tecido mamário (NICKERSON; PHILPOT, 2000).

A CCS pode ser avaliada em quartos individuais, do “pool” dos quartos, dos latões e, principalmente, do tanque de expansão individual ou coletivo. As células somáticas participam de processos inflamatórios causados por micro-organismos infectantes na glândula mamária através do processo de fagocitose e auxiliam na reparação do tecido secretor lesionado (NICKERSON; PHILPOT, 2000; RADOSTTIS et al., 2007).

O crescimento do comércio internacional de produtos lácteos tem impulsionado muitos países a desenvolver padrões de quantificação das células somáticas. União Europeia, Nova Zelândia e Austrália fixaram o limite de 400.000 CS/mL, o Canadá estabeleceu 500.000 CS/mL, enquanto a maioria dos estados dos EUA adota 750.000 CS/mL (NICKERSON; PHILPOT, 2000). Esta política de mercado e da indústria receptora de leite gerou o sistema de bonificação ao produtor pelo leite de baixa celularidade.

No Brasil, a Instrução Normativa 62 estabeleceu a partir de 01/01/2012 o máximo de 600.000 CS/mL (BRASIL, 2011). Em outros países da América do Sul, como na Colômbia, ainda não foi sancionada a normativa que regulamenta este parâmetro para o leite cru.

O leite com alta CCS, apresenta reflexos negativos na aceitabilidade do leite para indústria transformadora. Ademais de alterar os constituintes descritos, tem níveis reduzidos de cálcio que interferem com a coagulação no processo de fabricação do queijo, alta perda de gordura e retenção de umidade (NICKERSON; PHILPOT, 2000). O aumento nos níveis de plasmina afeta os teores de proteínas que participam na “elasticidade” no queijo mozzarella, enquanto o iogurte tem menor consistência pela baixa retenção de água. A plasmina resiste às altas temperaturas de pasteurização e continua agindo no produto final processado. A elevação da lipase aumenta a decomposição da gordura, resultando em sabor rançoso do leite (BLOWEY; EDMONSON, 2010).

2.5 Contagem Bacteriana Total (CBT)

O leite representa um meio nutritivo para a multiplicação dos micro-organismos, particularmente de bactérias (NICKERSON e PHILPOT, 2000). A CBT do leite é uma medida de contagem de multiplicação bacteriana em meios de cultura específicos, em temperatura e período de tempo, fixos. Os resultados são expressos como unidades formadoras de colônias (UFC). A contaminação bacteriana do leite é originada diretamente da vaca (pelo teto e úbere) e, indiretamente, do ambiente, equipamento de ordenhas e utensílios (BLOWEY; EDMONSON, 2010).

Na Colômbia, a resolução 012 de 2007 do Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural (MADR) estabeleceu o limite de CBT do leite de 700.000 UFC/mL (COLOMBIA, 2007). Para o Brasil, a IN-62 estabeleceu um limite de 600.000 UFC/mL para o leite de tanques de expansão (BRASIL, 2011).

2.6 Adulterantes

As condições físico-químicas do leite envolvem diversos parâmetros que devem ser avaliados para determinação da qualidade, valor nutricional, rendimento industrial e detecção de possíveis fraudes. As adulterações do leite podem ocorrer de forma intencional ou não intencional. A adulteração intencional ocorre quando os produtores adicionam compostos no leite cru (água, produtos alcalinos, formol), visando aumentar o seu volume, controlar mudanças de pH ou de constituintes no leite de baixa qualidade. As adulterações não intencionais podem ocorrer pela contaminação do leite pelo contato com produtos químicos utilizados na higienização dos equipamentos de ordenha ou de acondicionamento do leite (MORAN, 2005).

Os estudos com fraudes do leite são realizados visando detectar a presença de conservantes, neutralizantes e reconstituintes (OLIVEIRA, 2009,

FIRMINO et al., 2010), como o peróxido de hidrogênio, bicarbonato de sódio e outras substâncias que diminuem a contagem microbiana e a acidez, disfarçando as condições higiênicas de ordenha (OLIVEIRA, 2009). Com o intuito de recompor ou manter a densidade do leite cujo volume foi aumentado, substâncias chamadas de reconstituintes são adicionadas, incluindo amiláceos, cloretos, açúcares, etanol, amido modificado, dextrina e soro de leite (LISBÔA, 2009).

2.6.1 Resíduos de antimicrobianos/inibidores de multiplicação de micro-organismos

Os antimicrobianos também podem ser classificados como adulterantes quando os produtores não respeitam os períodos de carência dos antimicrobianos recomendados para o tratamento dos animais, ou utilizam produtos para vaca seca em animais lactantes (MORAN, 2005). O uso de antimicrobianos é um procedimento essencial no tratamento de doenças em animais destinados para o consumo humano. Animais sadios geram alimentos seguros. No entanto, a indústria leiteira é pressionada a justificar o uso de antimicrobianos em vacas devido aos riscos da presença de resíduos no leite. Esta preocupação decorre da possibilidade de aumentar a pressão de seleção para micro-organismos resistentes que poderiam ser veiculados aos humanos, bem como de reações indesejáveis causada em pessoas que ingerem alimentos com resíduos, como reações alérgicas, distúrbios gastrintestinais, hepáticos e anemia (ALMEIDA et al., 2003). É comum o uso de antimicrobianos no tratamento de vacas na lactação e também na profilaxia da vaca seca (RIBEIRO, 2008). Desta forma, é necessário o uso racional de antimicrobianos na mastite, evitando a presença de resíduos e da ocorrência de isolados multirresistentes (NICKERSON; PHILPOT, 2000).

Em vários países das Américas, como no Brasil (BRASIL, 2011), a legislação exige que o leite de vacas não tenha qualquer resíduo de fármacos (COLOMBIA, 2007). Na Colômbia, no entanto, são escassos os estudos sobre avaliação de resíduos no leite.

2.8 Mastite Bovina

2.8.1 Aspectos Gerais

A mastite é reconhecida como a inflamação da glândula mamária resultante de traumatismos, lesões no úbere, irritação química e, mais comumente, causada por micro-organismos (bactérias, fungos, leveduras e algas) (NICKERSON; PHILPOT, 2000). A reação inflamatória contra agentes infecciosos na glândula mamária é um mecanismo reflexo do animal para eliminar os micro-organismos, neutralizar suas toxinas e reparar os tecidos produtores de leite.

Classicamente a mastite é subdividida em clínica e subclínica, de acordo como os sinais de inflamação. Nos casos clínicos ocorrem alterações no leite (presença de pus, grumos, sangue), sinais na glândula mamária (edema, hiperemia, nódulos, abscessos, fístulas, necrose, aumento da sensibilidade à palpação) e, em alguns animais, sinais sistêmicos (febre, dispneia, taquicardia, atonia ruminal e decúbito). Nos casos subclínicos não existem sinais perceptíveis no leite, na glândula mamária, tampouco sinais sistêmicos, apesar da redução na produção do leite, do estabelecimento da inflamação e da presença de micro-organismos na glândula, assim como alterações nos componentes físico-químicos, nutricionais e na celularidade (SANTOS; FONSECA, 2007; RIBEIRO, 2008).

Os casos clínicos ocorrem em menor frequência que os subclínicos (1:20). Desta forma, faz-se necessário o uso de métodos diretos e indiretos de diagnóstico, como o teste da caneca telada, CMT, cultivo microbiológico e CCS, no intuito de avaliar o “status” de saúde da glândula mamária e a ocorrência de mastite (RIBEIRO, 2008).

2.8.2 Etiologia

A mastite bovina é subdivida quanto à etiologia em agentes contagiosos e ambientais, com base na origem dos agentes e características de transmissão (RIBEIRO, 2008).

2.8.2.1 Micro-organismos contagiosos

A mastite contagiosa é transmitida principalmente durante a ordenha pelas mãos do ordenhador, equipamentos ou utensílios (SANTOS; FONSECA, 2007).

Os micro-organismos contagiosos mais prevalentes na mastite bovina são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* e *Mycoplasma* spp. Estas bactérias se caracterizam por infecções subclínicas, de longa duração, tendendo à cronicidade nos rebanhos (NICKERSON; PHILPOT, 2000).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) possui como habitat as mucosas, a pele do úbere e tetos. É considerado o principal agente da mastite em animais domésticos (SUTRA; POUTREL, 1994; CIFRIAN et al., 1994; HEBERT et al., 2000). Nos estágios iniciais de infecção, o dano tecidual pode ser revertido. No entanto, a manutenção do micro-organismo na glândula leva a formação de microabscessos e lesões teciduais irreversíveis. As infecções por *S. aureus* induzem a elevação das CCS (>500.000 CS/mL) de forma crônica no rebanho. Devido à característica intracelular da bactéria, a produção de toxinas e outros fatores de virulência, o controle de *S. aureus* é difícil nos rebanhos, recomendando-se, por vezes, o descarte do animal (NMC, 1996).

Streptococcus agalactiae (*S. agalactiae*) tem como único reservatório o quarto mamário infectado de vacas. Pode ser isolado ocasionalmente das superfícies que tiveram contato recente com leite contaminado, como equipamento de ordenha, mãos do ordenhador e cama dos animais. Vacas infectadas apresentam redução da produção leiteira e elevação da CCS

(1.000.000 CS/mL) (NMC, 1996). HILLERTON; BERRY (2003) descreveram que um quarto infectado em rebanho de 100 animais pode elevar a contagem bacteriana no tanque além de 100.000 CS/mL. No entanto, o controle de *S. agalactiae* é possível com base em boas medidas de manejo na ordenha e tratamento com antimicrobianos.

