

Guilherme Nunes de Souza

## **FATORES DE RISCO PARA MASTITE BOVINA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais,  
Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção  
de grau de Doutor em Ciência Animal

Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva e  
Epidemiologia

Orientador: Prof. Élvio Carlos Moreira

**Belo Horizonte**  
**Escola de Veterinária - UFMG**  
**2005**

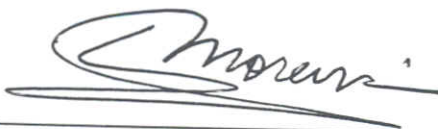
**S729fa Souza, Guilherme Nunes de, 1972-**  
**Fatores de risco para mastite bovina / Guilherme Nunes de Souza. 2005.**  
**88 p. :il.**

**Orientador: Élvio Carlos Moreira**  
**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais,**  
**Escola de Veterinária**  
**Inclui bibliografia**

**1. Vaca – Doenças – Teses. 2. Mastite – Controle – Teses.**  
**3. Mastite – Prevenção – Teses. 4. Leite – Análise – Teses.**  
**I. Moreira, Élvio Carlos. II. Universidade Federal de Minas Gerais.**  
**Escola de Veterinária. III. Título.**

**CDD – 636.208 692**

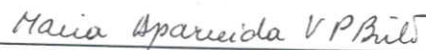
Tese defendida e aprovada em 14 de janeiro de 2005, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Dr. Elvio Carlos Moreira  
(Orientador)



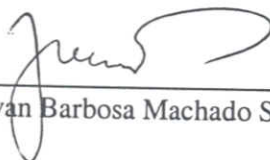
Dr. José Renaldi Feitosa Brito  
(Co-orientador)



Dra. Maria Aparecida Vasconcelos Paiva Brito



Prof. Dr. José Ailton da Silva



Prof. Dr. Ivan Barbosa Machado Sampaio

*Aos meus pais, Adeel e Myrian,  
por tudo que sou, e principalmente por  
sempre me darem apoio, carinho e amor.*

*Sem vocês, eu não seria nada. A minha vitória  
somente foi possível pois meu maior exemplo de vida são vocês.*

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, por tudo.

Ao povo brasileiro, pela força de gerar riquezas e conhecimentos.

Aos meus irmãos, Marcelo e Fernanda, por toda ajuda e compreensão ao longo dos anos.

Ao meu filho, Matheus, pela privação dos momentos necessários para conclusão do curso, certo de que juntos no futuro colheremos os frutos desta vitória.

À minha namorada, Fúlvia, presente em todos momentos, com seu carinho, companheirismo, compreensão e acima de tudo muito amor foi possível seguir e chegar ao fim desta caminhada.

À Escola de Veterinária da UFMG, pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação e formação profissional.

À Embrapa Gado de Leite, pela oportunidade de aprendizado, formação e realização profissional.

Ao CNPq, pela bolsa de estudo concedida.

Ao Banco Mundial, EMBRAPA e CNPq, pelo recurso financeiro disponibilizado para a condução do projeto.

Ao Professor Élvio Carlos Moreira do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG, exemplo de Mestre e grande incentivador, responsável direto pela minha formação profissional.

Ao Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, José Renaldi Feitosa Brito, pela paciência, confiança e orientação durante estes anos.

À Pesquisadora da Embrapa Gado de Leite, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito, pela dedicação a pesquisa e atenção dispensada.

Ao Professor Walter Lilenbaum do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense, meu primeiro mestre na carreira científica, graças ao seus ensinamentos e oportunidade oferecida pude chegar onde estou.

Ao Professor Ronaldo Rocha Bastos do Departamento de Estatística da Universidade Federal de Juiz de Fora, obrigado pela paciência e orientação na monografia do curso de Especialização em Métodos Estatísticos Computacionais, o que me permitiu a aplicar métodos multivariados e quantitativos neste trabalho.

Ao Éder Sebastião dos Reis da Embrapa Gado de Leite, exemplo de dedicação à empresa e amor ao trabalho, por tornar viável a coleta das amostras no campo.

Ao Armando da Costa Carvalho, do Campo Experimental de Coronel Pacheco, obrigado pela atenção e boa vontade em passar seu conhecimento e experiência sobre equipamentos de ordenha, seu ensinamento foi muito importante na condução deste trabalho.

Ao Marcos Aurélio Souto Silva, do Laboratório de Microbiologia do Leite da Embrapa Gado de Leite, pelo auxílio na execução dos exames microbiológicos.

Ao Luiz Ricardo da Costa do Laboratório de Qualidade do Leite Prof. José de Alencar, Embrapa Gado de Leite, pela análise das amostras de leite.

Ao Marcos Vinícius Barbosa Silva, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Às funcionárias da Biblioteca da Embrapa Gado de Leite, Inês Maria Rodrigues e Margarida Maria Ambrósio, pelo auxílio.

Aos estagiários que passaram pelos Laboratórios de Microbiologia do Leite e de Qualidade do Leite, Embrapa Gado de Leite, pela colaboração na execução de várias atividades relacionadas ao trabalho.

Aos funcionários do Colegiado de Pós Graduação e do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG, Nilda, Luciene, Mirli, Eliana, Jorge, Renata e Luciana pela boa vontade em atender e ajudar.

Aos amigos e colegas da pós-graduação, pela agradável convivência e companheirismo, pelo carinho, estímulo e apoio incondicional.

Enfim, certo de que só não teria a mínima chance, a todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho desde sua concepção até a sua conclusão,

do fundo do coração,  
muito obrigado.

---

*"A ciência generosamente nos introduz na vida de nosso país".*

Ivan Pavlov

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>RESUMO</b> .....	13
<b>ABSTRACT</b> .....	13
1. <b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	14
2. <b>LITERATURA CONSULTADA</b> .....	15
2.1. Epidemiologia e classificação dos agentes da mastite .....	15
2.2. Importância econômica .....	16
2.3. Contagem de células somáticas .....	16
2.4. Patógenos primários .....	18
2.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
2.4.2. <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	19
2.4.3. <i>Streptococcus</i> spp. que não <i>S. agalactiae</i> .....	20
2.4.3.1 <i>Streptococcus dysgalactiae</i> .....	20
2.4.3.2 <i>Streptococcus uberis</i> .....	20
2.5. Patógenos secundários .....	21
2.5.1. <i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativo e <i>Corynebacterium</i> spp. ....	21
2.6. Programa de controle e prevenção de mastite .....	21
2.7. Estudo sobre fatores de risco .....	23
3. <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	23

### CAPÍTULO 1

#### Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas no leite do tanque em rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil.

<b>RESUMO</b> .....	30
<b>ABSTRACT</b> .....	30
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	31
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>CONCLUSÕES</b> .....	40
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	40

### CAPÍTULO 2

#### Fontes de variação da contagem de células somáticas em vacas

<b>RESUMO</b> .....	42
<b>ABSTRACT</b> .....	42
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	43

<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	43
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	46
<b>CONCLUSÃO</b> .....	51
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	51

---

**CAPÍTULO 3**

---

**Fatores de risco para mastite subclínica em rebanhos bovinos  
localizados nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais**

<b>RESUMO</b> .....	53
<b>ABSTRACT</b> .....	53
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	54
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	54
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	62
<b>CONCLUSÕES</b> .....	70
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	72
<b>ANEXOS</b> .....	75

---

**LISTA DE TABELAS**

---

**CAPÍTULO 1**

---

Tabela 1.	Rebanhos selecionados, rejeitados e utilizados no modelo final de regressão logística de acordo com as situações estudadas .....	33
Tabela 2.	Freqüências das variáveis qualitativas e quantitativas relacionadas às características dos rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil .....	34
Tabela 3.	Freqüências das variáveis qualitativas e quantitativas relacionadas aos procedimentos de manejo e cuidados higiênicos durante a ordenha dos rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil .....	35
Tabela 4.	Freqüências das variáveis qualitativas relacionadas aos procedimentos de higienização e idade do equipamento de ordenha dos rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil .....	36
Tabela 5.	Freqüências e médias da CCSLT de acordo com as variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística para análise de rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil .....	37
Tabela 6.	Freqüências e médias da CCSLT de acordo com as variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística para rebanhos bovinos leiteiros com equipamento de ordenha da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil .....	38
Tabela 7.	Freqüência e médias da CCSLT de acordo com as variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística para rebanhos bovinos leiteiros sem equipamento de ordenha da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil .....	39
Tabela 8.	Freqüências e médias da CCSLT de acordo com as variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística para rebanhos bovinos leiteiros classificados de acordo com análise de conglomerados da Zona da Mata de Minas Gerais .....	39
Tabela 9.	Nível de significância (p) dos modelos finais de regressão logística, valores de Odds Ratio (OR) e nível de significância (p) para variáveis utilizadas nos modelos de acordo com as situações estudadas .....	40

---

**CAPÍTULO 2**

---

Tabela 1.	Variação da CCS (x1.000/ml) de acordo com a presença de infecção intramamária, presença de infecção mista, tipo de infecção mista e tipo de agente etiológico .....	47
Tabela 2.	Análise de variância da CCS de animais classificados como não infectados com base no exame bacteriológico .....	48
Tabela 3.	Análise de variância da CCS de animais classificados como infectados com base no exame bacteriológico .....	49
Tabela 4.	Análise de variância da CCS de animais classificados como infectados de acordo com o agente com base no exame bacteriológico .....	49
Tabela 5.	Médias do EL da CCS de acordo com a ordem de parto e presença de infecção .....	50

---

**CAPÍTULO 3**

---

Tabela 1.	Distribuição de freqüência entre os grupos de acordo com a presença de infecção intramamária e agentes envolvidos na infecção .....	63
Tabela 2.	Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> como variável dependente .....	64
Tabela 3.	Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de <i>Streptococcus agalactiae</i> como variável dependente .....	65
Tabela 4.	Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de <i>Staphylococcus</i> sp. coagulase negativo como variável dependente .....	65
Tabela 5.	Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de <i>Corynebacterium</i> sp. como variável dependente .....	66
Tabela 6.	Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de <i>Streptococcus</i> sp. que não <i>S. agalactiae</i> como variável dependente .....	66

---

**LISTA DE QUADROS**

---

---

**CAPÍTULO 2**

---

Quadro 1.	Relação entre escore linear e contagem de células somática usada para análise de variância (ANOVA) .....	45
-----------	--	----

---

**CAPÍTULO 3**

---

Quadro 1.	Variáveis dependentes e respostas usadas nos modelos finais de regressão logística de acordo com os patógenos da mastite .....	60
Quadro 2.	Variáveis independentes, significados e respostas usadas nos modelos finais de regressão logística para avaliar fatores de risco associados aos patógenos da mastite .....	61

---

**LISTA DE FIGURAS**

---

---

**CAPÍTULO 3**

---

Figura 1.	Distribuição espacial dos rebanhos amostrados de acordo como os municípios dos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, 2000/2003.....	56
Figura 2.	Representação gráfica da análise de correspondência para avaliar associações entre o tipo de agente isolado e a CCS do rebanho .....	71
Figura 3.	Representação gráfica da análise de correspondência para avaliar associações entre o tipo de agente isolado e ordem de parto .....	71

---

**LISTA DE ANEXOS**

---

Anexo 1.	Questionário 1 .....	75
Anexo 2.	Questionário 2 .....	77
Anexo 3.	Questionário 3 .....	83

---

## RESUMO

Avaliaram-se fontes de variação para a contagem de células somáticas (CCS) em vacas e possíveis fatores de risco para mastite. Foram utilizadas informações sobre o manejo de 175 rebanhos e seus respectivos históricos de CCS e de 3.987 amostras de leite de 2.657 vacas oriundas de 24 rebanhos localizados nos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais durante o período de junho de 2000 a julho de 2003. As amostras de leite dos animais foram usadas para CCS e identificação de agentes da mastite. A CCS foi realizada por meio de citometria de fluxo em equipamento automatizado e o isolamento e identificação das bactérias em placas de ágar sangue e testes bioquímicos. No primeiro experimento avaliaram-se fatores associados a elevação da CCS de rebanhos e a de adoção de procedimentos relacionados ao controle e prevenção da mastite. Foram identificados fatores de risco relacionados ao manejo do rebanho e observada grande variação na adoção de procedimentos relacionados ao controle e prevenção da mastite. No segundo experimento foram avaliadas fontes de variação da CCS de vacas. Foi observado que o efeito de animal dentro de rebanho foi maior que o efeito de rebanho na variação da CCS. A presença de infecção intramamária foi determinante no aumento da CCS e foi observado efeito específico dos agentes da mastite sobre a CCS. O terceiro experimento teve como objetivo identificar fatores de risco para mastite subclínica de acordo com a bactéria isolada. A maioria dos fatores de risco identificada no estudo foi relacionada ao manejo do rebanho.

Palavras-chave: mastite bovina, contagem de células somáticas, fatores de risco

## ABSTRACT

Variation sources for somatic cell count (SCC) in dairy cows and possible risk factors to mastitis were evaluated. Information about 175 dairy herds with their respective SCC and 3.987 milk samples from 2.657 dairy cows in 24 dairy herds located at Rio de Janeiro and Minas Gerais States during from June of 2000 to July of 2003. were used. The animal milk samples were used to SCC and identification of mastitis pathogens. The SCC was analyzed in electronic equipment and the identification of bacteria on blood agar plate and biochemistry test. In the first experiment was evaluated factors associated with herds SCC and the adoption of procedures associated with the control and prevention of mastitis. Risk factors associated with herd management and wide variation of adopted procedures were observed. In the second experiment, variation sources of SCC were evaluated. The effect of animal within herd was higher than the effect of herd on SCC variation. Intramammary infection was predominant in SCC increase. Specific effect of mastitis agents on SCC was observed. The third experiment had the objective to identify risk factors to subclinical mastitis according to isolated bacterias. Almost of the risk factors identified was associated with herd management

Key words: bovine mastitis, somatic cell count, risk factors

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A produção de leite no Brasil aumentou significativamente nos últimos anos. Neste período, houve aumento de aproximadamente 33%, passando de 14.484 milhões em 1990 para 21.644 milhões de litros produzidos em 2002 (Brasil, 2004).

O crescimento da produção leiteira pode ser conseguido em curto prazo na maioria dos países que sejam capazes de implementar uma política de incentivo econômico aos produtores. Existem conhecimento e disponibilidade de insumos para alimentação, nutrição, equipamentos modernos de ordenha, quimioterápicos e vacinas eficazes no controle e erradicação de doenças que interferem na produtividade e produção da vaca leiteira. A parte difícil que todos os países passaram ou passam é conseguir em curto prazo melhorar a qualidade do leite. A participação de múltiplos fatores determinantes que vão do nível de escolaridade do produtor, das raças ou linhagens selecionadas para leite, das relações trabalhistas no campo, prevalência de agentes infecciosos e das formas de organização da produção, da ordenha até a usina de processamento interferem na qualidade do leite. Entre todos estes fatores os pesquisadores e produtores consideram as mastites como sendo uma das principais causas de redução da qualidade e adoção de medidas para sua prevenção e controle podem ser eficazes em curto prazo.

No Brasil há diversos sistemas de produção de leite que atende à pluralidade de regiões, raças bovinas, evolução histórica vinculada a formação e ao desenvolvimento agrário e urbano. O processo rápido de urbanização a partir da década de 70 inverteu a proporção de habitantes nas cidades. O Censo Demográfico de 2000, realizado pelo IBGE registrou em torno de 80% dos 185.000.000 de brasileiros vivendo nas cidades. Este mercado estimulou a produção nacional, que rapidamente ultrapassou a produção de 20 bilhões de litros de leite/ano. No momento, a prioridade é melhorar a

qualidade do leite. Entre as alternativas consideradas viáveis, o Brasil optou em implantar um programa para avaliar a qualidade do leite nacional. Assim foi criada uma estrutura laboratorial nacional capaz de processar grande número de amostras nas principais regiões produtoras. Dentre as análises realizadas pelos laboratórios, ressalta-se a contagem de células somáticas (CCS), usada como indicador da saúde da glândula mamária do rebanho. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento estabeleceu limite de 1.000.000 células/ml para CCS de rebanhos (Brasil, 2002) que passará a vigorar a partir de julho de 2005 nas Regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul. Esta meta tem condições de ser alcançada em curto prazo nas áreas onde estão localizados os produtores organizados de forma empresarial. Nestas propriedades, a assistência técnica especializada faz parte dos insumos imprescindíveis da produção. As outras fazendas, ainda em estágios inferiores de organização, terão de se ajustar para não serem excluídas do mercado. Recentemente, Brito et al. (2003), analisaram 35.607 amostras de leite de rebanhos localizados nos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo, de 2000 a 2002, e 3.228 (9%) apresentaram valores da CCS acima do limite estabelecido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Para atender os limites de CCS estabelecidos, há a necessidade de se adotar um programa de controle e prevenção de mastite nos rebanhos leiteiros. Este programa visa principalmente a redução do número de novos casos de mastite, diminuição da duração e eliminação das infecções intramamárias existentes no rebanho (Dodd e Jackson, 1971). O "plano do cinco pontos" foi introduzido na década de 60 no Reino Unido e foi observada significativa redução nos índices de mastite e CCS nos rebanhos destes países (Bradley, 2002). O plano enfoca a rápida identificação e tratamento dos casos clínicos, terapia da vaca seca em todos os animais, desinfecção dos tetos após a

ordenha, descarte de animais cronicamente infectados e rotina de manutenção do equipamento de ordenha. Neste contexto, a adoção adequada de procedimentos relacionados ao programa de controle e prevenção de mastite assume um papel importante na pecuária leiteira nacional, por se tratar de uma doença endêmica nos rebanhos leiteiros e responsáveis por grandes perdas econômicas para o produtor e indústria. O impacto da implementação de estratégias de controle da mastite, em particular o "plano dos cinco pontos", tem sido muito bem sucedido em controlar agentes contagiosos, principalmente *S. aureus* e *S. agalactiae*. Com a redução dos casos de mastite causados pelos microrganismos contagiosos, os ambientais começaram a ter maior importância, como demonstrado na revisão feita por Leigh (1999). Em estudos comparativos entre rebanhos com baixas e altas CCS, naqueles que tiveram os agentes contagiosos controlados, 80% das mastites foram devido aos patógenos ambientais (Bradley, 2002).

Por meio de estudos epidemiológicos explicativos observacionais é possível identificar e quantificar fatores determinantes para ocorrência de mastite. A investigação de associações entre mastite e possíveis fatores de risco pode ser uma ferramenta para direcionar e priorizar estratégias para redução dos níveis da enfermidade no rebanho e conseqüentemente da CCS. Os fatores de risco para mastite podem estar associados ao animal, agente infeccioso, meio ambiente e especialmente manejo.

Pelo exposto, verifica-se a necessidade da implantação de um programa de controle e prevenção de mastite para que os rebanhos tenham índices de mastite aceitáveis e conseqüentemente possam atender no futuro os limites estabelecidos na legislação brasileira. Estudos que visam a identificação de fatores de risco para mastite são amplamente encontrados em países com pecuária leiteira desenvolvida. Os pesquisadores brasileiros têm contribuído com trabalhos que conseguiram identificar as múltiplas causas de mastites. A lacuna a ser preenchida está na ausência de

pesquisas que procuram quantificar o peso de cada condição, isolada ou em conjunto, responsável pela doença. Este trabalho tem os seguintes objetivos:

- Identificar os procedimentos adotados no controle e prevenção de mastite.
- Identificar fatores de risco para altas contagens de células somáticas no rebanho.
- Determinar os fatores que influenciam a CCS de vacas.
- Identificar fatores de risco para mastite subclínica em rebanhos bovinos ordenhados mecanicamente.

## 2. LITERATURA CONSULTADA

### 2.1. Epidemiologia e classificação dos agentes da mastite

Dois padrões distintos são reconhecidos na epidemiologia da mastite (Bramley e Dodd, 1984; Schukken e Kremer, 1996; Bradley, 2002). O primeiro padrão é contagioso e a transmissão dos microrganismos de vaca para vaca é essencial para a propagação da doença. Este padrão envolve a transmissão da doença de um animal infectado para um susceptível e os principais patógenos envolvidos são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Mycoplasma bovis* e *Corynebacterium bovis* (Bramley e Dodd, 1984; Elvinger e Natzke, 1992).

O segundo padrão é de caráter ambiental sendo que microrganismos oportunistas e fatores relacionados ao ambiente e ao indivíduo colocam o animal em risco (Schukken e Kremer, 1996). Neste caso, há forte interação entre microrganismos, hospedeiro e meio ambiente. Este triângulo epidemiológico deve ser lembrado na solução de problemas no rebanho causados por patógenos ambientais da mastite. Os principais patógenos responsáveis por esse padrão são *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*

coagulase negativo, fungos e leveduras (Bramley e Dodd, 1984; Elvinger e Natzke, 1992; Leigh, 1999).

As bactérias responsáveis pela mastite podem ser classificadas como patógenos primários e secundários (Harmon, 1994). Os patógenos principais mais comuns incluem o *S. aureus*, *S. agalactiae*, coliformes, estreptococos e enterococos de origem ambiental. Mastites causadas por estes patógenos resultam em grandes variações na composição do leite e na CCS (Harmon, 1994). Wilson et al. (1997a) verificaram que a CCS para animais com isolamento de *S. aureus* e *S. agalactiae* foi 440.000 e 640.000 células/ml, respectivamente.

*Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *C. bovis* são considerados patógenos secundários. Infecções por estes microrganismos causam moderado processo inflamatório com CCS excedendo de duas a três vezes em relação as glândulas mamárias não infectadas (Harmon, 1994). As médias da CCS verificadas por Wilson et al. (1997a) para *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *C. bovis* foram 170.000 e 150.000 células/ml, respectivamente.

## 2.2. Importância econômica

Entre as doenças do rebanho leiteiro, pode-se considerar que a mastite é responsável pelo maior impacto econômico. Estima-se que no Reino Unido, para um rebanho de 2,5 milhões de vacas e taxa de mastite clínica de 37,5 casos/100 vacas-ano, as infecções intramamárias induzem a ocorrência de um caso de mastite clínica a cada 34 segundos (Leigh, 1999). O custo médio para cada caso de mastite clínica no Reino Unido foi estimado em 175 libras (Kossaibati, 2000). Neste estudo, estimou-se uma perda de 168 milhões de libras por ano relacionado aos casos de mastite clínica. Em estudo mais recente realizado por Bradley e Green (2001), a taxa de mortalidade anual como consequência da mastite foi de 0,6% das vacas em lactação.

No Brasil não há informações sobre a incidência de casos clínicos de mastite para

se estimar economicamente a perda anual, mas Vargas et al. (2004), mostraram que o custo de um caso de mastite clínica em novilhas foi de R\$ 353,94. O cálculo foi baseado no custo dos medicamentos e o descarte do leite considerando o período de carência recomendado pelo laboratório.

Quantificar a perda associada à mastite subclínica é mais difícil, mas de acordo com Philpot e Nickerson (1991), esta forma de apresentação da doença é de 15 a 40 vezes mais prevalente que a forma clínica. Além da maior prevalência em relação à mastite clínica, casos subclínicos são de longa duração, difíceis de detectar, usualmente precedem casos clínicos, reduzem a produção de leite e afetam negativamente a qualidade do leite. As infecções subclínicas são importantes do ponto de vista epidemiológico, pois se constituem em reservatórios ou fonte de patógenos para outros animais do rebanho. Estimou-se que de 70 a 80% das perdas foi associado com mastite subclínica, enquanto de 20 a 30% foi devido à mastite clínica (Philpot e Nickerson, 1991).

## 2.3. Contagem de células somáticas

A contagem de células somáticas (CCS) no leite é o parâmetro usado em programas de controle e prevenção de mastite em todo o mundo. Nos últimos 50 anos, houve evolução em aceitar parâmetros de CCS para avaliar índices de mastite e conseqüentemente de qualidade do leite (Paape e Contreras, 1997). No Brasil, a partir de julho de 2005, a CCS do rebanho será reconhecida como requisito de qualidade para o leite cru refrigerado nas Regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul (Brasil, 2002). O limite máximo permitido será de 1.000.000, 750.000 e 400.000 células/ml em 2005, 2008 e 2011 respectivamente. Para as Regiões Norte e Nordeste, os limites de CCS do rebanho de 1.000.000, 750.000 e 400.000 células/ml serão estabelecidos a partir de 2007, 2010 e 2012 (Brasil, 2002).