A mastite causada pelo gênero *Mycoplasma* é caracterizada por início súbito de casos clínicos com secreção purulenta nos quartos acometidos e transmissão rápida em todo o rebanho. É marcada também pela diminuição da produção ou agalactia súbita e alta resistência aos antimicrobianos (NICKERSON; PHILPOT, 2000).

Corynebacterium bovis (*C. bovis*) produz geralmente infecções brandas com pequeno aumento das células somáticas (200.000 a 400.000 CS/mL). Alta ocorrência de *C. bovis* tem sido registrada em propriedades que não adotam o pós-*dipping*, tampouco a terapia de vaca seca (VICTÓRIA et al., 2005)

2.8.2.2 Micro-organismos ambientais

A mastite ambiental é transmitida principalmente nas ordenhas quando os tetos estão expostos ao solo, fezes ou cama dos animais (SANTOS; FONSECA, 2007).

Os principais micro-organismos causadores de mastite ambiental são *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Prototheca zopfii* e leveduras (RIBEIRO, 2008).

Os patógenos ambientais também elevam as células somáticas no tanque de expansão, embora geralmente em menor proporção que os contagiosos. No entanto, 66% da mastite causada por estreptococos ambientais e 85% por coliformes exibem manifestações clínicas. Desta forma, o prejuízo devido a este

tipo de mastite pode atingir proporções substanciais, ainda que em rebanhos com baixas CCS (<300.000 CS/mL), principalmente devido à alta incidência de mastite clínica. A mastite clínica por agentes ambientais tem sido estimada ao redor de 46% ao ano em rebanhos com CCS do tanque menores que 200.000 CS/mL (CARRILLO-CASAS; MIRANDA-MORALES, 2012).

Considerando o reduzido número de estudos em países na América Latina enfocando aspectos de qualidade do leite e da ocorrência de mastite em vacas criadas no sistema silvipastoril, e da possibilidade de adoção deste sistema como alternativa de produção para pequenos produtores, faz-se necessário estudos visando investigar os principais agentes causais de mastite clínica e subclínica, os teores dos principais componentes do leite (caseína, proteína, gordura, lactose, extrato seco total e extrato seco desengordurado), e a presença de resíduos de antimicrobianos/substâncias inibidoras da multiplicação de micro-organismos em animais mantidos no sistema silvipastoril.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Determinar os principais indicadores de qualidade do leite e os agentes causais de mastite em vacas criadas no sistema silvipastoril no Vale do Cauca, Colômbia.

3.2 Objetivos específicos

- Investigar a etiologia e a ocorrência da mastite clínica ou subclínica em vacas no sistema silvipastoril;
- Determinar a CCS e a CBT do leite dos animais;
- Avaliar os principais componentes nutricionais do leite das vacas (proteína, gordura, ureia, extrato seco total e extrato seco desengordurado);
- Detectar a presença de resíduos de antimicrobianos/substâncias inibidoras da multiplicação de micro-organismos;
- Determinar o perfil de sensibilidade “*in vitro*” dos micro-organismos frente aos principais antimicrobianos utilizados no tratamento intramamário da mastite bovina.

CAPÍTULO II

Trabalho científico

PESQUISA VETERINARIA BRASILEIRA

Instruções aos autores

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras “pesadas”), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). **Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.**

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (*page charge*) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), **Agradecimentos e REFERÊNCIAS:**

a) O **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) **Autor(es)** deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) O **ABSTRACT** deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de “INDEX TERMS” ou “TERMOS DE INDEXAÇÃO”, respectivamente.

- d) O **RESUMO** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO.
- e) A **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho.
- f) Em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local.
- g) Em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros deve ser preparado sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos.
- h) Na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los.
- i) As **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho.
- j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé.
- k) A Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfa-

eticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

- a) Os trabalhos devem ser submetidos **segundo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores” (www.pvb.com.br)**. A digitalização deve ser na fonte **Cambria, corpo 10, entrelinha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;
- b) A redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre

que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

- c) **No rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso).**

- d) Siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

- e) Citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. **Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”;** a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano;** a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exememplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007)

f) A Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada **isenta do uso de caixa alta**, com os nomes científicos em itálico (grifo), **e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. **As Figuras** (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) **originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica**. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse **caso**, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra “pé”. Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As **legendas explicativas das Figuras** conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e **serão apresentadas no final do trabalho**.

5. Os **Quadros deverão ser** explicativos por si mesmos e **colocados no final do texto**. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços

longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. **Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro;** as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

Qualidade do leite de vacas criadas no sistema silvipastoril no Vale do Cauca, Colômbia¹

Carmen A.D. Bolaños^{1,2}, José C.F. Pantoja³, Ana C. Alves³,
Rafaela M. Riseti³, Fernando J.P. Listoni⁴ e Márcio G. Ribeiro^{4*}

ABSTRACT.-Bolaños C.A.D., Pantoja J.C.F., Alves A.C., Riseti R.M., Listoni F.J.P. & Ribeiro M.G. 2013. [**Milk quality indicators from cows bred on silvopastoral system in Cauca Valley, Colombia**] Qualidade do leite de vacas criadas no sistema silvipastoril no Vale do Cauca, Colômbia. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, 18618-970. Brazil. E-mail: mgribeiro@fmvz.unesp.br

The silvopastoral system is characterized by increasing the production of milk with a greater number of cows per hectare due to the higher amount of protein in the diet. In silvopastoral system cows are fed in addition to pasture, small trees and shrubs. The aim of this study was determinate the main indicators of milk quality and mastitis causal agents in cows bred on silvopastoral system. We evaluated the composition (fat, total protein, lactose, solids, dry extract, nonfat dry and urea nitrogen), somatic cell count (SCC), total bacterial count (TBC), occurrence of clinical and subclinical mastitis, microbiological isolation, "in vitro" antimicrobial sensitivity profile and detection of antimicrobial residues/multiplication in milk produced by 100 cows raised in silvopastoral systems, as well as the bulk tank and

¹Recebido em 11 de outubro de 2013.

Aceito para publicação em 7 de janeiro de 2014.

¹Médica Veterinária Autônoma, Av. Panamericana, Carrera 13, Barrio Ciudad Jardín, Manzana D, casa 15, San Juan de Pasto, Colômbia.

² Pós-Graduandos do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, Cx. Postal 560, Botucatu, SP 18618-970, Brasil.

³ Docentes do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ-Unesp, Cx. Postal 560, Botucatu, SP 18618-970. *Autor para correspondência: mgribeiro@fmvz.unesp.br

⁵ Técnico em Laboratório do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ-Unesp, Cx. Postal 560, Botucatu, SP 18618-970.

churns in farms of Cauca Valley, Colombia. The concentration of the major constituents of milk were 3.24% fat, 3.27% total protein, 4.40% lactose, 10.62% dry extract, 8.57% nonfat dry and 15.82mg/dL urea nitrogen, while the bulk tank and churns was 3.51% fat, 3.20% total protein, 4.34% lactose, 11.72% dry extract, 8.47% nonfat dry and 14.57mg/dL urea nitrogen. The cell count of the cows and the bulk tank was 141,252.75 CS/mL and 363,078.05 CS/mL respectively. The TBC mean in cows and the bulk tank was 4,466.84 CFU/mL and 24,547.01 CFU/mL respectively. The main microorganisms isolated from the udder were *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus dysgalatiae*, while the bulk tank were identified more often *Streptococcus* spp., *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alveii*, α -hemolytic *Streptococcus* and *Streptococcus* spp. Antimicrobial residues in cow milk and bulk or churn were detected in 30% and 86% respectively. The silvopastoral system showed to be good alternative to milk production in cow. However is important the care with antimicrobial residues in milk and the analysis of all quality parameters to ensure a differentiated product.

INDEX TERMS: Silvopastoral, cattle, mastitis, SCC, TBC, antimicrobial residues.

RESUMO.- O sistema silvipastoril caracteriza-se por aumentar a produção de leite, com maior número de vacas por hectare devido ao maior aporte de proteína na dieta. Neste sistema as vacas são alimentadas, além do pasto, de pequenas árvores e arbustos. O objetivo do presente estudo foi determinar os principais indicadores de qualidade do leite e agentes causais de mastite em vacas criadas em sistema silvipastoril. Foram avaliadas a composição (teor de gordura, proteína total, lactose, extrato seco, extrato seco desengordurado e nitrogênio uréico), contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), ocorrência de mastite clínica e subclínica, isolamento microbiológico, perfil de sensibilidade bacteriana “in vitro” e detecção de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação no leite produzido por 100 vacas bem como do tanque de expansão e latões em propriedades do Vale do Cauca,

Colômbia. Os teores médios dos principais constituintes do leite foram 3,24% de gordura, 3,27% de proteína total, 4,40% de lactose, 10,62% de extrato seco, 8,57% de extrato seco desengordurado e 15,82mg/dL de nitrogênio uréico, enquanto do tanque de expansão e latões foi 3,51% de gordura, 3,20% de proteína total, 4,34% de lactose, 11,72% de extrato seco, 8,47% de extrato seco desengordurado e 14,57mg/dL de nitrogênio uréico. A celularidade média dos quartos mamários e do tanque de expansão foi 141.252,75 CS/mL e 363.078,05 CS/mL respectivamente. A CBT média dos quartos mamários e do tanque de expansão foi 4.466,84 UFC/mL e 24.547,01 UFC/mL. Os principais micro-organismos isolados dos quartos mamários foram *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus dysgalatiae*, enquanto do tanque de expansão foram identificados *Streptococcus* spp., *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alveii*, *Streptococcus* α -hemolítico e *Streptococcus* spp. A detecção de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação em leite de vacas e do tanque ou latão foi exibida em 30% e 86% das amostras, respectivamente. O sistema silvipastoril mostrou ser uma boa alternativa para produção de leite em vacas. No entanto, são necessários cuidados no tratamento mamário para evitar resíduos no leite e a análise de todos os parâmetros de qualidade para garantir um produto diferenciado.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Silvipastoril, bovino, CCS, CBT, resíduos de antimicrobianos.