Desde sua introdução no final dos anos sessenta e início dos anos oitenta, a CCS de vacas tem sido usada amplamente na

América do Norte como ferramenta para monitorar os níveis de mastite em rebanhos leiteiros (Dohoo e Leslie, 1991). O uso da CCS para monitorar a saúde do úbere tem provado ser uma ferramenta valiosa para predizer vacas infectadas por *S. aureus* e *S. agalactiae* (Kehrl, Jr. e Shuster, 1994). Vários fatores podem influenciar a variação da CCS, sendo citados a ordem de parto, período de lactação, mês e estação do ano, entre outros, porém o estado de infecção é o principal fator responsável pela variação da CCS (Harmon, 1994). A CCS dos animais aumenta com o avanço da idade e período de lactação, porém vacas sem infecção intramamária apresentam pouca variação (Harmon, 1994). O efeito do período de lactação e ordem de parto sobre a CCS foi observado em estudos realizados por Schepers et al. (1997) e Leavens et al. (1997). Porém, no estudo conduzido por Schepers et al. (1997), a presença de patógenos primários (*S. aureus*, *S. dysgalactiae* e *S. uberis*) e secundários (*C. bovis* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo) foi significativa e predominante na variação da CCS de quartos mamários.

Outros fatores que explicaram a variação da CCS foram os efeitos de rebanho, animal dentro de rebanho, mês do ano, período de lactação, ordem de parto e interação entre período de lactação e ordem de parto. Já no estudo realizado por Leavens et al. (1997), não houve efeito e diferença significativa na variação da CCS para a presença de infecção sem considerar o tipo de agente etiológico em relação a quartos mamários que não apresentaram isolamento bacteriológico. Ao avaliar o efeito do agente etiológico sobre a CCS, foi demonstrado que a presença de *C. bovis* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo não foi significativa em relação aos quartos mamários bacteriologicamente negativos. Porém, a presença de *Streptococcus* spp. esculina positivo foi significativa em relação a quartos mamários sem isolamento bacteriano. O efeito específico de patógenos na variação da CCS pode ser usado em programas de controle da mastite (Haas et al., 2002).

A mastite, e conseqüentemente a CCS, é reconhecida como uma doença fortemente relacionada ao manejo do rebanho (Reneau, 1986) e conforme Current... (1996), 90% dos casos de mastite é controlado com o manejo. Pensou-se que característica de rebanho seria a principal fonte de variação, mas existe uma grande variação de resposta entre os animais para características idênticas de manejo. Estudos têm mostrado que a relativa importância do rebanho em explicar a variação da CCS é menor que a variação devido à vaca individualmente (Kennedy et al., 1982, Schepers et al., 1997, Vecht et al., 1989). Schepers et al. (1997) mostraram que o componente de variação explicado por vacas individuais para a CCS é muito maior que o explicado para rebanho.

A CCS do rebanho é usada para estimar o percentual de animais e quartos mamários infectados no rebanho além de obedecer a uma relação diretamente proporcional com perdas de produção (Eberhart et al., 1982). Com a média geométrica do rebanho de 204.000 células/ml, Emanuelson e Funke (1991) encontraram prevalência média de 26,7% animais infectados em 15.514 rebanhos. Animais com cultura negativa para patógenos da mastite apresentaram em média 100.000 células/ml, enquanto animais com cultura positiva apresentaram 280.000 células/ml (Wilson et al., 1997a). Dohoo e Leslie (1991) avaliaram a CCS de vacas em intervalos de 28 dias e observaram que o limite de 200.000 células/ml foi o melhor para predizer uma nova infecção, com estimativas para sensibilidade e especificidade de 72,6% e 85,5% respectivamente. Schepers et al. (1997) consideraram como limites de referência os valores 100.000, 200.000 e 400.000 células/ml para predizer quartos mamários infectados. Os valores de sensibilidade estimados foram 83,2; 74,5 e 60,8 e os valores de especificidade de 80,5; 89,6 e 95,0% para os limites de 100.000, 200.000 e 400.000 células/ml respectivamente.

A sensibilidade e especificidade para CCS tendo como limites de referência os valores de 100.000, 250.000 e 500.000 células/ml

foram avaliadas por Sargeant et al. (1986) para vacas no início de lactação. Estes autores consideraram a presença de infecção intramamária por qualquer patógeno isolado e as infecções causadas por patógenos classificados como primários (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*, *S. agalactiae* e *S. aureus*) e secundários (*Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp.). Para a presença de infecção por qualquer patógeno a sensibilidade/especificidade encontrada para os valores de 100.000, 250.000 e 500.000 células/ml foram 71,2/41,3; 51,6/74,5 e 37,0/89,1% respectivamente. Para os patógenos classificados como principais, as sensibilidade/especificidade foram 78,7/39,6; 64,0/70,1 e 49,3/84,7 e para os secundários 66,1/41,3; 43,1/74,5 e 28,4/89,1 respectivamente. Osteras et al. (1999) encontraram uma variação de 80 a 85% para a sensibilidade e especificidade de quartos mamários infectados por patógenos primários (*S. aureus* e *S. agalactiae*), tendo como limite para CCS o valor de 200.000 células/ml.

## 2.4. Patógenos primários

### 2.4.1 *Staphylococcus aureus*

Na maioria dos países, *S. aureus* é a causa predominante de mastite subclínica e também é freqüentemente isolado de mastite clínica (Bramley e Dodd, 1984). Em estudo realizado no Brasil em 48 rebanhos por Brito et al. (1999), *S. aureus* foi isolado de 47 rebanhos, sendo que em 37 deles havia até 20% de quartos mamários infectados.

Mastites causadas por *S. aureus* podem variar de forma hiper-aguda a subclínica, tendo a forma subclínica crônica com episódios clínicos como a mais observada (Quinn et al., 2002). Casos subclínicos crônicos de mastite causada por *S. aureus* promovem atrofia do alvéolo mamário, fibrose e micro-abscessos, o que limita a ação fagocítica de células e a ação de antibióticos, causando infecções profundas no tecido mamário, com episódios de liberação de bactérias dos quartos

mamários infectados acompanhados de altas CCS (Pyörälä, 1995; Quinn et al., 2002). Geralmente, os casos de mastite causada por *S. aureus* são subclínicos, crônicos e de longa duração, podendo persistir por semanas ou meses. O tratamento com antibiótico dos casos clínicos freqüentemente falha em eliminar o estado de infecção particularmente em vacas mais velhas e com histórico de episódios clínicos da doença (Bramley e Dodd, 1984; Bramley, 1992).

A mais importante fonte de infecção para *S. aureus* dentro do rebanho são glândulas mamárias infectadas, duto do teto colonizado, tetos lesionados infectados, conjunto de teteiras do equipamento de ordenha, pano comum para secar animais e mãos do ordenhador, sendo o momento da ordenha o mais importante na transmissão de *S. aureus* entre vacas (Bramley e Dodd, 1984). Sommerhäuser et al. (2003) mostraram que alguns tipos de *S. aureus* possuíam pouca ou nenhuma tendência de disseminação entre quartos mamários. Fontes ambientais de *S. aureus* foram identificadas por Matos et al. (1991). Fatores ambientais tais como procedimentos de desinfecção, reposição de camas e estado de higiene dos estábulos foram associados com o risco de mastite por *S. aureus* em rebanhos leiteiros (Elbers et al. 1998). Identificação e eliminação de fontes de *S. aureus*, outras que quartos infectados, podem ser crucial para o sucesso de um programa de controle (Zadocks, 2002). Infecções intramamárias em vacas primíparas no início da lactação sugerem também que outras fontes que não as vacas em lactação podem servir como reservatórios de *S. aureus* no rebanho (Matthews et al, 1992).

No estudo realizado por Schalm (1942) citado por Roberson et al. (1994), foi sugerido que infecções intramamárias em vacas na primeira lactação causadas por patógenos principais e contagiosos da mastite poderiam estar associados ao fornecimento de leite oriundo de vacas com mastite. De acordo com Roberson et al. (1994), a alimentação de bezerros com leite oriundo de vacas com mastite não era

associado com aumento do risco para novas infecções causadas por *Staphylococcus* spp. coagulase positivo. Fatores relacionados ao rebanho, como o manejo durante a ordenha, quartos mamários recuperados de infecção causada por *S. aureus*, estágio de lactação e calosidades nas extremidades dos tetos eram associados à presença de novas infecções por *S. aureus*, (Zadoks et al., 2001b). De acordo com Neijenhuis et al. (2001), grande número de calosidades na extremidade dos tetos aumentou o risco para infecção intramamária em vacas em lactação, podendo estar relacionados a problemas de manejo de ordenha, ordenhadeira mecânica ou o ambiente. A prática da desinfecção dos tetos após a ordenha foi relacionada com redução de novas infecções intramamárias causadas por *S. aureus* (Boddie e Nickerson, 1997).

#### 2.4.2 *Streptococcus agalactiae*

*S. agalactiae* foi o primeiro microrganismo reconhecido como causa de mastite, em 1896 (Elvinger e Natzke, 1992). A infecção por este agente pode resultar em infecção clínica aguda até subclínica crônica (Bramley e Dodd, 1984). O curso da infecção é semelhante as da infecção crônica subclínica causada por *S. aureus*, com ciclos de liberação de bactérias acompanhados de altas CCS (Keefe, 1997; Quinn et al., 2002). *S. agalactiae* produz altas CCS em animais individuais, o que influencia significativamente na CCS do rebanho (Keefe, 1997). Em um grupo de rebanhos com CCS maior que 700.000 células/ml, a média geométrica da CCS de vacas infectadas por *S. agalactiae* foi 2.238.700 células/ml e em outro estudo a média aritmética foi de 900.000 células/ml (Keefe, 1997). Em rebanhos com CCS maiores que 800.000 células/ml, 80% das vacas com CCS maior que 500.000 células/ml estavam infectadas com *S. agalactiae* (Keefe, 1997).

Este patógeno localiza-se somente na glândula mamária, com sobrevivência restrita fora do úbere e, é altamente sensível à penicilina; devido a estas características tem sido erradicado até mesmo de alguns

países (Keefe et al., 1997). Alguns países têm trabalhado em programas regionais ou nacionais com o objetivo de erradicar o *S. agalactiae* e sua presença no rebanho foi associada a penalidades relacionadas ao não atendimento dos limites mínimos para CCS do rebanho no Canadá, de outubro de 1992 a março de 1993 (Keefe et al., 1997). *S. agalactiae* é disseminado principalmente no momento da ordenha por meio do equipamento usado e é um agente altamente contagioso (Bramley e Dodd, 1984; Bartlett et al., 1992a). Caso o *S. agalactiae* seja isolado de um rebanho, é recomendado a chamada *blitz* terapia, ou seja, todos os animais infectados são tratados simultaneamente com o objetivo de eliminar o agente do rebanho (Keefe, 1997; Cruz et al. 2004). Quando um rebanho está infectado com *S. agalactiae*, geralmente há uma alta prevalência de animais infectados dentro do rebanho (Keefe, 1997).

Entre 1976 e 1982, estudo realizado nos Estados do Mississippi e Massachusetts, Estados Unidos, mostrou que a prevalência média de animais infectados por *S. agalactiae* dentro de rebanhos variou de 39,5 a 44,7% (Keefe, 1997). De 48 rebanhos, 27 (56%) possuíam no mínimo uma vaca infectada por *S. agalactiae* no Estado de Ohio, Estados Unidos, onde a média de quartos e vacas infectadas foi de 4,1 e 10,0%, respectivamente (Bartlett et al., 1992a). Estudo realizado no Brasil por Brito et al. (1999), de 48 rebanhos, revelou que 29 estavam infectados com *S. agalactiae*, e em 24 destes rebanhos a média de quartos infectados foi de 3,6%. Fatores associados à presença de *S. agalactiae* foram identificados como procedimentos inadequados para higiene do úbere e tetos antes da ordenha, falha na desinfecção dos tetos após a ordenha, seleção de animais para tratamento a secagem ou não realização de tratamento a secagem, limpeza inadequada do meio ambiente e uso de pano comum para limpeza dos tetos e úbere antes da ordenha (Bramley e Dodd, 1984; Bartlett et al., 1992a; Keefe, 1997). Desinfecções dos tetos após a ordenha com solução de iodo foram relacionadas com redução de novas infecções intramamárias

causadas por *S. agalactiae* (Boddie e Nickerson, 1997).

#### 2.4.3 *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*

*Streptococcus* spp. encontrados no ambiente foram isolados de infecções intramamárias de vacas durante o período de lactação e o período seco (Todhunter et al., 1995). Estação do ano, ordem de parto e período de lactação influenciaram na razão de infecções intramamárias causadas por estreptococos do ambiente (Todhunter et al., 1995). Estábulo, higiene e ambiente da vaca seca são freqüentemente associados com novas infecções intramamárias durante o período seco (Bartlett et al., 1992b; Godden, 2004). Vacas durante o período seco geralmente permanecem em locais molhados e sujos, resultando em alto nível de exposição das extremidades dos tetos aos patógenos do ambiente (Godden, 2004). De forma semelhante, novilhas que permanecem em ambiente molhado e sujo são mais suscetíveis a desenvolver infecção intramamária antes do parto (Godden, 2004). Bradley e Green (2000) apontaram que o manejo ambiental durante o período seco das vacas pode ter grande impacto na incidência de mastite causada por patógenos ambientais na lactação subsequente e que infecções crônicas foram importantes na epidemiologia da doença. Procedimentos adequados de higiene durante a ordenha foram pontos importantes na prevenção de infecções intramamárias causadas por estreptococos do ambiente (Bartlett et al., 1992b). Brito et al. (2000) demonstraram que a aplicação adequada de métodos de anti-sepsia dos tetos antes da ordenha reduzia a contaminação bacteriana da pele dos tetos em aproximadamente 90%. O uso de caneca ou desinfetante contaminado com bactérias do ambiente pode ser fonte de infecção para os animais (Philpot e Nickerson, 1991).

##### 2.4.3.1 *Streptococcus dysgalactiae*

*S. dysgalactiae* parece ocupar uma posição intermediária dos grupos dos patógenos

contagiosos e ambientais da mastite, com amostras adaptadas aos animais e ao ambiente (Aarestrup e Jensen, 1996; Calvino et al, 1998). A disseminação do *S. dysgalactiae* entre vacas pode ocorrer diretamente pelo equipamento de ordenha ou pelo ambiente (Bramley e Dodd, 1984). Como a bactéria pode persistir na glândula mamária, a transmissão pode ocorrer durante a ordenha e, conseqüentemente, o controle pode ser realizado pela adoção de procedimentos higiênicos corretos no momento da ordenha (Bramley e Dodd, 1984). Injúrias nas extremidades dos tetos e procedimentos inadequados de ordenha promoveram a disseminação da bactéria dentro do rebanho (Calvino et al, 1998). Entretanto, o *S. dysgalactiae* pode ser encontrado fora da glândula mamária como o ambiente, tonsilas, boca e vagina das vacas (Bramley e Dodd, 1984). Infecções ocorrem com freqüência em vacas secas e novilhas, o que mostra independência do processo de ordenha e o caráter ambiental da bactéria (Bramley e Dodd, 1984). Sua habilidade em sobreviver e multiplicar em locais fora da glândula mamária pode ser o principal fator responsável para diferenciar a patogênese da infecção comparada ao *S. agalactiae* (Bramley e Dodd, 1984). Cama contaminada é considerada ser importante fonte do microrganismo, facilitando a transmissão de um animal para outro (Leigh, 1999). A forma de apresentação não é específica variando de casos clínicos a sub-clínicos (Rebhun et al., 1995).

##### 2.4.3.2 *Streptococcus uberis*

*S. uberis* foi isolado tanto de material orgânico como inorgânico, usado como cama (Bramley e Dodd, 1984). *S. uberis* é a causa mais comum de novas infecções em vacas secas, ocorrendo usualmente no início da lactação e final do período seco (Bramley e Dodd, 1984). Por meio de estudos moleculares, de epidemiologia clássica e de modelos matemáticos para predição do número de novas infecções foi mostrado que amostras de *S. uberis* apresentaram característica epidemiológica de microrganismos contagiosos (Zadoks et al. 2001a; Zadoks et al. 2001b; Zadoks et al. 2003), mas existem outras evidências que

sugerem ser este microrganismo fortemente relacionado ao ambiente. Ligação entre *S. uberis*, ambiente e infecção foi fortemente relacionado devido ao isolamento do agente em cerca de 50 a 60% de swabs da extremidade dos tetos (Leigh, 1999). Vacas mantidas a pasto apresentaram risco menor de infecção em relação a vacas mantidas em confinamento (Leigh, 1999). Infecções intramamárias causados por *S. uberis* podem resultar em mastite clínica ou subclínica, variando o período de duração (Zadoks et al., 2003). Devido ao não tratamento das infecções subclínicas, longos períodos de infecção podem dificultar o controle da mastite no rebanho (Zadoks et al., 2003). Infecções crônicas com *S. uberis* foram reconhecidas (Oliver et al., 1998; Wang et al., 1999) e o papel destas infecções na epidemiologia do *S. uberis*, possivelmente por meio da transmissão no momento da ordenha tem sido discutido (Hill, 1988; Peeler et al., 2000).

## 2.5. Patógenos secundários

### 2.5.1 *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp.

Em estudos de prevalência em rebanhos de microrganismos causadores de mastite, dois patógenos comumente isolados são *C. bovis* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (Matthews et al., 1992; Brito et al. 1999). Brito et al. (1999) identificaram bactérias do gênero *Corynebacterium* em todos os 48 rebanhos estudados no Estado de Minas Gerais, sendo que em 24 deles, 21 a 40% dos quartos mamários estavam infectados. Além de causar infecção em maior número de quartos mamários, *Corynebacterium* spp. foi o agente mais freqüentemente isolado em todos os rebanhos. No mesmo estudo, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo foi isolado de 45 rebanhos e destes, 43 apresentaram taxas de infecção em até 20% dos quartos. Esses dois grupos de organismos são associados a discreto aumento da CCS (Harmon, 1994). A presença de *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *C. bovis* no leite, é um reflexo da flora normal da pele e da ausência de

higiene, particularmente na desinfecção dos tetos. Essas bactérias podem se multiplicar na superfície e canal do teto, resultando na infecção intramamária (Bramley e Dodd, 1984).

Elevação da CCS do rebanho causada por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo não é evidente como visto para *S. agalactiae* (Elvinger e Natzke, 1992). Quartos mamários infectados experimentalmente com *Staphylococcus* spp. coagulase negativo apresentaram média geométrica de 260.000 células/ml (Nickerson e Boddie, 1994). Não desinfecção dos tetos e uso de pano comum para secar os tetos foram associados a casos de mastite subclínica causada por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (Barlett et al., 1992c). Matthews et al. (1992) observaram maior prevalência de casos de mastite causada por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em vacas primíparas em relação a vacas múltiparas. Diferentes estilos de manejo foram associados à prevalência de casos de mastite causados por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (Fox et al., 1995).

*C. bovis* promove geralmente um quadro de mastite subclínica e moderado aumento da CCS, variando de 200.000 a 400.000 células/ml (Elvinger e Natzke, 1992; Radostits et al., 1994). *C. bovis* são primeiramente disseminados entre os quartos mamários no momento da ordenha, apesar de outras fontes de infecção existirem (Bramley e Dodd, 1984). Desinfecção dos tetos e terapia da vaca seca devem fazer parte de um programa de controle e prevenção de novas infecções causadas por *C. bovis* (Radostits et al., 1994).

## 2.6. Programa de controle e prevenção da mastite

O grande avanço no controle e prevenção da mastite ocorreu na década de 60 em consequência a introdução do plano que ficou conhecido como o "plano dos cinco pontos" (Dodd e Jackson, 1971). O plano visa principalmente reduzir o número de novas infecções, eliminar infecções já

estabelecidas e diminuir a duração das infecções por meio de terapias com antibiótico e descarte de animais (Neave et al, 1966; Jackson, 1971; Elvinger e Natzke, 1992; Recommended...2001). Houve enfoque na rápida identificação e tratamento dos casos clínicos, terapia da vaca seca em todos os animais, desinfecção dos tetos após a ordenha, descarte de animais cronicamente infectados e rotina de manutenção do equipamento de ordenha (Jackson, 1971; Neave e Jackson, 1971; Bradley, 2002). Terapia durante a lactação e/ou tratamento da vaca seca podem reduzir o risco de novas infecções intramamárias em 50% (Allore et al. 1998). Manutenção da integridade da pele e extremidade dos tetos é parte de qualquer programa de controle da mastite (Mein et al., 2001). Capuco et al. (1994) verificaram um aumento na incidência de mastite em razão do funcionamento inadequado dos pulsadores do equipamento de ordenha. Por meio de palpação dos tetos após a ordenha, foi verificado que o uso de alta pressão de vácuo aumentou a tensão sobre os tetos e tornando-os mais sensíveis, com coloração sugestiva de transição cianótica (Capuco et al., 2000). Alta pressão de vácuo na ponta dos conjuntos de teteiras foi associada com alterações dos tetos, principalmente com formação de edema, interferindo com a eficiência de mecanismos de defesa que auxiliam na prevenção de infecções intramamárias (Hamann et al., 1992). Alta frequência de deslizamento dos conjuntos de teteiras foi identificada como fator responsável por novas infecções intramamárias (Baxter et al., 1992). Avaliação periódica do correto funcionamento do equipamento de ordenha e trabalho de motivação dos ordenhadores foram associados com a prevenção de novas infecções (Spencer, 2002; Cavazos, 2003).

O Conselho Nacional de Mastite dos Estados Unidos (NMC) recomenda um programa de controle de mastite formado por dez pontos descritos em Recommended...(2001). Este programa enfocou os cinco pontos citados anteriormente acrescidos de um sistema de metas e avaliação periódica de objetivos

para a saúde do úbere com base em resultados de análises laboratoriais para CCS e identificação de patógenos. A importância do suporte laboratorial na identificação de patógenos da mastite é evidenciada de várias formas no programa de controle da mastite. O uso de serviços laboratoriais para diagnóstico de mastite clínica e subclínica associado com a idade do animal, estágio de lactação e CCS no momento do tratamento fornece informações sobre o padrão de infecção do rebanho, o que auxiliaria no controle e erradicação de patógenos da mastite como *S. aureus* e *S. agalactiae*, respectivamente (Jackson, 1971; Bramley e Dodd, 1984; Dinsmore et al., 1991; Guterbock et al., 1993; Hogeveen et al. 1995; Sol et al. 1997; Brito et al., 1999; Osteras et al., 1999).

Além da adoção de procedimentos visando o controle da mastite, ressalta-se a realização correta destes procedimentos. Recomenda-se a técnica de inserção parcial da cânula da bisnaga do antibiótico intramamário na terapia dos casos clínicos e tratamento da vaca seca, o que evita a introdução de microrganismos para o interior da glândula mamária (Recommended... (2001); Brito et al., 2002). Philpot e Nickerson (1991) recomendaram a imersão do conjunto de teteiras em solução desinfetante entre a ordenha dos animais com objetivo de diminuir a contaminação das borrachas das teteiras. Este procedimento não é verificado no programa de controle descritos no Recommended...(2001). A ordenha deve ser iniciada com o exame dos primeiros jatos de leite de todos os quartos mamários, em recipiente de fundo escuro, para facilitar a visualização de alterações e permitir o diagnóstico precoce dos casos clínicos. Após o exame dos primeiros jatos de leite, lavar os tetos se necessário e realizar a secagem com papel toalha individual. O objetivo é assegurar que somente tetos limpos e secos sejam ordenhados (Brito et al., 2002). Logo após a ordenha, recomenda-se manter os animais de pé para evitar a penetração de bactérias pelo canal do teto, que permanece aberto por um período variável de 30 a 120 minutos (Brito et al., 2002). Para manter os animais de pé,

sugere-se o fornecimento de ração no cocho na saída do local de ordenha. Ao mesmo tempo, deve-se evitar fornecer alimentação aos animais antes ou durante a ordenha. Ordenhar animais problema, ou seja, animais que apresentaram casos de mastite por último é uma forma de se evitar novas infecções intramamárias apresentadas no Recommended...(2001).

O impacto da implementação de estratégias de controle da mastite, em particular o plano dos cinco pontos, tem sido muito bem sucedido em controlar patógenos contagiosos e tem induzido uma significativa redução de mastite clínica e subclínica e conseqüentemente da CCS do rebanho (Leigh, 1999; Bradley, 2002). Com a redução dos casos de mastite clínica e subclínica e da CCS do rebanho causados por patógenos contagiosos, principalmente *S. aureus* e *S. agalactiae*, os patógenos ambientais tiveram sua importância ampliada (Leigh, 1999; Bradley, 2002).