INTRODUÇÃO

Na última década, o sistema silvipastoril tem se destacado como método alternativo de produção de leite de vacas adotado em alguns países das Américas. Neste sistema de produção, os animais têm à disposição para a alimentação, além do pasto, pequenas árvores e arbustos espalhados nas pastagens, que se caracterizam por conter elevado teor protéico nas folhas

(Murgueitio & Ibrahim 2001, Calle, Montagnini & Zuluaga 2007). Dentre estas árvores para produção silvipastoril, são utilizadas a Acácia (*Acacia magnum*), Aliso (*Alnus spp.*), Morera (*Morus alba*), Leucena (*Leucaena leucocephala*), Nacedero (*Trichantera gigantea*) e Gliricídia (*Gliricidia sepium*) (Mahecha 2002). O sistema silvipastoril tem sido utilizado principalmente em Cuba, Venezuela, México, Nicarágua e Colômbia. No Brasil, o uso do sistema silvipastoril é incipiente, devido principalmente à criação extensiva dos animais (Fioravante 2012).

O sistema silvipastoril representa uma alternativa de produção sustentável, que reduz o impacto ambiental dos sistemas de produção tradicionais, aumentando o número de animais por unidades de área e incrementa a dieta pelo maior aporte de proteína. Ademais, diminui o uso de fertilizantes pela fixação biológica do nitrogênio (Urbano et al. 2006, Fioravante 2012).

A maioria dos estudos com o sistema silvipastoril nas Américas tem focado nos constituintes nutricionais destas árvores e outras forrageiras fornecidas às vacas (Hernández & Ponce 2004). No entanto, número reduzido de estudos tem se preocupado como os indicadores de qualidade do leite e a ocorrência da mastite em vacas mantidas no sistema silvipastoril. Neste contexto, o presente estudo investigou os principais constituintes do leite, contagem bacteriana total, contagem de células somáticas, presença de resíduos de antimicrobianos e ocorrência de mastite no leite de vacas criadas nos sistema silvipastoril, no Vale do Cauca, Colômbia.

MATERIAL E MÉTODOS

Propriedades. O estudo foi realizado no primeiro semestre de 2013 em sete propriedades rurais do Vale do Cauca, localizado na região sudeste da Colômbia, caracterizado pela produção de leite no sistema silvipastoril. Estas propriedades possuem, em comum, a presença de árvores para pastagem direta, com espécies arbóreas como Leucena (*Leucaena leucocephala*), Algaroba (*Prosopis juliflora*),

Botão de ouro (*Tithonia diversifolia*) e Gliricídia (*Gliricidia sepium*) consorciadas com pastagens gramíneas do tipo brachiaria (*Brachiaria brizanta*) e estrela africana (*Cynodon plectostachyus*). Das sete propriedades amostradas, três possuíam Leucena, duas Botão de ouro e duas Algaroba e Gliricídia. Todas as propriedades possuíam entre 50 a 500 animais em lactação, das quais duas em regime de ordenha manual e cinco com ordenha mecânica. Todas as propriedades entregavam leite à cooperativa Cogancevalle e se encontravam em zona livre de Febre Aftosa, com vacinação, conforme mapa da Organização Mundial da Saúde Animal (OIE 2013).

Animais e coleta de material. Foram coletadas amostras de 100 vacas das raças Lucerna, Jersey, Gir, Pardo Suíço, Holandesa e animais mestiços, provenientes de propriedades em sistema silvipastoril. Os animais estavam entre primeira e sétima lactações e produção média de 18 litros/dia. A coleta de leite (15mL) foi efetuada uma única vez antes da ordenha, nas 100 vacas. Foi realizada de forma asséptica, após higienização dos tetos com iodo (1%), dispendo o material em tubos Falcon (estéreis), com tampa de rosca. Para avaliação da composição, contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), o material foi colhido em frascos apropriados contendo conservante celular de leite bronopol e azidiol, respectivamente. O mesmo processo foi realizado em amostras de leite compostas coletadas do tanque de expansão (n=5) e latões (n=2) das sete propriedades. O material foi refrigerado nas propriedades em caixas isotérmicas (4-8°C) e congelado (-20°C), no mesmo dia, visando o transporte para o Brasil, para a realização de diferentes técnicas diagnósticas. Para o transporte do leite, da Colômbia para o Brasil, foram obtidas todas as autorizações exigidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA), e do Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural da Colômbia (MADR). Após o processamento do leite nas diferentes técnicas diagnósticas, todas as amostras foram inativadas por autoclavação (120°C/30 minutos), previamente ao descarte.

Diagnóstico de mastite. O diagnóstico da mastite clínica foi realizado com base nas alterações macroscópicas do leite (presença de grumos, pus, sangue ou dessora) na prova da caneca telada de fundo escuro (Tamis), na presença de sinais clínicos de inflamação na glândula mamária (edema, hiperemia, nódulos, abscessos etc.) e/ou sinais sistêmicos nos animais (Radostits et al. 2007). A mastite subclínica foi diagnosticada utilizando o teste clássico do “California Mastitis Test” (CMT) (Schalm et al. 1971).

Isolamento e identificação dos micro-organismos. Todas as amostras de leite foram semeadas nos meios de ágar suplementado com sangue bovino (5%) desfibrinado e ágar Mac Conkey, em condições de aerobiose a 37°C, mantidas por 72 horas. Os micro-organismos foram identificados segundo as características morfo-tintoriais, bioquímicas e de cultivo (Quinn et al. 2011). Colônias bacterianas isoladas no meio de Mac Conkey foram submetidas às provas bioquímicas no meio da Escola Paulista de Medicina-EPM (glicose, gás, LTD, H₂S e urease), MILi (motilidade, indol e lisina) e Citrato, visando à identificação de enterobactérias (Trabulsi et al. 1999). Colônias no meio de ágar sangue sugestivas de estafilococos foram submetidas à coloração de Gram, prova da catalase e repicadas no Manitol Salt ágar e ágar DNASE. Estas colônias foram submetidas também à prova de coagulase em tubo, visando diferenciar os estafilococos coagulase positiva (ECP) dos estafilococos coagulase negativa (ECN). Colônias no ágar sangue sugestivas de estreptococos foram submetidas à coloração de Gram, prova de catalase e prova de CAMP visando diferenciar *Streptococcus agalactiae* de *Streptococcus dysgalactiae* (Quinn et al. 2011).

Perfil de sensibilidade microbiana “in vitro”. Os micro-organismos isolados foram submetidos à prova de sensibilidade microbiana “in vitro” pelo método de difusão com discos (CLSI/NCCLS 2006), no laboratório de diagnóstico microbiológico da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP, utilizando os principais antimicrobianos empregados na Colômbia para tratamento da mastite, a saber: amoxicilina/ácido clavulânico (30mcg), ampicilina (10mcg), cefalexina (30mcg),

cefalônio anidro (30mcg), espiramicina (100 mcg), lincomicina (2mcg), neomicina (30mcg), penicilina (10 UI) e sulfadiazina/trimetoprim (25mcg).

Contagem eletrônica de células somáticas. Todas as amostras de leite dos animais, dos tanques de expansão e latões foram colhidas em tubos apropriados de plástico, homogeneizadas com conservante celular de leite Bronopol® (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) e dispostas em caixas apropriadas, congeladas a -20°C (Barkema et al. 1997), visando à contagem eletrônica de células somáticas por citometria de fluxo, de acordo com as recomendações técnicas do equipamento (Somacount 300®)⁵. As análises de CCS foram realizadas na Clínica do Leite, ESALQ-USP/Piracicaba, SP. Na Colômbia não existe parâmetro de celularidade específico exigido pelos órgãos competentes do país. Assim, foi considerado normal o leite com ≤ 200.000 CS/mL (NMC 1987) e comparados os resultados do presente estudo com a Instrução Normativa 62 (IN-62) do Brasil (BRASIL 2011).

Contagem bacteriana total. Para avaliação da contagem bacteriana total, o material colhido foi adicionado em frasco apropriado contendo o Azidiol® (azida sódica e cloranfenicol) e imediatamente congelado até o processamento na Clínica do Leite, ESALQ-USP/Piracicaba, SP, pelo método de citometria de fluxo (PO ANA 010).

Avaliação de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação de micro-organismos. A detecção de resíduos foi realizada no leite procedente de todos os animais, e dos tanques de expansão e latões, utilizando o *kit* comercial, conforme as recomendações do fabricante (Devotest SP-NT®)⁶, indicado para o diagnóstico dos principais grupos de antimicrobianos disponíveis em medicina veterinária. As amostras foram colhidas e acondicionadas em frascos esterilizados e congeladas (-20°C) até o processamento. A detecção de resíduos

⁵ Somacount 300®, Bentley, USA.

⁶ Devotest SP-NT®: DMS Food Specialities Ingredients, The Netherlands.

por este método utiliza ampolas de meio de cultura contendo *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*. São adicionados 0,1 mL de amostra de leite no receptáculo do *kit* contendo o micro-organismo e indicador de pH, e mantidos em temperatura de $64^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ durante 3 horas, em banho-maria. Na ausência de antimicrobianos ocorre a multiplicação bacteriana, produção de ácido e alteração da cor original do indicador (de púrpura para amarelo). Na presença de resíduos de antimicrobianos a multiplicação bacteriana é retardada ou inibida, ocorrendo inibição ou acidificação pobre do meio (tonalidade púrpura a azulada).

Análise da composição do leite. A análise dos constituintes do leite (gordura, proteína total, lactose, extrato seco, extrato seco desengordurado e nitrogênio uréico) foi realizada na Clínica do Leite, ESALQ-USP/Piracicaba, SP, pelo método de infravermelho (PO ANA 009).

A CCS, CBT, análises de composição e resíduos de antimicrobianos foram realizadas, em média, um mês após a colheita do leite.

Análise estatística e tamanho amostral. O número de rebanhos incluídos no estudo foi calculado com base na média e desvio padrão da CCS do leite de tanques de expansão descrita em estudos prévios realizados na Colômbia (Calderón & Rodríguez 2008, Trujillo et al. 2010, Calderón et al. 2011). Os cálculos foram baseados em CCS média de 500.000,00 CS/mL e desvio padrão de 300.000,00 CS/mL, com margem de erro de 150.000,00 CS/mL e nível de confiança (α) de 5%. A estimativa da prevalência de mastite subclínica (unidade de análise = vaca) na população alvo (30 rebanhos da região com média de 50 animais em lactação = 1.500 animais) foi baseada em dados reportados anteriormente de propriedades Colombianas (Trujillo et al. 2010). Para estimar uma prevalência de 50%, com margem aceitável de erro de 10% (e nível de confiança de 5%), uma amostra mínima de 90 vacas foi necessária. Os cálculos do tamanho da amostra foram realizados de acordo com os métodos descritos por Dohoo, Martin & Stryhn. (2010), determinado pela fórmula:

$$N = \frac{NP(1 - P)}{\frac{d^2}{Z_{1-\alpha/2}^2} \times N - 1 + P \times (1 - P)}$$

N = tamanho da população (finita)

P = prevalência estimada na população

d = margem de erro aceitável.

Os resultados obtidos foram analisados por estatística descritiva geral no programa estatístico InfoStat®, considerando intervalos de confiança de 95% e nível de significância para valores de $P < 0,05$. Os dados de CCS, CBT e gordura foram transformados em logaritmo natural devido a desvios de um padrão Gaussiano de distribuição. Os resultados da composição do leite, CCS e CBT foram submetidos à análise de variância e o teste de Tuckey foi usado para ajustar o valor- P resultante de comparações múltiplas entre grupos. Devido à assimetria acentuada da distribuição da lactose, o teste de Kruskal Wallis foi utilizado para comparação entre os grupos (Pagano & Gauvreau 2003, Daniel 2009).

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Composição do leite

Os resultados referentes aos teores de gordura, proteína total, lactose, extrato seco (ES), extrato seco desengordurado (ESD) e nitrogênio uréico (NU) para amostras individuais e coletivas (tanque de expansão e latão) são apresentados nos Quadros 1 (análise geral dos constituintes) e Quadro 2 (segundo diferentes árvores).

Em geral, os teores da composição do leite foram encontrados dentro dos valores considerados normais para vacas (Singh & Bennett 2002). O teor de gordura, extrato seco e lactose foram menores do que os relatados em estudo similar em Havana, Cuba (Hernández & Ponce 2004) e na região de Yucatán, México (Aguilar-Pérez et al. 2001, Tinoco-Magaña et al. 2012) em vacas alimentadas com leucena (*Leucaena leucophala*). No entanto, o teor de proteína

nas vacas amostradas do presente estudo foram maiores do que o observado nos estudos supracitados. A alta quantidade de proteína no leite das vacas do presente estudo provavelmente encontra reflexo no elevado teor proteico das folhas destas árvores consumidas pelos animais em sistema silvipastoril (Philips & Sorensen 1993). O extrato seco desengordurado nos animais amostrados também foi maior do que o obtido em vacas mantidas em sistema silvipastoril na província de Matanzas, em Cuba (González, Vega & Castillo 2002). O alto teor de ESD nas vacas do presente estudo poderia ser creditado pelo conteúdo de nutrientes das folhas das árvores utilizadas no sistema silvipastoril (Aguilar-Pérez 2001).

Quando comparados os mesmos constituintes em sistemas leiteiros convencionais no estado de Minas Gerais, Brasil (Cofani dos Santos et al. 2009), se observou que as vacas no sistema silvipastoril amostradas no presente estudo apresentaram maiores valores de nitrogênio uréico. Tal resultado provavelmente encontra reflexo na elevada capacidade da Leucena, Botão de ouro, Algaroba e Gliricídia de fixar o nitrogênio no solo, elevando os teores de nitrogênio uréico no leite, à semelhança da proteína (Calle, Montagnini & Zuluaga 2007). Resultados similares foram obtidos ao avaliar os teores de gordura, proteína e lactose do leite produzido em sistema orgânico de duas propriedades do interior do estado de São Paulo (Siqueira et al. 2012).

Quadro 1. Principais constituintes do leite individual (ind) e coletivo (col) (tanques de expansão e latões) de vacas criadas no sistema silvipastoril no Vale do Cauca. Colômbia, 2013

Variável	Média/DP		Mediana		Mínimo		Máximo		LI (95%)		LS (95%)	
	Ind	Col	Ind	Col	Ind	Col	Ind	Col	Ind	Col	Ind	Col
Gordura* (%)	3,24 ± 0,27	3,51 ± 0,01	3,26	3,53	2,57	3,41	3,8	3,6	3,17	3,43	3,34	3,64
Proteína total (%)	3,27 ± 0,45	3,20 ± 0,13	3,24	3,15	2,37	3,1	4,83	3,48	3,1	2,96	3,38	3,34
Lactose (%)	4,4 ± 0,31	4,34 ± 0,09	4,47	4,34	2,84	4,21	4,92	4,47	3,64	4,21	3,66	4,47
ES (%)	10,62 ± 1,39	11,72 ± 0,54	10,4	11,8	8,09	10,84	15	12,44	9,97	11,01	10,84	12,59
ESD (%)	8,57 ± 0,51	8,47 ± 0,16	8,58	8,48	7,34	8,26	10,02	8,72	8,42	8,25	8,74	8,71
NU (mg/dl)	15,82 ± 3,24	14,57 ± 3,10	15,6	14,9	8,2	10,3	23,5	18,2	14,58	10,4	16,62	19,4

*Variável transformada em log₁₀.

Col = Coletivo,

DP = Desvio padrão

LI = Limite Inferior,

ES = Extrato Seco,

LS = Limite Superior,

ESD = Extrato Seco Desengordurado,

Ind = Individual,

NU = Nitrogênio Ureico.

Quadro 2. Análise de variância da composição do leite individual (ind) e coletivo (col) (tanques de expansão e latões) segundo diferentes árvores utilizadas no sistema silvipastoril no Vale do Cauca. Colômbia, 2013

Árvore	Gordura		Proteína total		Lactose		ES		ESD		UM	
	Ind	Col	Ind	Col	Ind	Col	Ind	Col	Ind	Col	Ind	Col
Leucena (<i>Leucaena leucocephala</i>)	3,19 ^a	3,55 ^a	3,10 ^a	3,12 ^a	3,65 ^a	4,36 ^a	10,16 ^a	11,95 ^a	8,44 ^a	8,42 ^a	14,93 ^a	13,9 ^a
Botão de ouro (<i>Tithonia diversifolia</i>)	3,4 ^b	3,55 ^a	3,21 ^a	3,16 ^a	3,63 ^a	4,34 ^a	11,19 ^b	11,95 ^a	8,44 ^a	8,43 ^a	16,88 ^b	17,3 ^a
Algaroba (<i>Prosopis juliflora</i>) e/ou Gliricídia (<i>Gliricidia sepium</i>)	3,08 ^a	3,41 ^a	3,52 ^b	3,23 ^a	3,65 ^a	4,34 ^a	10,35 ^a	11,29 ^a	8,86 ^b	8,62 ^a	15,36 ^{ab}	11,5 ^a

^{a,b} Médias com letras na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey e Kruskal Wallis (p<0,05).

Ind = Individual,

ESD = Extrato Seco Desengordurado,

Col = Coletivo,

NU = Nitrogênio Ureico.

ES = Extrato Seco,

Os teores de gordura, proteína total, extrato seco, extrato seco desengordurado e nitrogênio uréico do leite individual das vacas revelaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) segundo o tipo de árvore utilizado no sistema silvipastoril, visto que o botão de ouro (*Tithonia diversifolia*) mostrou maior influência sobre os teores destes constituintes. Mahecha et al. (2007) e Mahecha & Rosales (2005), na Colômbia, também observaram elevados teores de gordura, ES e NU em vacas no sistema silvipastoril. Estes autores atribuíram tal achado ao elevado conteúdo de carboidratos estruturais das folhas do botão de ouro, que participam na formação da gordura do leite e do conteúdo de nitrogênio total.