## 2.7. Estudos sobre fatores de risco

Um dos principais objetivos dos estudos epidemiológicos explicativos observacionais é identificar os determinantes de doença e saúde bem como quantificar a contribuição desses para a ocorrência da doença. Estudos observacionais explicativos procuram investigar associações entre doenças e possíveis fatores de risco, usando técnicas estatísticas para estimar o grau do risco associado à exposição aos fatores. Os fatores de risco podem ser associados ao hospedeiro, ao agente infeccioso ou não infeccioso responsável pela doença, e ao meio ambiente. A necessidade de identificar objetivamente os riscos associados com doenças particulares é importante, pois possibilita estabelecer programas de controle e erradicação (Thrusfield e Noordhuizen, 1997).

A eventual associação entre fatores de risco relativos ao animal, ao ambiente, ao manejo e a saúde da glândula mamária, é pesquisada mediante tais estudos epidemiológicos explicativos observacionais. Exemplos de fatores relacionados ao animal identificados como de risco para mastite são: número de parições, período de

lactação (início e final), alta produção e escape de leite no momento da ordenha (Omoro et al., 1996; Peeler et al., 2000). Manejo e características do rebanho como tamanho e tipo de ordenha (manual ou mecânica) e procedimentos durante a ordenha (não desinfecção dos tetos antes e após a ordenha) foram associados à ocorrência de novas infecções intramamárias e aumento da CCS (Oliver et al., 1993; Brito et al., 1998). A utilização de areia na cama das vacas em lactação ao invés de matéria orgânica, as boas condições higiênicas do estábulo, a imersão dos tetos em solução desinfetante após a ordenha, o tratamento à secagem, o tratamento imediato dos casos clínicos com antimicrobianos, o descarte de animais-problema e a segregação de animais infectados no momento da ordenha, bem como a utilização de unidades de ordenha específicas para esses animais, foram identificados como fatores que reduzem a CCS do rebanho (Hueston et al., 1990; Wilson et al., 1997; Allore et al. 1998; Barkema et al.; 1998, Berry e Hillerton, 2002).

Boa parte do desenvolvimento na pecuária de leite exibido por países do chamado "Primeiro Mundo", se deve a sua perseverante utilização dos mencionados estudos epidemiológicos observacionais, imprescindíveis na atual epidemiologia. Neles a maioria dos rebanhos é composta por animais de alta produção criados em sistemas de confinamento total ou parcial (Schukken et al., 1989; Wilson et al., 1997b; Barkema et al., 1999; Ott e Novak, 2001).

## 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARESTRUP, F. M.; JENSEN, N. E. Genotypic and phenotypic diversity of *Streptococcus dysgalactiae* strains isolated from clinical and subclinical cases of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, v. 53, n. 3-4, p. 315-323, 1996.
- ALLORE, H. G.; ERB, H. N.; SCHRUBEN, L. W.; OLTENACU, P. A. A simulation of strategies to lower bulk tank somatic cell count below 500,000 per milliliter. *Journal of Dairy Science*, v. 81, n. 3, p. 694-702, 1998.

- BARKEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H.; LAM, T. J. G. M. et al. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *Journal of Dairy Science*, v. 81, n. 7, p. 1917-1927, 1998.
- BARKEMA, H. W.; VAN DER PLOEG, J. D.; SCHUKKEN, Y. H. et al. Management style and its association with bulk milk somatic cell count and incidence rate of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, v. 82, n. 8, p. 1655-1663, 1999.
- BARTLETT, P. C.; MILLER, G. Y.; LANCE, S. E. et al. Managerial risk factors of intramammary infection with *Streptococcus agalactiae* in dairy herds in Ohio. *American Journal of Veterinary Research*, v. 53, n. 9, p. 1715-1721, 1992a.
- BARTLETT, P. C.; MILLER, G. Y.; LANCE, S. E. et al. Managerial determinants of intramammary coliform and environmental streptococci infections in Ohio dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 5, p. 1241-1252, 1992b.
- BARTLETT, P. C.; MILLER, G. Y.; LANCE, S. E.; HEIDER, L. E.; ANDERSON, C. R. Environmental and managerial risk factors of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Ohio dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 14, n. 1-2, p. 129-142, 1992c.
- BAXTER, J. D.; ROGERS, G. W.; SPENCER, S. B.; EBERHART, R. J. The effect of milking machine liner slip on new intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 4, p. 1015-1018, 1992.
- BERRY, E. A.; HILLERTON, J. E. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, v. 85, n. 1, p. 112-121, 2002.
- BODDIE, R. L.; NICKERSON, S. C. Evaluation of two iodophor teat germicides: activity against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *Journal of Dairy Science*, v. 80, n. 8, p. 1846-1850, 1997.
- BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary Journal*, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.
- BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *Journal of Dairy Science*, v. 83, n. 9, p. 1957-1965, 2000.
- BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J. Aetiology of clinical mastitis in six Somerset dairy herds. *Veterinary Record*, v. 148, n. 22, p. 683-686, 2001.
- BRAMLEY, A. J. Mastitis. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. *Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle*. Oxford: Blackwell, 1992. p. 289-300.
- BRAMLEY, A. J.; DODD, F. H. Reviews of the progress of Dairy Science: Mastitis control – progress and prospects. *Journal of Dairy Research*, v. 51, n.3, p. 481-512, 1984.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. *Diário Oficial da União*, Brasília (DF), 18 set. 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2004. *Agricultura brasileira em números*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/ESTATISTICAS/PECUARIA/3.3.XLS>>. Acesso em: 09/12/2004.
- BRITO, J.R.F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. *Como (re)conhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2002. 8 p. (Circular Técnica, 70).

- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; VERNEQUE, R. S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. *Ciência Rural*, v. 30, n. 5, p. 847-850, 2000.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n. 2, p. 129-135, 1999.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; VEIGA, V. M. O.; RIBEIRO, M. T.; VERNEQUE, R. S.; SILVA, M. A. S. Udder infection patterns in hand and machine milked dairy herds under subtropical conditions. In: PANAMERICAN CONGRESS ON MASTITIS CONTROL AND MILK QUALITY, 1., 1998, Merida. *Proceedings*. . . Merida, 1998. p. 148-151.
- BRITO, J. R. F.; SOUZA, G. N.; BRITO, M. A. V. P. et al. Panorama da qualidade do leite na Região Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. In: BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. B. *Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para indústria e a questão dos resíduos de antibióticos*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Epamig/CT/ILCT, 2003. p.47-61.
- CALVINHO, L. F.; ALMEIDA, R. A.; OLIVER, S. P. Potential virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, v. 61, n. 1-2, p. 93-110, 1998.
- CAPUCO, A. V.; MEIN, G. A.; NICKERSON, S. C. et al. Influence of pulsationless milking on teat canal keratin and mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 1, p. 64-74, 1994.
- CAPUCO, A. V.; WOOD, D. L.; QUAST, J. W. Effects of teatcup liner tension on teat canal keratin and teat condition cows. *Journal Dairy Research*, v. 67, n. 3, p. 319-327, 2000.
- CAVAZOS, F. Useful ideas and principles for the implementation of reinforcement programs to keep milkers motivated. In: ANUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 42., 2003, Fort Worth. *Proceedings...* Madison: NMC, 2003. p. 77-85.
- CRUZ, J. C. M.; MOLINA, L. R.; BRITO, J. R. F. et al. Eficiência da blitz terapia na erradicação de *Streptococcus agalactiae* e controle de *Staphylococcus aureus* em rebanhos bovinos leiteiros. In: DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo: UPF Editora, 2004. p. 136-140.
- CURRENT concepts of bovine mastitis. Madison: National Mastitis Council, 1996. 64 p.
- DINSMORE, R. P.; ENGLISH, P. B.; GONZALEZ, R. N. et al. Evaluation of methods for the diagnosis of *Streptococcus agalactiae* intramammary infections in dairy cattle. *Journal Dairy Science*, v. 74, n. 5, p. 1521-1526, 1991.
- DODD, F. H.; JACKSON, E. R. *The control of bovine mastitis*. Berkshire: Unwin Brothers, 1971. 130p.
- DOHOO, I. R.; LESLIE, K. E. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 10, n. 4, p. 225-237, 1991.
- EBERHART, R. J.; HUTCHINSON, J.; SPENCER, S. B. Relationships of bulk tank somatic cell counts to prevalence of intramammary infection and to indices of herd production. *Journal of Food Protection*, v. 45, n. 12, p. 1125-1128, 1982.
- ELBERS, A. R.; MILTENBURG, J. D.; DE LANGE, D. et al. Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of The Netherlands. *Journal Dairy Science*, v. 81, n. 2, p. 420-426, 1998.

- ELVINGER, F.; NATZKE, R. P. Elements of mastitis control. In: VAN HORN, H. H.; WILCOX, C. J. *Large dairy herd management*. Champaign: American Dairy Science Association, 1992. p. 440-447.
- EMANUELSON, U.; FUNKE, H. Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 74, n. 8, p. 2479-2483, 1991.
- FOX, L. K.; CHESTER, S. T.; HALLBERG, J. W. et al. Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition. *Journal Dairy Science*, v. 78, n. 7, p. 1619-1628, 1995.
- GODDEN, S. Put a stop to dry and fresh cow mastitis. In: REGIONAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 2004, Bloomington. *Proceedings...Verona: NMC*, 2004. p. 6-18.
- GUTERBOCK, W. M.; VAN EENEHNAAM, A. L.; ANDERSON, R. J. et al. Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *Journal Dairy Science*, v. 76, n. 11, p. 3437-3444, 1993.
- HAAS, Y.; BARKEMA, H. W.; VEERKAMP, R. F. The effect of pathogen-specific clinical mastitis on the lactation curve for somatic cell count. *Journal Dairy Science*, v. 85, n. 5, p. 1314-1323, 2002.
- HAMANN, J.; MEIN, G. A.; WETZEL, S. Teat tissue reactions to milking: effects of vacuum level. *Journal Dairy Science*, v. 76, n. 4, p. 1040-1046, 1992.
- HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 7, p. 2103-2113, 1994.
- HILL, A. W. Pathogenicity of two strains of *Streptococcus uberis* infused into lactating and non-lactating bovine mammary glands. *Research Veterinary Science*, v. 45, n. 3, p. 400-404, 1988.
- HOGVEEN, H.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; TEPP, D. M. et al. A knowledge-based system for diagnosis of mastitis problems at the herd level. 1. Concepts. *Journal Dairy Science*, v. 78, n. 7, p. 1430-1440, 1995.
- HUESTON, W. D.; HEIDER, L. E.; HARVEY, W. R. et al. Determinants of high somatic cell count prevalence in dairy herds practicing teat dipping and dry cow therapy and with no evidence of *Streptococcus agalactiae* on repeated bulk tank milk examination. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 9, n.1, p. 131-142, 1990.
- JACKSON, E. R. Elimination of intramammary infections. In: DODD, F. H.; JACKSON, E. R. *The control of bovine mastitis*. Berkshire: Unwin Brothers, 1971. p. 25-34.
- KEHRLI, Jr. M. E. K.; SHUSTER, D. E. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 2, p. 619-627, 1994.
- KEEFE, G. P. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. *Canadian Veterinary Journal*, v. 38, n. 7, p. 429-435, 1997.
- KEEFE, G. P.; DOHOO, I. R.; SPANGLER, E. Herd prevalence and incidence of *Streptococcus agalactiae* in the dairy industry of Prince Edward Island. *Journal Dairy Science*, v. 80, n. 3, p. 464-470, 1997.
- KENNEDY, B. W.; SETHAR, M. S.; TONG, A. K.; W.; MOXLEY, J. E. Environmental factors influencing test-day somatic cell counts in Holstein. *Journal Dairy Science*, v. 65, n.2, p. 275-285, 1982.
- KOSSAIBATI, M. A. The costs of clinical mastitis in UK dairy herds. *Cattle Practice*, v. 8, n. 3, p. 823-828, 2000.
- LEAVENS, H.; DELUYKER, H.; SCHUKKEN, Y. H. et al. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *Journal Dairy Science*, v. 80, n. 12, p. 3219-3226, 1997.