No presente estudo, nenhum dos teores de composição revelou diferenças significativas ($p > 0,05$) nas amostras de leite coletivo (Quadros 1 e 2). A leucena (*Leucaena leucocephala*) não exerceu influência sobre os componentes do leite nos animais amostrados em produção silvipastoril. Resultado similar foi obtido por Kakengi et al. (2001) utilizando leucena na Tanzânia, onde somente nos teores de extrato seco foram observadas diferenças significativas.

Contagem de Células Somáticas

Os valores de CCS nas amostras individuais (Quadro 3) indicaram bom *status* da saúde do úbere dos animais amostrados, acusando celularidade inferior a 200.000 CS/mL. Esta celularidade do leite é considerada normal para vacas e também é considerado o ponto de corte para determinar mastite subclínica (Dohoo & Leslie 1991). A média geométrica da CCS das vacas amostradas em produção silvipastoril foi menor do que a celularidade relatada em estudos de sistema orgânico na Suíça (Roesch et al. 2007) e no Brasil (Ribeiro et al. 2009, Siqueira et al. 2012) em sistema convencional no Brasil (Cofani dos Santos et al. 2009) e no sistema silvipastoril na Argentina (Casemiro et al. 2008). Em contraste, a CCS do leite coletivo (tanque de expansão e latões) acusou valores altos, indicando a presença nas propriedades amostradas de animais com CCS elevada que acaba incrementando os níveis de CCS do tanque de expansão ou leite coletivo (Smith

1996). Estudos realizados na Holanda confirmaram a possibilidade de congelamento do leite por até três meses, com reduzida ou nenhuma influência na celularidade tampouco CBT (Barkema et al. 1997).

Contagem Bacteriana Total

A média geométrica (Quadro 3) do leite coletivo (tanques de expansão e latões) acusou valor menor do que o limite exigido no Brasil de 600.000 UFC/mL (BRASIL, 2011) e de 700.000 UFC/mL exigido na Colômbia (Colombia, 2011). Estudos realizados no Brasil (Cofani dos Santos et al. 2009) e na Namíbia (Bille, Haradoeb & Shigweda, 2009) relataram valores de CBT menores em sistemas convencionais, embora Langoni et al. (2011) no Brasil, relataram níveis altos de CBT em sistemas orgânicos de produção. Baixa CBT indica boas práticas de ordenha e é um dos principais parâmetros avaliados na mensuração da qualidade do leite (Santos & Fonseca 2007).

Quadro 3. Valores de CCS e CBT para amostras individuais (ind) e coletivas (col) (tanques de expansão e latões) de leite de vacas produzido em sistema silvipastoril no Vale do Cauca. Colômbia, 2013

Medida	CCS (CS/mL)*		CBT (UFC/mL)*	
	Ind	Col	Ind	Col
Média	5,15 ± 0,69	5,56 ± 0,34	3,65 ± 0,34	4,36 ± 0,89
Mediana	5,14	5,66	3,6	4,04
Média geométrica	141.252,75	363.078,05	4.466,84	24.547,01
Mínimo	3,48	4,87	3,3	3,3
Máximo	6,77	5,77	4,82	5,58
LI (95%)	123.367,17	201.929,61	20.720,49	5291,76
LS (95%)	161.733,51	652.829	962,94	113.867,56

*Dados originais transformados em Log10. Ind = Individual, LI = Limite Inferior, Col = Coletivo, LS = Limite Superior.

Ocorrência e etiologia de mastite

Não foram observados animais com mastite clínica no referente estudo. Em contraste, 43% (IC = 32,9% - 52,8%) dos animais reagiram no CMT indicando alta ocorrência de mastite subclínica. A ausência de casos clínicos de mastite e a alta prevalência de mastite subclínica sugerem o predomínio de infecções por micro-organismos contagiosos nas vacas amostradas (Quadro 4). Em contraste, no leite coletivo (tanques de expansão e latões) foi observada maior prevalência de agentes ambientais, como enterobactérias e estreptococos (Quadro 4). Este último achado indica problemas de armazenamento do leite ou contaminação dos utensílios e equipamentos de ordenha, refletindo no aumento de micro-organismos ambientais neste tipo de leite (Santos & Fonseca 2007).

Embora 64% das amostras individuais não acusaram isolamento microbiano, os micro-organismos isolados como *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Streptococcus dysgalactiae* e *Staphylococcus hyicus* (Quadro 4) são indicativos de mastite contagiosa nos animais amostrados (Nickerson & Philpot 2000). Estudos realizados no Brasil em leite produzido em sistema orgânico (Ribeiro et al. 2009, Langoni et al. 2009, 2011), assim como em sistemas de produção convencional (Cardoso et al. 2000, Barbosa 2002) e na Colômbia (Calderón & Rodríguez 2008, Calderón et al. 2011), confirmaram a maior frequência dos casos de mastite subclínica por bactérias contagiosas (Santos & Fonseca 2007). O predomínio de micro-organismos contagiosos nos casos de mastite subclínica pode ser justificado pela presença destas bactérias na microbiota da pele, mucosas, úbere e tetos dos animais, favorecendo infecções via ascendente ao canal do teto. Ao invadirem o epitélio mamário, os micro-organismos contagiosos provocam estado inflamatório principalmente de forma subclínica, posto que possuem como hábitat a pele e mucosas, ao contrário dos micro-organismos ambientais, que em contato com o epitélio mamário comumente exteriorizam mastite clínica (Ribeiro 2008).

Quadro 4. Micro-organismos isolados em amostras de leite individual e coletivo produzido nos sistemas silvipastoris no Vale do Cauca. Colômbia, 2013

Micro-organismo	Individual	Coletivo
	(n=100)	(n=7)
<i>Staphylococcus</i> spp.	17	-
<i>Corynebacterium bovis</i>	5	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	-
<i>Streptococcus</i> spp.	3	29
<i>Micrococcus</i> spp.	3	-
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	2	-
<i>Staphylococcus hyicus</i>	1	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	-
<i>Hafnia alvei</i>	-	14
<i>Streptococcus</i> α -hemolítico	-	14
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	14
Negativo	64	29
TOTAL	100	100

Perfil de sensibilidade microbiana “in vitro”

Os isolados mostraram maior sensibilidade “in vitro” frente à cefalexina (100%), cefalônio anidro (100%) e amoxicilina/ácido clavulânico (90%), seguido pela sulfadiazina/trimetoprim (85%) e neomicina (80%) (Quadro 5). Em contraste, a maior resistência das linhagens foi observada para espiramicina (45%), lincomicina (40%), ampicilina (30%) e penicilina (15%). A elevada efetividade “in vitro” das cefalosporinas pode ser creditada a indicação destes fármacos para o tratamento de micro-organismos contagiosos de mastite como estreptococos e estafilococos, que predominaram no presente estudo. Em contraste, a elevada resistência “in vitro” dos isolados frente à lincomicina e espiramicina poderia encontrar justificativa no uso, há décadas, destes fármacos no tratamento

intramamário de vacas com mastite na Colômbia (Calderón et al. 2011). O uso prolongado destes fármacos poderia aumentar a pressão seletiva para linhagens multirresistentes (Ribeiro 2008). Neste contexto, a baixa eficácia “in vitro” da ampicilina e penicilina poderia ser justificada na produção de beta-lactamases pelos isolados de estafilococos - prevalentes nos animais amostrados -, resultando em linhagens resistentes a estes fármacos (Trabulsi et al. 1999, Santos & Fonseca 2007).

A presença de resistência dos isolados frente à lincomicina, espiramicina, ampicilina e penicilina, que se constituem em fármacos amplamente utilizados no tratamento da mastite bovina, reforçam a importância dos testes de sensibilidade “in vitro” previamente à instituição do tratamento de vacas com mastite, visando maximizar as taxas de cura e investigar a ocorrência de linhagens multirresistentes (Ribeiro 2008).

Quadro 5. Perfil de sensibilidade microbiana “in vitro” de micro-organismos isolados do leite de vacas, provenientes de sistema silvipastoril do Vale do Cauca. Colômbia, 2013

Antimicrobiano	Sensível		Parcialmente sensível		Resistente		Total
	N	%	N	%	N	%	
Amoxicilina/Ácido Clavulânico (30 mcg)	18	90	0	0	2	10	20
Ampicilina (10mcg)	8	40	6	30	6	30	20
Cefalexina (30 mcg)	20	100	0	0	0	0	20
Cefalônio anidro (30mcg)	20	100	0	0	0	0	20
Espiramicina (100 mcg)	2	10	9	45	9	45	20
Lincomicina (2 mcg)	0	0	12	60	8	40	20
Neomicina (30 mcg)	16	80	4	20	0	0	20
Penicilina (10 UI)	10	50	7	35	3	15	20
Sulfadiazina/Trimetoprim (25 mcg)	17	85	3	15	0	0	20

N = número, % = porcentagem.

Detecção de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação de micro-organismos

No presente estudo foi observado que 30% (IC = 28,86-39,14%) das amostras individuais de leite foram positivas para a presença de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação. Estudos similares no Brasil (Ribeiro et al. 2009) detectaram resíduos em 2,7% das amostras coletadas de vacas criadas em sistema orgânico. No leite coletivo amostrado, a presença de resíduos de antimicrobianos foi detectada em 86% dos tanques de expansão e latões. Estudos conduzidos em Trinidad & Tobago (Adesiyun et al. 2005) em amostras de leite de vacas em produção coletivo convencional, detectaram a presença de antimicrobianos em 4,2% da amostragem. A alta ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite de vacas na região amostrada na Colômbia é um achado preocupante, visto que os resíduos de fármacos podem causar reações orgânicas indesejáveis nos humanos, assim como determinam prejuízos na indústria dos laticínios (Santos & Fonseca 2007). A alta ocorrência de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação no leite é reflexo direto do uso indevido ou não racional de antimicrobianos no tratamento da mastite (Ribeiro 2008). A presença de resíduos ocorre geralmente pela inobservância da carência dos antimastíticos em animais tratados por via intramamária ou via parenteral, pelo uso de antimicrobianos de vaca seca em animais na lactação, por antecipação do período seco das vacas, ou introdução de animais em tratamento no plantel (Nickerson & Philpot 2000).

Agradecimentos.- Aos pecuaristas da cooperativa Cogancevalle por permitir a colheita das amostras. Aos médicos veterinários Andrés Sinisterra, Dario Alejandro Cedeño Quevedo, Esteban Cadena Vinuesa e ao técnico pecuário Carlos Berrio Cavalli pela colaboração no contato com os pecuaristas, auxílio no transporte e processo de coleta do material. À Dra. Sonia Abe do MAPA, Brasil, pelo auxílio nos trâmites de importação do material. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado (Proc. 146357-2).

REFERÊNCIAS

- Adesiyun A.A., Stoute S. & David B. 2005. Pre-processed bovine milk quality in Trinidad: prevalence and characteristics of bacterial pathogens and occurrence of antimicrobial residues in milk from collection centers. *Food Control*. 18:312-320.
- Aguilar-Pérez C.F., Cárdenas-Medina J.V. & Santos-Flóres J.S. 2001. Efecto de la suplementación con *Leucaena leucocephala* sobre la productividad de vacas cruzadas, bajo dos cargas de pastoreo. *Livest. Res. Rural Dev*. 4(13). Disponível em < <http://www.lrrd.org/lrrd13/4/agui134.htm> > Acesso em Jul. 31, 2013.
- Barbosa C.P., Benedetti E., Ribeiro S.C.A. & Guimarães E.C. 2002. Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “California Mastitis Test” (CMT), no diagnóstico de mastite bovina. *Bioscience Journal*. 18:93-102.
- Barkema H.W., Van Der Schans J., Schukken Y.H., De Gee A.L.W., Lam T.J.G.M. & Benedictus G. 1997. Effect of freezing on somatic cell count of quarter milk samples as determined by a fossomatic electronic cell counter. *J. Dairy Sci*. 80(2):422-426.
- Bille P.G., Haradoeb B.R. & Shigweda N. 2009. Evaluation of chemical and bacteriological quality of raw milk from Neudamm dairy farm in Namibia. *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev*. 9:1-13.
- Brasil 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 29 dez., Seção 1, p.6.

- Calderón A. & Rodríguez V.C. 2008. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosas en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyasense (Colombia). *Revta Colomb. Cienc. Pec.* 21:582-589.
- Calderón A.R., Rodríguez V.C.R., Arrieta G.B. & Máttar S.V. 2011. Prevalence of mastitis in dual purpose cattle farms in Monteria (Colombia): etiology and antibacterial susceptibility. *Revta Colomb. Cienc. Pec.* 24:19-28.
- Calle A., Montagnini F. & Zuluaga A.F. 2007. Farmer's perceptions of silvopastoral system promotion in Quindio, Colombia. *Bois For. Trop.* 29(300):79-94.
- Cardoso H.F.T., Carmo L.S. & Silva N. 2000. Detecção da toxina 1 da síndrome do choque tóxico em amostras de *S. aureus* isoladas de mastite bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 52:7-10.
- Casemiro J.R., Spanh E., De Petre A., Valenti R., Butus M., Diaz E., Duarte O., Chajud A., Rosales E. & Montiel J. 2008. Producción lechera en un sistema silvipastoril mejorado. *Ciencia, Docencia y Tecnología.* 36:215-255.
- CLSI 2006. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS). Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15.
- Cofani dos Santos L.G., De Nadai Fernandes E.A., Arruda M.B., Sarriés G.A., Blumer L. & Barbosa F.J. 2009. Chemical composition of bovine milk from Minas Gerais State, Brazil. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 282:493-496.
- Colombia 2011. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). Decreto número 1880 de 27 de mayo de 2011. Por el cual se señalan los requisitos para la comercialización de leche cruda para consumo humano directo en el territorio

nacional. Disponível em <<https://www.minagricultura.gov.co/Normatividad/Paginas/Decretos.aspx>> Acesso em Jul 31, 2013.

Daniel W.W. 2009. Bioestatics: A Foundation for Analysis in The Health Sciences. 9th ed. Wiley, Philadelphia. 956p.

Delvotest® SP 5 PACK-NT. Standard diffusion test for the detection of antibacterial substances in milk. DSM Food Specialities B.V. The Netherlands. Disponível em <www.dsm-foodspecialities.com> Acesso em Jul 31, 2013.

Dohoo I.R. & Leslie K.E. 1991. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramamary infections. *Prev. Vet. Med.* 10:225-237.

Dohoo I., Martin W. & Stryhn H. 2010. *Veterinary Epidemiologic Research*. 2nd ed. REV Inc., Charlottetown. 727p.

Fioravante C. 2012. A carne da floresta. *Pesqui. Fapesp.* 192:72-75.

González I., Vega J. & Castillo R. 2002. Estudio de la calidad físico-química de la leche entera de vaca en un sistema silvipastoril. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 1: 25-27. Disponível em < <http://www.redalyc.org/pdf/939/93911238004.pdf> > Acesso em Jul. 31, 2013.

Hernández R.R. & Ponce P.C. 2004. Efecto del silvopastoreo como sistema sostenible de explotación bovina sobre la composición de la leche. *Livest. Res. Rural Dev.* 16 (6). Disponível em <<http://www.lrrd.org/lrrd16/6/hern16043.htm> > Acesso em Jul. 31, 2013.

Kakengi A.M., Shem M.N., Mtengeti E.P. & Ostyina R. 2001. *Leucaena leucocephala* leaf meal as supplement to diet of grazing dairy cattle in semiarid Western Tanzania. *Agrofor. Syst.* 52:73-82.

- Langoni H., Sakiyama D.T.P., Guimarães F.F., Menozzi B.D. & Costa da Silva R. 2009. Aspectos citológicos e microbiológicos do leite em propriedades no sistema orgânico de produção. *Pesq. Vet. Bras.* 29:881-886.
- Langoni H., Sakiyama D.T.P., Guimarães F.F., Camossi L.G. & Vieira da Silva A. 2011. Contagem de células somáticas e de microrganismos mesófilos aeróbios em leite cru orgânico produzido em Botucatu (SP). *Vet. Zootec.* 18:653-660.
- Mahecha L. 2002. El silvopastoreo: una alternativa de producción que disminuye el impacto ambiental de la ganadería bovina. *Revta. Colomb. Cienc. Pec.* 15:226-231.
- Mahecha L. & Rosales M. 2005. Valor nutricional del follaje de botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, en la producción animal en el trópico. *Livest. Res. Rural Dev.* 17(9). Disponível em <<http://www.lrrd.org/lrrd17/9/mahe17100.htm>> Acesso em jul. 31, 2013.
- Mahecha L., Escobar J.P., Suárez J.F. & Restrepo L.F. 2007. *Tithonia diversifolia* (hemsl) Gray (Botón de oro) como suplemento forrajero de vacas. *Livest. Res. Rural Dev.* 19(2). Disponível em < <http://www.lrrd.org/lrrd19/2/mahe19016.htm> > Acesso em jul. 13, 2013.
- Murgueitio E. & Ibrahim M. 2001. Agroforestería pecuaria para la reconversión de la ganadería en Latinoamérica. *Livest. Res. Rural Dev.* 13(3). Disponível em <<http://www.lrrd.org/lrrd13/3/murg133.htm>>. Acesso em jul. 31, 2013.
- Nickerson S.C. & Philpot N. 2000. *Wining the Fight Against the Mastitis. Westfalia Surge*, Philadelphia. 295p.
- National Mastitis Council (NMC). 1987. *Current Concepts of Bovine Mastitis*, 3th ed. NMC, Madison. 33p.

- OIE 2013. OIE member countries's official FMD status map. Disponível em <<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/official-disease-status/fmd/en-fmd-carte/>> Acesso em Jan. 12, 2013.
- Pagano M. & Gauvreau K. 2003. Princípios de Bioestatística. Thomsom Learning, São Paulo. 522p.
- Philips C.J. & Sorensen J.T. 1993. Sustainability in cattle production systems. J. Agric. Environ. Ethics, 6:61–73.
- Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., FitzPatrick E.S., Fanning S. & Hartigan P.J. 2011. Veterinary Microbiology and Microbial Diseases. 2nd ed. Blackwell Science, Oxford. 1243p.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.D. 2007. Veterinary Medicine: a textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Saunders Elsevier, Philadelphia. 2156p.
- Ribeiro M.G. 2008. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia. In: ANDRADE, S.F. (Ed). Manual de Terapêutica Veterinária. 3^a. ed. Roca: São Paulo. p.759-771.
- Ribeiro M.G., Geraldo J.S., Langoni H., Lara G.H.B., Siqueira A.K., Salerno T. & Fernandes M.C. 2009. Microrganismos patogênicos, celularidade, e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. Pesq. Vet. Bras. 29:52-58.
- Roesch M., Doherr G., Schären W., Schällibaum M. & Blum J.W. 2007. Subclinical mastitis in dairy cows in Swiss organic and conventional production systems. J. Dairy Res. 74:86-92.