- LEIGH, J. A. *Streptococcus uberis*: a permanent barrier to the control of bovine mastitis? *The Veterinary Journal*, v. 157, n. 3, p. 225-238, 1999.
- MATOS, J. S.; WIHTE, D. G.; HARMON, R. J.; LANGLOIS, B. E.; Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. *Journal Dairy Science*, v. 74, n. 5, p. 1544-1549, 1991.
- MATTHEWS, K. R.; HARMON, R. J.; LANGLOIS, B. E. Prevalence of *Staphylococcus aureus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. *Journal Dairy Science*, v. 75, n. 7, p. 1835-1839, 1992.
- MEIN, G. A.; NEIJENHUIS, F.; MORGAN, W. F. et al. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. Non-infectious factors. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MASTITIS AND MILK QUALITY, 2., 2001, Vancouver. *Proceedings...Vancouver: NMC, 2001. p. 347-351.*
- RECOMMENDED Mastitis Control Program. 2001. Disponível em: <<http://www.nmconline.org/docs/NMC10step s.pdf>>. Acesso em: 18/05/2003.
- NEAVE, F. K.; DODD, F. H.; KINGWILL, R. G. A method of controlling udder disease. *Veterinary Record*, v. 78, n. 15, p. 521-523, 1966.
- NEAVE, F. K.; JACKSON, E. R. The prevention of intramammary infections. In: DODD, F. H.; JACKSON, E. R. *The control of bovine mastitis*. Berkshire: Unwin Brothers, 1971. p. 15-24.
- NEIJENHUIS, F.; MEIN, G. A.; BRITT, J. S. et al. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 4. Relationship between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MASTITIS AND MILK QUALITY, 2., 2001, Vancouver. *Proceedings...Vancouver: NMC, 2001. p. 362-366.*
- NICKERSON, S. C.; BODDIE, R. L. Effect of naturally occurring coagulase-negative staphylococcal infections on experimental challenge with major mastitis pathogens. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 9, p. 2526-2536, 1994.
- OLIVER, S. P.; GILLESPIE, B. E.; JAYARAO, B. M. Detection of new and persistent *Streptococcus uberis* and *Streptococcus dysgalactiae* intramammary infection by polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. *FEMS Microbiology Letter*, v. 160, n. 1, p. 69-73, 1998.
- OLIVER, S. P.; LEWIS, M. J.; INGLE, T. L. et al. Prevention of bovine mastitis by a premilking teat disinfectant containing chlorous acid and chlorine dioxide. *Journal Dairy Science*, v. 76, n. 1, p. 287-292, 1993.
- OMORE, A. O.; McDERMOTT, J. J.; ARIMI, S. M. et al. A longitudinal study of milk somatic cell counts and bacterial culture from cows on smallholder dairy farms in Kiambu District, Kenya. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 29, n. 1, p. 77-89, 1996.
- OSTERAS, O.; EDGE, V. L.; MARTIN, S. W. Determinants of success or failure in the elimination of major mastitis pathogens in selective dry cow therapy. *Journal Dairy Science*, v. 82, n. 6, 1221-1231, 1999.
- OTT, S. L.; NOVAK, P. R. Association of herd productivity and bulk-tank somatic cell counts in US dairy herds in 1996. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 218, n. 8, p. 1325-1329, 2001.
- PAAPE, M. J.; CONTRERAS, A. Historical perspective on the evolution of the milk somatic cell count. *Fleming Veterinary Journal*, v. 66, Suppl., p. 93-105, 1997.
- PEELER, E. J.; GREEN, M. J.; FITZPATRICK, J. L. et al. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. *Journal Dairy Science*, v. 83, n. 11, p. 2464-2472, 2000.

- PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. *Mastitis: counter attack. A strategy to combat mastitis.* Naperville: Babson Bros. , 1991. 150 p.
- PYÖRÄLÄ, S. Mastitis caused by different microbes. In: SANDHOLM, M.; HONKANEN-BUZALSKI, T.; KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S. *The bovine udder and mastitis.* Helsinki: University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, 1995. p. 143-160.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E. et al. Bacterial causes of bovine mastitis. In: *Veterinary microbiology and Microbial disease.* Oxford: Blackwell, 2002. p. 465-475.
- RADOSTITS, O. M.; LESLIE, K. E.; FETROW, J. *Herd health: food, animal, production, medicine.* 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. 629 p.
- REBHUN, C. W.; GUARD, C.; RICHARDS, C. M. *Diseases of dairy cattle.* Media: Lippincott Williams & Wilkins, 1995. 530 p.
- RENEAU, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cells counts in mastitis control. *Journal Dairy Science*, v. 69, n.6. p.1708-1720, 1986.
- ROBERSON, J. R.; FOX, L. K.; HANCOCK, D. D.; GAY, C. C. Coagulase-positive *Staphylococcus* intramammary infections in primiparous dairy cows. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 4, p. 958-969, 1994.
- SARGEANT, J. M.; LESLIE, K. E.; SHIRLEY, J. E. et al. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. *Journal Dairy Science*, v. 84, n. 9, p. 2018-2024, 1986.
- SCHEPERS, A. J.; LAM, T. J. G. M.; SCHUKKEN, Y. H. et al. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of Dairy Science*, v. 80, n. 8, p. 1833-1840, 1997.
- SCHUKKEN, Y. H.; VAN DE GEER, D.; GROMMERS, F. J. et al. Intramammary infections and risk factors for clinical mastitis in herds with low somatic cell counts in bulk milk. *Veterinary Record* , v. 125, p. 393-396, 1989.
- SCHUKKEN, Y. H.; KREMER, D. J. Monitoring udder health: objectives, materials and methods. In: BRAND, A.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; SCHUKKEN, Y. H. *Herd health and production management in dairy practice.* Wageningen: Wageningen Pers, 1996. p.351-426.
- SOL, J.; SAMPIMON, O. C.; SNOEP, J. J.; SCHUKKEN, Y. H. Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal Dairy Science*, v. 80, n. 11, p. 2803-2808, 1997.
- SOMMERHÄUSER, J.; KLOPPERT, B.; WOLTER, W. et al. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. *Veterinary Microbiology*, v. 96, n. 1, p. 91-102, 2003.
- SPENCER, S. B. Equipamento de ordenha X Controle de mastite e qualidade do leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2., 2002, Ribeirão Preto. *Anais.* . São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2002. p. 119-148.
- THRUSFIELD, M. V.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Current areas of application of epidemiology and perspectives. In: NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; van der HOOFD, C. M.; GRAAT, E. A. M. *Application of quantitative methods in veterinary epidemiology.* Wageningen: Wageningen Pers, 1997. p. 15-30.
- TODHUNTER, D. A.; SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *Journal Dairy Science*, v. 78, n. 11, p. 2366-2374, 1995.

- VARGAS, R. T.; SANTOS, E. M. P.; CERQUEIRA, M. M. O. P. et al. Avaliação econômica e qualitativa do leite de novilhas submetidas a antibioticoterapia e vacinação no período pré-parto (reusultados parciais). In: DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo: UPF Editora, 2004. p. 130-135.
- VECHT, U.; WISSELINK, H. J.; DEFIZE, P. R. Dutch national mastitis survey: the effect of herd and animal factors on somatic cell count. *Netherland Milk Dairy Journal*, v. 43, n.4, p. 425-435, 1989.
- WANG, S. M.; DEIGHTON, M. A.; CAPSTICK, J. A.; GERRATY, N. Epidemiological typing of bovine streptococci by pulsed-field gel electrophoresis. *Epidemiology and Infection*, v. 123, n. 2, p. 317-324, 1999.
- WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; DAS, H. H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pensilvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. *Journal Dairy Science*, v. 80, v. 10, p. 2592-2598, 1997a.
- WILSON, D. J.; HELENA, H. D.; GONZALEZ, R. N. et al. Association between management practices, dairy herd characteristics, and somatic cell count of bulk tank milk. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 210, n. 10, p. 1499-1502, 1997b.
- ZADOCKS, R. N.; ALLORE, H. G.; BARKEMA, H. W. et al. Analysis of an outbreak of *Streptococcus uberis* mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 84, n. 3, p. 590-599, 2001a.
- ZADOCKS, R. N.; ALLORE, H. G.; BARKEMA, H. W. et al. Cow- and quarter-level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 84, n. 12, p. 2649-2663, 2001b.
- ZADOCKS, R. N.; ALLORE, H. G.; HAGENAARS, T. J.; BARKEMA, H. W. et al. A mathematical model of *Staphylococcus aureus* control in dairy herds. *Epidemiology and Infection*, v. 129, n. 2, p. 397-416, 2002.
- ZADOCKS, R. N.; GILLESPIE, B. E.; BARKEMA, H. W. et al. Clinical, epidemiological and molecular characteristics for *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. *Epidemiology and Infection*, v. 130, n. 2, p. 335-349, 2003.

## CAPÍTULO 1

### FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À ALTA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE DO TANQUE EM REBANHOS BOVINOS LEITEIROS DA ZONA DA MATA DE MINAS GERAIS, BRASIL, 2000/2001.

*(Risk factors associated with high bulk milk somatic cell count in dairy herds from Zona da Mata of Minas Gerais, Brasil, 2000/2001)*

#### RESUMO

Existência eventual de associações entre características do rebanho e práticas de manejo, por um lado e contagem de células somáticas do leite do tanque (CCSLT), por outro foram pesquisadas em 175 rebanhos bovinos envolvidos em programas de acompanhamento da CCSLT localizados na Zona da Mata de Minas Gerais entre junho de 2000 e dezembro de 2001. Os dados sobre características dos rebanhos foram obtidos por meio de aplicação de questionários. Os rebanhos foram classificados em dois grupos de acordo com a média geométrica de seis CCSLT mensais, consecutivas, tendo como referência o valor de 500.000 células/ml. Os métodos estatísticos utilizados foram análise exploratória dos dados e modelos logísticos de regressão. Procedimentos relacionados ao controle e prevenção de mastite foram adotados em um pequeno número de rebanhos. Os fatores associados à alta CCSLT foram: não adoção de linha de ordenha, alimentação no momento da ordenha e ausência da desinfecção do teto depois da ordenha. O tipo de ordenha (manual, mecânica canalizada e balde ao pé), a idade média dos rebanhos, o local de ordenha e a realização de exames dos primeiros jatos de leite não foram associados à alta CCSLT.

Palavras-chave: mastite bovina, fator de risco, contagem de células somática, leite do tanque

#### ABSTRACT

Herd features and management practices associated with high bulk milk somatic cell count (BMSCC) were studied in 175 dairy herds enrolled on BMSCC programs. Herds data were obtained from June/2000 to December/2001 by questionnaires application. Herds were classified according to the geometric mean of six consecutive BMSCC records. Exploratory analysis and logistic regression models were applied to statistical analysis. Procedures related to mastitis control and prevention were adopted in a few herds. Factors associated with high BMSCC were order of milking cows, feeding cows during milking and absence of postdipping teat disinfection. Type of milking (machine or hand milking), herd age, milking place (milking room or farmyard, pen, corral) and strip test (first streams of milk) were not associated with high BMSCC.

Key-words: bovine masitis, risk factors, bulk milk somatic cell count

## INTRODUÇÃO

Fatores de risco relacionados ao animal, ao meio ambiente e aos procedimentos de manejo são associados à saúde da glândula mamária em rebanhos leiteiros. Exemplos de fatores relacionados ao animal identificados como de risco para mastite são: número de parições, período de lactação (início e final), alta produção e escape de leite no momento da ordenha (Omoro et al., 1996; Peeler et al., 2000). Fatores associados ao manejo e características do rebanho como tamanho e tipo de ordenha (manual ou mecânica) e procedimentos durante a ordenha (não desinfecção dos tetos antes e após a ordenha) foram associados à ocorrência de novas infecções intramamárias e ao aumento da contagem de células somáticas (CCS) (Oliver et al., 1993; Brito et al., 1998). Funcionamento inadequado do equipamento de ordenha e o não treinamento e falta de motivação dos ordenhadores foram associados à ocorrência de novas infecções e, conseqüentemente, ao aumento da CCS do leite do tanque (CCSLT) ou rebanho (Spencer, 2002; Cavazos, 2003).

A CCSLT proporciona uma medida indireta do percentual de quartos mamários infectados no rebanho, obedecendo relação diretamente proporcional entre a contagem de células somáticas e o número de quartos mamários infectados no rebanho (Philpot e Nickerson, 1991). A utilização de areia na cama das vacas em lactação ao invés de matéria orgânica, as boas condições higiênicas do estábulo, a imersão dos tetos em solução desinfetante após a ordenha, o tratamento à secagem, o tratamento imediato dos casos clínicos com antimicrobianos, o descarte de animais-problema e a segregação de animais infectados no momento da ordenha, bem como a utilização de unidades de ordenha específicas para esses animais, foram identificados como fatores que reduzem a CCSLT (Hueston et al., 1990, Wilson et al., 1997; Barkema et al., 1998, Berry e Hillerton, 2002).

Estudos sobre fatores de risco para a mastite e seu impacto econômico foram realizados em países de pecuária leiteira desenvolvida, onde, a maioria dos rebanhos é composta por animais de alta produção criados em sistemas de confinamento total ou parcial (Schukken et al., 1989; Wilson et al., 1997; Barkema et al., 1999; Ott e Novak, 2001). No Brasil, parte significativa dos rebanhos é constituída por animais mestiços, criados em sistema a pasto ou semi-estabulado e há carência de trabalhos de avaliação dos fatores de risco para mastite. O estudo teve como objetivo identificar e quantificar fatores relacionados às características de rebanho, procedimentos de manejo durante a ordenha e higienização do equipamento de ordenha que influenciam na CCSLT.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em 175 rebanhos da bacia leiteira da Zona da Mata de Minas Gerais no período de junho de 2000 a dezembro de 2001. Foi aplicado um questionário aberto aos responsáveis pelos rebanhos para obter informações sobre a propriedade e a composição do rebanho (tempo na atividade, número de vacas em lactação, número de vacas secas, número de vacas de acordo com a lactação, produção total de leite/dia, formas de exploração, local de ordenha, tipo de ordenha, raça do rebanho), manejo e cuidados higiênicos durante a ordenha e procedimentos que visam o controle e prevenção de mastite (linha de ordenha, exame dos primeiros jatos, lavagem e secagem dos tetos antes da ordenha, forma de secagem dos tetos, desinfecção dos tetos antes e após a ordenha, fornecimento de alimento durante a ordenha, imersão do conjunto de teteiras entre a ordenha de cada vaca, tratamento à secagem, tratamento de casos clínicos); características e higienização da ordenhadeira mecânica (disponibilidade de água quente na sala de ordenha, utilização de detergentes alcalino, ácido e sanitizante na limpeza do equipamento, manutenção da ordenhadeira, hábitos higiênicos dos ordenhadores, treinamento dos

ordenhadores e idade do equipamento de ordenha). Os rebanhos foram classificados de acordo com a média geométrica dos resultados de seis CCSLT consecutivas correspondendo a um período máximo de seis meses e pelo menos uma análise mensal. As seis análises utilizadas para composição da média geométrica foram as três últimas e as três primeiras em relação à data de aplicação do questionário. O valor de referência para classificação dos rebanhos foi 500.000 células/ml devido este valor se capaz de dividir em dois grupos com números de rebanhos aproximados. As análises para identificação dos fatores de risco foram realizadas considerando as seguintes situações: todos os rebanhos (175), rebanhos com ordenha mecânica (82), rebanhos com ordenha manual (92) e rebanhos com média geométrica menor que 250.000 células/ml (37) e maior que 750.000 células/ml (38) classificados de acordo com a análise de conglomerados com base na média geométrica da CCSLT.

Foram realizadas análises bivariadas para testar associações entre cada variável independente. O teste t foi usado para variáveis contínuas e o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para variáveis categóricas. Os critérios de decisão para a escolha dos fatores de risco foram aqueles que ofereciam explicação biológica coerente na alteração da CCSLT e que na associação apresentaram  $P < 0,20$  (Agger et al., 1994). Após a seleção das possíveis variáveis independentes foi aplicada uma série de modelos de regressão logística tendo como variável dependente (resposta) a classificação dos rebanhos de acordo com a CCSLT, e como variáveis independentes

(explicativas) fatores anteriormente selecionados e relacionados às características do rebanho, às práticas de manejo durante a ordenha e higienização do equipamento de ordenha. Após a seleção do modelo final de regressão logística foram observados os coeficientes (odds ratio (OR) – estimadores do risco relativo) de cada variável independente para se estimar o grau de risco (Frankena e Graat, 1997). O número de variáveis independentes consideradas foi o máximo em função do número de rebanhos em cada classe de CCSLT de acordo com as situações citados anteriormente. As variáveis contínuas número de vacas em lactação, produção diária do rebanho (litros/dia) e percentual do rebanho no período seco foram categorizadas pois apresentaram grande variação em relação às médias além de facilitar a interpretação de seus coeficientes caso os mesmos fossem significativos nos modelos de regressão logística. Os limites das categorias foram determinados de forma que não houvesse diferenças acentuadas em termos de número de rebanhos em cada categoria. As análises dos dados foram realizadas utilizando-se o programa estatístico Statistical...(1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 175 rebanhos incluídos no estudo 92 (52,6%) adotavam a ordenha manual e 82 (46,9%) a ordenha mecânica.

Um total de 22 rebanhos foram rejeitados para análise por apresentarem informações insuficientes (Tab.1).

Tabela 1. Rebanhos selecionados, rejeitados e utilizados no modelo final de regressão logística de acordo com as situações estudadas, 2000/2001

Rebanho	Situação							
	1		2		3		4	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Selecionados	175 <sup>1</sup>	100,0	82	100,0	92	100,0	79	100,0
RADAD	22	12,6	11	13,4	4	4,3	4	5,0
RIAMG $\leq$ 500	75	49,0	40	56,3	38	43,2	-	-
RIAMG $>$ 500	78	51,0	31	43,7	50	56,8	-	-
RIAMG $\leq$ 250	-	-	-	-	-	-	37	49,3
RIAMG $\geq$ 750	-	-	-	-	-	-	38	50,7

<sup>1</sup> haviam rebanhos sem informações; RADAD - rebanhos rejeitados na análise devido à ausência de dados; RIAMG $\leq$ 500 - rebanhos incluídos na análise com média geométrica da CCSLT $\leq$ 500.000 células/ml; RIAMG $>$ 500 - rebanhos incluídos na análise com média geométrica da CCSLT $>$ 500.000 células/ml; RIAMG $\leq$ 250 - rebanhos incluídos na análise com média geométrica da CCSLT $\leq$ 250.000 células/ml

Na maioria dos rebanhos os proprietários estavam há mais de dez anos na atividade (Tab.2) e os rebanhos eram formados por animais mestiços (Holandês-Gir com diferentes graus de sangue). O principal sistema de exploração foi o semi-estabulado, seguido pelo sistema de produção a pasto e de confinamento total (*free-stall*). Aproximadamente a metade das propriedades adotava a ordenha mecânica. Entre aquelas que adotavam ordenha mecânica, o número das que utilizavam ordenha mecânica canalizada foi maior em relação à ordenha mecânica balde ao pé. Em 94 rebanhos (53,7%) havia sala de ordenha. Em 80,0% e 74,9% dos rebanhos haviam no mínimo 60,0% de vacas até a terceira lactação e mais de 50,0% das vacas no período seco, respectivamente.

O tratamento dos casos clínicos de mastite foi o único procedimento realizado em praticamente todos os rebanhos. A adoção dos demais procedimentos relacionados ao controle da mastite variou de 27,4% (tratamento à secagem em todos os

animais) a 65,1% (segregação dos animais com mastite clínica).

Os dados relativos à frequência dos procedimentos e dos cuidados higiênicos ligados à prevenção de novas infecções mostraram que essas medidas não estavam bem difundidas, com exceção ao tratamento dos casos clínicos (Tab.3). Procedimentos como a lavagem das tetas antes da ordenha e secagem com papel toalha individual e tratamento à secagem em todos os animais influenciam na frequência e controle de mastite do rebanho (Oliver et al., 1993; Brito et al., 1998). Seleção de animais para realização do tratamento à secagem e utilização de pano comum para secagem dos tetos após realização da lavagem e/ou realização de antissepsia antes da ordenha foram procedimentos inadequados identificados. O tratamento à secagem em parte do rebanho favorece o aparecimento de novas infecções intramamárias durante o período seco e no momento do parto (Berry e Hillerton, 2002).

Tabela 2. Freqüências das variáveis qualitativas e quantitativas relacionadas às características dos rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais – Brasil, 2000/2001.

Variável	Categoria	n <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	≤500.000 <sup>3</sup>	>500.000 <sup>3</sup>
Tempo na atividade (anos)	≤ 10	64	36,6	35	29
	11 a 20	43	24,6	18	25
	> 20	66	37,7	36	30
Sistema	Confinado ( <i>Free stall</i> )	14	8,0	8	6
	A pasto	51	29,1	30	21
	Semi-estabulado	110	62,9	51	59
Tipo de ordenha	Manual	92	52,6	41	51
	Mecânica balde ao pé	36	20,6	22	14
	Mecânica canalizada	46	26,3	25	21
Local de ordenha	Curral	133	76,0	70	63
	Sala de ordenha	39	22,3	16	23
Vacas em lactação	< = 30	66	37,7	38	28
	31 a 60	43	24,6	18	25
	> 60	64	36,6	32	32
Percentual do rebanho nas 3 primeiras lactações	0 a 59%	23	13,1	8	15
	60 a 79%	66	37,7	40	26
	80 a 100%	77	44,0	35	42
Vacas secas no rebanho (%)	< = 20	38	21,7	22	16
	21 a 50	120	68,6	60	60
	> 50	15	8,6	7	8
Produção leite/dia (litros)	< = 300	73	41,7	43	30
	301 a 500	25	14,3	15	10
	> 500	73	41,7	30	43
Raça do rebanho	Holandesa	34	19,4	17	17
	Mestiço	140	80,0	72	68

<sup>1</sup> soma total diferente de 175 por falta de resposta para variável no questionário; <sup>2</sup> soma total diferente de 100 por falta de resposta para variável no questionário; <sup>3</sup> células/ml

Em 53,0% das propriedades os equipamentos de ordenha tinham no máximo quatro anos de uso e em menos de 10,0% os equipamentos tinham mais de dez anos de uso (Tab.4), indicando que nos últimos anos houve aumento na aquisição de equipamentos ordenha. Em decorrência disso as propriedades passaram a necessitar de assistência técnica especializada e adotaram procedimentos de rotina relacionados à higienização do equipamento. Observou-se que 34,1% das propriedades não faziam manutenção dos equipamentos ou a faziam de forma esporádica e que 68,3% dispunham de água quente e de dispositivo para limpeza automática do equipamento.

O detergente alcalino era utilizado em 93,9% das propriedades, seguido pelo detergente ácido e sanitizante com 85,4% e 61,0%, respectivamente. Treinamento para limpeza do equipamento de ordenha e hábitos higiênicos adequados foram descritos em 84,1% e 86,6% das propriedades, respectivamente. O funcionamento inadequado do equipamento de ordenha, a falta de treinamento e motivação do pessoal responsável pela operação e higienização do equipamento e, a não adoção de procedimentos recomendados em programas de controle e prevenção da mastite interagem e influenciam na freqüência de mastite no rebanho e conseqüentemente na CCSLT (Spencer, 2002; Brito et al., 2002; Cavazos, 2003).