- Santos M.V. & Fonseca L.F.L. 2007. Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite. Manole, Barueri. 314p.
- Schalm O.W., Carrol E.J. & Jain N.C. 1971. Bovine Mastitis. Lea and Febiger, Philadelphia. 360p.
- Singh H. & Bennett R.J. 2002. Milk and milk processing, p.1-11. In: Robinson R.K. (Ed.), Dairy Microbiology Handbook. John Wiley and Sons, New York.
- Siqueira A.K., Salerno T., Lara G.H.B., Condas L.A.Z., Listoni F.J.P., Paes A.C., Silva A.V., Leite D. da S. & Ribeiro M.G. 2012. Indicadores de qualidade do leite bovino orgânico em duas propriedades leiteiras certificadas do estado de São Paulo. Comunicação Científica (Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP).
- Smith K L. 1996. Standards for somatic cells in milk: physiological and regulatory. IDF Mastitis Newsletter. 21:7-9.
- Tinoco-Magaña J.F., Aguilar-Pérez C.F., Delgado-León R., Magaña-Monforte J.G., Ku-Vera J.C. & Herrera-Camacho J. 2012. Effects of energy supplementation on productivity dual-purpose cows grazing in a silvopastoral system in the tropics. Trop. Anim. Health Prod. 44:1073-1078.
- Trabulsi L.R., Alterthun F., Gompertz O.F. & Candeias J.A.N. 1999. Microbiologia. 3ª ed. Atheneu, São Paulo. 586p.
- Trujillo C.M., Gallego A.F., Ramírez N. & Palacio L.G. 2010. Prevalence of mastitis in dairy herds in Eastern Antioquia. Revta. Colomb. Cienc. Pec. 24:11-18.
- Urbano D., Dávila C., Cañas H., Castro F. & Moreno P. 2006. Comparación del sistema silvopastoril y gramínea sobre la producción y calidad de leche en vacas

criollo limonero. Disponível em <http://www.calidad.com.mx/docs/art_31_32.pdf>
Acessado em 31 jul. 2013.

CAPÍTULO III

Conclusões e Referências Bibliográficas

4. CONCLUSÕES

- Os resultados do presente estudo apontaram para a baixa celularidade e CBT e teores normais dos componentes do leite – exceto proteína e nitrogênio ureico que se mostraram elevados -, indicando boa qualidade do leite de vacas criadas no sistema silvipastoril, apesar da alta ocorrência de mastite subclínica;
- A maior ocorrência de agentes ambientais no leite coletivo indica a necessidade de cuidados com a higiene do ambiente de ordenha, dos utensílios utilizados na prática da ordenha e com o acondicionamento do leite, enquanto a alta ocorrência de micro-organismos contagiosos sinaliza a necessidade de intensificar as ações de boas práticas de ordenha e a adoção de *pós-dipping* e terapia de vaca seca, procedimentos indicados para o controle de micro-organismos contagiosos;
- A ocorrência de resistência dos micro-organismos isolados aos antimicrobianos de uso no tratamento da mastite na região e a elevada presença de resíduos de antimicrobianos/inibidores da multiplicação de micro-organismos no leite são resultados preocupantes, reflexo do uso não racional de antimicrobianos nos animais, e devem ser motivo de esforços dos produtores silvipastoris da região, com intuito de evitar qualquer resíduo nocivo aos humanos, assegurando alta qualidade do leite produzido neste sistema alternativo de produção.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L.P.; VIEIRA, R.L.; ROSSI, D.A.; CARNEIRO, A.L.; ROCHA, M.L. Resíduos de antibióticos no leite de propriedades rurais da região de Uberlândia – MG. **Bioscience Journal**, v.19, n.3, p.83-87, 2003.

BARKEMA, H., W.; VAN DER SCHANS, J.; SCHUKKEN, Y.,H.; DE GEE, A.,L.,W.; LAM, T.J.G.M.; BENEDICTUS. Effect of freezing on somatic cell count on quarter milk samples as determined by flossomatic electronic cell counter. **Journal of Dairy Science**, n.80, p. 422-426, 1997.

BARŁOWSKA, J., M.; SZWAJKOWSKA, Z.; LITWIŃCZUK, J. KRÓL. Nutritional Value and Technological Suitability of Milk from Various Animal Species Used for Dairy Production. **Comprehensive Reviews in FoodScience and FoodSafety**, n.10, p. 291–302, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 dez. 2011, Seção 1, p.6.

BLOWEY, R.; EDMONSON, P. **Mastitis control in dairy herds**. 2.ed. United Kingdom: CAB International, 2010. 272p.

CALDERÓN, A.R.; RODRÍGUEZ, V.C.R.; ARRIETA, G.B; MÁTTAR, S.V. Prevalence of mastitis in dual purpose cattle farms in Monteria (Colombia): etiology and antibacterial susceptibility. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 24, p.19-28, 2011.

CALLE, A.; MONTAGNINI, F; ZULUAGA, A.F. Farmer's perceptions of silvopastoral system promotion in Quindio, Colombia. **Bois et forêts des tropiques**, v.29 n.300, p.79 -94, 2007.

CARRILLO-CASAS, E.M.; MIRANDA-MORALES, R.E. Bovine mastitis pathogens: prevalence and effects on somatic cell counts. In: _____. **Milk production and up to date overview of animal nutrition management and health**. Croatia: Tech Prepress, 2012. chap.17, p.359-364.

CASEMIRO, J.R; SPANH, E; DE PETRE, A; VALENTI, R; BUTUS, M; DIAZ, E; DUARTE, O; CHAJUD, A; ROSALES, E; MONTIEL, J. Produccion lechera en un sistema silvipastoril mejorado. **Ciencia, Docencia y Tecnologia**, n.36 v.19, p. 215-255, 2008.

CHAIYABUTR, N. (Ed.). **Milk production and up to date overview of animal nutrition management and health**. Croatia: Tech Prepress, 2012. 403p.

CHAVAN, R.S, CHAVAN, S. R; KHEDKAR, C. D; JANA, A. H. UHT Milk Processing and Effect of Plasmin Activity on Shelf Life: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, n.10, p. 251-268, 2011.

CHANDAN, R.C. (Ed.). **Dairy processing and quality assurance**. Oxford: Wiley Interscience, 2009. 364p.

CIFRIAN, E; GUIDRY, A.J; O'BRIEN, C.N; NICKERSON, S.C; MARQUARDT, W.W. Adherence of *Staphylococcus aureus* to cultured bovine mammary epithelial cells. **Journal of Dairy Science**, n.77, p.970–983, 1994.

COLOMBIA. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - MADR. **Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico de la cadena láctea**

Colombiana. Bogotá, D.C, 2007. p.169. Disponible em: <<http://www.minagricultura.gov.co/archivos/lacteos.pdf>>. Acceso em: 6 abr. 2012.

COLOMBIA. Ministerio de la Protección Social. **Decreto número 616 de 2006.** Por la cual se expide el reglamento técnico que debe cumplir la leche para consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercialice, expendan, importe o exporte en el país. Disponible em: <<http://www.invima.gov.co>>. Acceso em: 12 mar. 2012.

COLOMBIA. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. **Resolución número 12 de enero de 2007.** Por la cual se establece el Sistema de Pago de la Leche Cruda al Producto. Disponible em: <<http://www.minagricultura.gov.co>>. Acceso em: 8 ago. 2013.

COLOMBIA. Ministerio de La Protección Social. **Decreto número 1880 de 2011.** Por El cual se señalan los requisitos para La comercialización de la leche cruda para el consumo humano directo en el territorio nacional. Disponible em: <http://www.minagricultura.gov.co>. Acceso em: 8 ago. 2013.

DE CAMPENEERE, S; DE BRABANDER, D.L; VANACKER J.M. Milk urea concentration as affected by the roughage type offered to dairy cattle. **Livestock Science**, v.103, p.30-39, 2006.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Veterinary epidemiologic research.** 2.ed. Charlottetown: VER Inc, 2010.

EDMONSON, A.J; LEAN, I.J; WEAVER, L.D; FARVER, T; WEBSTER, G. A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO; WORLD HEALTH ORGANISATION - WHO; WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH - OIE. **Report of the Joint FAO/WHO/OIE expert meeting on critically important antimicrobials**. Rome, 2007. Disponível em: <http://www.who.int/foodborne_disease/resources/Report%20joint%20CIA%20Meeting.pdf>. Acesso em: 5 ago. 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Top Production – Milk, whole fresh cow - 2011** Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 20 Ago. 2013.

FEDEGAN. **La ganadería colombiana y las cadenas láctea y cárnica**. 2011. Disponível em: <<http://www.fedegan.org.co>>. Acesso em: 3 jun. 2013.

FERGUSON, B.G; STEWART, A.W. D; ALFARO-ARGUELLO, R; MARTIN, J.F; NAHED-TORAL, J; ÁLVAREZ-SOLÍS, D; PINTO-RUÍZ, R. Sustainability of holistic and conventional cattle ranching in the seasonally dry tropics of Chiapas, Mexico. **Agricultural systems**, v.120, p.38-48, 2013.

FIORAVANTE, C. A carne da floresta. **Pesquisa. FAPESP**, ed. 192, p.72-75, 2012.

FIRMINO, F.C; TALMA, S.V; MARTINS, M.L; LEITE, M.O; MARTINS, A.D.O. Detecção de fraudes em leite cru dos tanques de expansão da região de rio pomba, minas gerais. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v.65, n.376, p.5-11, 2010.

FOX, P.F. Milk: Introduction. In: _____. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. USA: Elsevier, 2002. p.1805–1812.

FOX, P.F. Milk: an overview. In: _____. **Milk proteins: from expression to food.** New Zeland: Elsevier, 2009. Chap.1, p.1-44.

GALVÃO JÚNIOR, J.G.B; RANGEL, A.H.N; MEDEIROS, H.R; SILVA, J.B.A; AGUIAR, E.M; MADRUGA, R.C; LIMA, J.D.M. Efeito da produção diária e da ordem de parto na composição físico-química do leite de vacas de raças zebuínas. **Acta Veterinaria Brasilica**, n.4, p. 25-30, 2010.

GONZÁLEZ, I; VEGA, J; CASTILLO, R. Estudio de la calidad físico-química de la leche entera de vaca -en un sistema silvopastoril. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v.1, n.1, p.25-27, 2002.

HERNÁNDEZ, R.R; PONCE, C.P. Efecto del silvopastoreo como sistema sostenible de explotación bovina sobre la composición de la leche. **Livestock Research for Rural Development**. n.16. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd13/3/murg133.htm>> 2004. Acesso em: 6 abr. 2012.

HEBERT, A; SAYASITH, K; SEÑECHAL, S; DUBREUIL, P; LAGACE, J. Demonstration of intracellular Staphylococcus aureus in bovine mastitis alveolar cells and macrophages isolated from naturally infected cow Milk. **FEMS Microbiology Letters**, v.193, p.57-62, 2000.

HILLERTON, J.E; BERRY, E.A. The management and treatment of environmental streptococcal mastitis. **Veterinary Clinics of North America: Food animal practice**, v.19, p.109–198, 2003.

HOGVEEN, H. (Ed.). **Mastitis in dairy production: current knowledge and future solutions.** United States: Wageningen Academic Publishers, 2005. 762p.

KAILASAPATHY, K. Chemical Composition, Physical and Functional Properties of Milk and Milk Ingredients. In: ____ **Dairy processing and quality assurance**. Oxford: Wiley-Blackwell. Chap.4, p. 75-103.

KELLY, A.L. Test methods and standars. In: _____. **Milk quality and udder health**. Philadelphia: Elsevier, 2002. p.1995-2002.

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**, v.3, n.3, p. 57–64, 2000.

LARSON, B.L. Byosínthesis and secretion of milk proteins: a review. **Journal of Dairy Research**, v. 46 n. 2, p. 161-174, 1979.

LISBÔA, T.A. **Entrevista com Celso Velloso**: As ações do Ministério para o combate à fraude de leite no Brasil. 2009. Disponível em:
<<http://www.laticinio.net/noticias.asp?cod=735>>. Acesso em: 15. Ago. 2013.

MAHECHA, L. El silvopastoreo: una alternativa de producción que disminuye el impacto ambiental de la ganadería bovina. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.15, n.2, p.226-231, 2002.

MAHECHA, L.; DURÁN, C.V.; ROSALES, M.; MOLINA, C.H. Grazing, browsing time and milk production of Lucerna cows in a silvopastoral system in different seasons of the year. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SILVOPASTORAL SYSTEMS, CONGRESS ON AGROFORESTRY AND LIVESTOCK PRODUCTION IN LATIN AMERICA, 2001, **San José de Costa Rica, CATIE**, 2001.

MALEK DOS REIS, C.B; BARREIRO, J.R; MESTIERI, L; PORCIONATO, M.A.F; SANTOS, M.V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. **BMC Veterinary Research**, v.9, n.67 p. 2-7, 2013.

MORAN, J. (Ed.). **Tropical dairy farming**: feeding management for small holders dairy farmers in the humids tropics. Victoria: Land Links, 2005. 313p.

MOTTA, R.G. **Principais indicadores de qualidade, composição e presença de micro-organismos, em amostras de leite de vacas obtidas de tanque de expansão individual, coletivo e leite informal, provenientes de rebanhos da região sudeste do estado de São Paulo**. 2012. 168p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

MURGUEITIO, E; CALLE, Z; URIBE, F; CALLE, A; SOLORIO, B. Native trees and shrubs for the productive rehabilitation of tropical cattle ranching lands. **Forest Ecology and Management**, v.261, p.1654-1663, 2011.

MURGUEITIO, E; IBRAHIM, M. Agroforestería pecuaria para la reconversión de la ganadería en Latinoamérica. **Livestock Research for Rural Development**., n.13, 2001. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd13/3/murg133.htm>>. Acesso em: 31 jul. 2013.

NASCIMENTO, G.G.F; MAESTRO, V; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição**, v.14, n.2, p.119-129, 2001.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Current concepts of bovine mastitis**, 3.ed. NMC: Madison, 1987. 33p.

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

NICKERSON, S.C.; PHILPOT, W.N. **Ganando la lucha contra la mastitis**. Philadelphia: Westfalia Surge, 2000. 205p.

NOZAD, S.; RAMIN, AG.; MOGHADAM, G.,H.; ASRI-REZAEI, S.; BABAPOUR, A. Diurnal variations in milk urea, protein and lactose concentrations in holstein dairy cows. **Acta Veterinaria (Beograd)**, v. 61, n. 1, p.3-11, 2011.

OLIVER, S.P; MURINDA, S.E. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. In: **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v.28, p.165-185, 2012.

OLIVEIRA, M.C. **MPF/MG: operação ouro branco desarticula organizações criminosas que adulteravam leite.** 2009. Disponível em: <<http://www.pgr.mpf.gov.br/noticias/noticias-dosite/criminal/operacao-ouro-branco-desarticulaorganizacaoes-criminosas-que-adulteravam-leitenos-municipios-mineiros-de-uberaba-e-passos>>. Acesso em: 15. Ago. 2013.

PROEXPORT COLOMBIA. **Sector lácteo en Colombia.** 2011. Disponível em: <<http://www.proexport.com.co>>. Acesso em: 3. jun. 2013.

PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, v.34, p.565-578, 2003.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; LEONARD, F.C.; FITZPATRICK, E.S.; FANNING, S.; HARTIGAN, P.J. **Veterinary microbiology and microbial diseases.** 2.ed. Oxford: Blackwell Science, 2011. 1243p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary medicine: a textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats.** Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. 2156p.

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

RISCO, C.; MELENDEZ, P. (Ed.). **Dairy production medicine**. Philadelphia: Wiley Blackwell, 2011. 365p.

ROBINSON, R.K. (Ed.). **Dairy microbiology handbook: the microbiology of the milk and milk products**. 3.ed. Philadelphia: Wiley Interscience, 2002. 780p.

RIVERA, J.; CUARTAS, C.; NARANJO, J.; BARAHONA, R. Comparación del comportamiento productivo y calidad de la leche en vacas bajo un sistema silvopastoril intensivo y un sistema de producción convencional en el valle del Río Cesar. Resúmenes X Encuentro Nacional III Internacional de Investigadores de las Ciencias Pecuarias - ENICIP, Medellín, Colombia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.22, n.3, p.509-548, 2009.

RIVERA, J.E; CUARTAS, C.A; NARANJO, J.F; CÓRDOBA, C.P; RESTREPO,E.M; ROSALES R.B; **Estimación de la producción y calidad de leche bovina bajo sistemas silvopastoriles intensivos con *leucaena leucocephala* y pasturas sin árboles en el caribe seco colombiano**. 2011. disponível em: <<http://www.cipav.org.co>>. Acesso em: 1 out. 2012.

RUEGG, P. Managing Mastitis and Producing Quality Milk. In: **Dairy Production Medicine**. Philadelphia: Wiley Blackwell, 2011. p207. 2012.

SANTOS, M.V. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das células somáticas. In: **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibiótico**. Juiz de Fora, v.1, p.139-149, 2004.

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

SCHALM, O.W.; CARROL, E.J.; JAIN, N.C. **Bovine Mastitis**. Philadelphia: Lea and Febiger, 1971. 360p.

SMITH, K L. Standards for somatic cells in milk: physiological and regulatory. **IDF Mastitis Newsletter**, n.21, p.7-9. 1996.

SUTRA, L; POUTREL, B. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. **Journal of Medical Microbiology**, v.40, p.79–89, 1994.

THOMPSON, A; BOLAND, M; SINGH, H. (Ed.). **Milk proteins expression to food**. New Zealand: Elsevier, 2009. 561p.

TRUJILLO, C.M.; RAMÍREZ, N.; PALACIO, L.G.; GALLEGO, A.F, Prevalence of mastitis in dairy herds in Eastern Antioquia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.24, p.11-18, 2010.

URBANO, D. **Comparación del sistema silvopastoril y gramínea sobre la producción y calidad de leche en vacas criollo limonero**. 2006. Disponível em: <http://www.calidad.com.mx/docs/art_31_32.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Dairy – World Markets and Trades**. Disponível em: <<http://www.usda.gov>>. 2010. Acesso em: 05. jul. 2013.

VAN SHAIK, G; LOTEM, M; SCHUKKEN, Y.H. Trends in somatic cell counts, bacterial counts and antibiotic residue violations in New York State during 1999-2000. **Journal of Dairy Science**, v85, p.782-789, 2002.

VICTÓRIA, C; VIERIA da SILVA, A; ELIAS, A.O; LANGONI, H. *Corynebacterium bovis* e os padrões de contagem de células somáticas no Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.8, n.2, p.161-164, 2005.