Tabela 3. Freqüências das variáveis qualitativas e quantitativas relacionadas aos procedimentos de manejo e cuidados higiênicos durante a ordenha dos rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais – Brasil, 2000/2001

Variável	Categoria	n <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	<500.000 <sup>3</sup>	>500.000 <sup>3</sup>
Linha de ordenha	Não	59	33,7	31	28
	Sim	114	65,1	58	56
Exame dos primeiros jatos	Não	128	73,1	69	59
	Sim	45	25,7	19	26
Presença de bezerro	Não	60	34,3	30	30
	Sim	101	57,7	51	50
Lava tetos antes da ordenha	Não	92	52,6	44	48
	Sim	81	46,3	45	36
Seca os tetos após lavagem	Não	68	38,9	33	35
	Sim	81	46,3	45	36
Como seca os tetos após lavagem	Pano comum	22	12,6	12	10
	Papel toalha	48	27,4	25	23
Realização de anti-sepsia dos tetos antes da ordenha	Não	123	70,3	65	58
	Sim	51	29,1	23	28
Vacas são alimentadas durante a ordenha	Não	104	59,4	59	45
	Sim	67	39,3	28	39
Realização de anti-sepsia dos tetos após a ordenha	Não	121	69,1	62	59
	Sim	54	30,9	27	27
Imersão conjunto de teteiras em solução entre a ordenhas de animais	Não	61	74,4	35	26
	Sim	20	24,4	12	8
Tratamento à secagem	Nenhum animal	74	42,3	37	37
	Parte dos animais	52	29,7	25	27
	Todos animais	48	27,4	26	22
Tratamento de mastite clínica	Não	2	1,1	87	84
	Sim	171	97,7	1	1

<sup>1</sup> soma total diferente de 175 por falta de resposta para variável no questionário; <sup>2</sup> soma total diferente de 100 por falta de resposta para variável no questionário; <sup>3</sup> células/ml

Tabela 4. Frequências das variáveis qualitativas relacionadas aos procedimentos de higienização e idade do equipamento de ordenha dos rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil, 2000/2001

Variável	Categoria	n <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	<500.000 <sup>3</sup>	>500.000 <sup>3</sup>
Idade equipamento de ordenha (anos)	< = 4	47	57,3	30	17
	5 a 10	24	29,3	12	12
	> 10	8	9,8	3	5
Manutenção do equipamento de ordenha	Pelo menos semestral	46	56,1	26	20
	Esporádico	12	14,6	8	4
	Não faz	16	19,5	31	25
Disponibilidade água quente	Não	26	31,7	16	10
	Sim	56	68,3	31	25
Uso de detergente alcalino	Não	2	2,4	1	1
	Sim	77	93,9	46	31
Uso de detergente ácido	Não	4	4,9	2	2
	Sim	70	85,4	42	28
Uso de sanitizante	Não	7	8,5	5	2
	Sim	50	61,0	27	23
Limpeza do equipamento de ordenha	Automático	56	68,3	32	24
	Manual	26	31,7	15	11
Treinamento dos ordenhadores para realizar limpeza do equipamento de ordenha	Não	13	15,9	6	7
	Sim	69	84,1	41	28
Hábitos higiênicos dos ordenhadores	Inadequado	10	12,2	6	4
	Adequado	71	86,6	41	30

<sup>1</sup> soma total diferente de 82 por falta de resposta para variável no questionário; <sup>2</sup> soma total diferente de 100 por falta de resposta para variável no questionário; <sup>3</sup> células/ml

A frequência das variáveis usadas nos modelos finais, bem como a média dos valores de CCSLT para cada variável são apresentados nas Tab. 5, 6, 7 e 8. O nível de significância dos modelos finais de regressão logística para as situações estudadas foi  $P < 0,05$ . As variáveis usadas nos modelos finais que apresentaram risco (OR) acima de 2,0 e com  $P \leq 0,10$  foram: não-antissepsia dos tetos após a ordenha,

fornecimento de alimento no momento da ordenha, não adoção de linha de ordenha e as interações de não adoção de linha de ordenha e não antissepsia dos tetos após a ordenha com fornecimento de alimento no momento da ordenha. A não desinfecção dos tetos antes da ordenha e o não uso de água quente ou não treinamento dos ordenhadores apresentaram OR de 7,62 ( $p=0,17$ ) e 2,97 ( $p=0,17$ ), respectivamente (Tab.9).

Tabela 5. Frequências e médias da CCSLT de acordo com as variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística para análise de rebanhos bovinos leiteiros - Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil, 2000/2001

Variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística	CCSLT				Total n	Média*
	< 500.000		> 500.000			
	n	%	n	%		
Tipo de ordenha						
Mec. canalizada	25	54,3	21	45,7	46	600
Mec. balde ao pé	22	68,8	14	43,8	36	535
Manual	41	44,6	51	55,4	92	523
% vacas lactação 1, 2 e 3						
0 a 59%	8	34,8	15	65,2	23	599
60 a 79%	40	60,6	26	39,4	66	522
80 a 100%	35	45,5	42	54,5	77	551
Local de ordenha						
Curral	70	52,6	63	47,4	133	550
Sala de ordenha	16	41,0	23	59,0	39	543
Exame dos primeiros jatos						
Sim	19	42,2	26	57,8	45	564
Não	69	53,9	59	46,1	128	538
Antissepsia dos tetos antes da ordenha						
Sim	23	45,1	28	54,9	51	582
Não	65	52,8	58	47,2	123	530
Antissepsia dos tetos após a ordenha						
Sim	27	50,0	27	50,0	54	558
Não	62	51,2	59	48,8	121	538
Linha x fornecimento de alimento**						
Sim	40	59,7	27	40,3	67	474
Não	47	46,1	55	53,9	102	585

\*Média aritmética \*\*Linha de ordenha e não fornecimento de alimento durante a ordenha

Nos modelos finais, o sistema de ordenha e rebanhos com até 79% dos animais nas três primeiras lactações não foram fatores de risco para CCSLT acima de 500.000 células/ml. Os principais fatores de risco identificados para CCSLT acima de 500.000 células/ml foram: ausência de antissepsia dos tetos, antes e após ordenha, e não realização de linha de ordenha. As interações que apresentaram resultados que sugeriram possíveis fatores de risco para CCSLT acima de 500.000 células/ml foram aquelas que ocorreram entre a não realização de anti-sepsia dos tetos após a ordenha, linha de ordenha com fornecimento de alimento durante a ordenha e higienização do equipamento de ordenha (ausência de água quente e/ou treinamento dos ordenhadores). Apesar da ausência de anti-sepsia dos tetos antes da ordenha e a

interação entre fatores relacionados à higienização terem apresentado risco (OR) de 7,62 e 2,93, respectivamente ( $p=0,17$ ) nos seus modelos, esses podem ser considerados possíveis fatores de risco devido ao alto valor encontrado para OR. Fatores de risco identificados, para rebanhos com CCSLT de 250.000 células/ml elevarem essa contagem para 750.000 células/ml, foram o fornecimento de alimento durante a ordenha e ausência de linha de ordenha.

As vacas em lactação, utilizado nos modelos finais como variável contínua, aumentou o nível de significância dos modelos e exacerbou os valores da OR e respectivas significâncias, sugerindo que o tamanho do rebanho foi importante característica para análise de risco.

Tabela 6. Frequências e médias da CCSLT de acordo com as variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística para rebanhos bovinos leiteiros com equipamento de ordenha - Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil, 2000/2001

Variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística	CCSLT					Média
	< 500.000		> 500.000		Total	
	n	%	n	%	n	
Tipo de ordenha						
Mec. canalizada	25	54,3	21	45,7	46	601
Mec. balde ao pé	22	61,1	14	38,9	36	535
% vacas lactação 1, 2 e 3						
0 a 59%	5	50,0	5	50,0	10	613
60 a 79%	22	61,1	14	38,9	36	590
80 a 100%	15	51,7	14	48,3	29	563
Exame dos primeiros jatos						
Sim	6	50,0	6	50,0	12	592
Não	40	58,8	28	41,2	68	572
Anti-sepsia dos tetos após a ordenha x Fornecimento de alimento**						
Sim	10	83,3	2	16,7	12	534
Não	36	52,9	32	47,1	68	583
Higiene***						
Sim	27	61,4	17	38,6	44	523
Falta água quente ou treinamento do ordenhador	14	63,6	8	36,4	22	599
Falta mais de um item	6	37,5	10	62,5	16	669

\*Média aritmética; \*\* Antissepsia das tetos após a ordenha e não fornecimento de alimento durante a ordenha; \*\*\* Utiliza água quente, detergentes alcalino e ácido na limpeza do equipamento de ordenha e treinamento dos ordenhadores

As interações fornecimento de alimento durante a ordenha versus não adoção de linha de ordenha e fornecimento de alimento durante a ordenha versus não adoção de anti-sepsia dos tetos após a ordenha foram os possíveis fatores de risco testados nos modelos que apresentaram maiores níveis de significância para o OR. Dessa forma, sugere-se que para a identificação e quantificação de possíveis fatores de risco em modelos de regressão logística, tendo como referência a CCSLT, seria necessária a criação de uma variável originada do agrupamento de duas ou mais variáveis. Agrupar variáveis para criar uma nova variável que possa ser analisada como fator de risco poderia ser uma solução para direcionar procedimentos de forma geral, mas não permitiria identificar qual o

procedimento, de forma isolada, que mais contribui para o aumento da CCSLT.

A identificação dos fatores de risco para mastite tendo como referência a CCSLT é objetiva e de baixo custo, mas os resultados devem ser interpretados considerando-se as características gerais do rebanho e de procedimentos comuns a todos os animais. Para identificar possíveis fatores de risco para mastite associada às características do rebanho, aos procedimentos de manejo e às características individuais dos animais em uma determinada população de bovinos leiteiros ou em estratos dessa população, é necessário obter informações individuais por meio da contagem de células somáticas e/ou exames microbiológicos dos animais.

Tabela 7. Frequência e médias da CCSLT de acordo com as variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística para rebanhos bovinos leiteiros sem equipamento de ordenha - Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil, 2000/2001

Variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística	CCSLT				Total n	Média*
	< 500.000		> 500.000			
	n	%	n	%		
<b>% vacas lactação 1, 2 e 3</b>						
0 a 59%	2	16,7	10	83,3	12	626
60 a 79%	18	60,0	12	40,0	30	440
80 a 100%	20	41,7	28	58,3	48	543
<b>Local de ordenha</b>						
Curral	29	48,3	31	51,7	60	501
Sala de ordenha	12	37,5	20	62,5	32	564
<b>Exame dos primeiros jatos</b>						
Sim	12	37,5	20	62,5	32	567
Não	29	48,3	31	51,7	60	500
<b>Anti-sepsia dos tetos antes da ordenha</b>						
Sim	13	40,6	19	59,4	32	572
Não	27	45,8	32	54,2	59	500
<b>Anti-sepsia dos tetos após a ordenha</b>						
Sim	14	40,0	21	60,0	35	572
Não	27	47,4	30	52,6	57	494

\*Média aritmética

Tabela 8. Frequências e médias da CCSLT de acordo com as variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística para rebanhos bovinos leiteiros classificados de acordo com análise de conglomerados - Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil, 2000/2001

Variáveis utilizadas no modelo final de regressão logística	CCSLT				Total n	Média*
	< 250.000		> 750.000			
	n	%	n	%		
<b>Tipo de ordenha</b>						
Mec. canalizada	4	26,7	11	73,3	15	884
Mec. balde ao pé	5	41,7	7	58,3	12	676
Manual	28	45,9	23	37,7	61	516
<b>% vacas lactação 1, 2 e 3</b>						
0 a 59%	4	50,0	4	50,0	8	642
60 a 79%	18	54,5	15	45,5	33	596
80 a 100%	16	43,2	21	56,8	37	596
<b>Anti-sepsia dos tetos após a ordenha</b>						
Sim	4	25,0	12	75,0	16	758
Não	34	54,0	29	46,0	63	567
<b>Fornecimento de alimento durante ordenha</b>						
Sim	15	42,9	20	57,1	35	652
Não	23	52,3	21	47,7	44	569
<b>Linha de ordenha</b>						
Sim	33	55,9	26	44,1	59	545
Não	5	27,8	13	72,2	18	757

\*Média aritmética

Tabela 9. Nível de significância (p) dos modelos finais de regressão logística, valores de Odds Ratio (OR) e nível de significância (p) para variáveis utilizadas nos modelos de acordo com as situações estudadas

Modelo final de regressão logística	Situação							
	1		2		3		4	
Graus de liberdade	10		8		7		7	
Nível de significância (p)	0,0007		0,0242		0,0338		0,0010	
<b>Possíveis fatores de risco</b>	<b>OR*</b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>p</b>
Ordenha mecânica balde ao pé	1,66	0,35	0,62	0,47	-	-	0,12	0,01
Ordenha manual	0,47	0,19	-	-	-	-	0,06	0,02
60 a 79% de vacas na lactação 1, 2 e 3	1,71	0,35	3,31	0,20	2,78	0,22	0,51	0,55
80 a 100% de vacas na lactação 1, 2 e 3	0,30	0,00	0,64	0,47	0,28	0,02	0,21	0,03
Curral como local de ordenha	0,52	0,20	-	-	0,32	0,08	-	-
Não realiza exame dos primeiros jatos	0,64	0,49	0,29	0,24	0,48	0,40	-	-
Não realiza antissepsia antes da ordenha	0,46	0,27	-	-	7,62	0,17	-	-
Não realiza antissepsia após a ordenha	3,00	0,10	-	-	0,29	0,33	-	-
Fornece alimento durante a ordenha	-	-	-	-	-	-	2,68	0,09
Não realiza linha de ordenha	-	-	-	-	-	-	6,75	0,06
Não realiza linha de ordenha e/ou fornece alimento durante a ordenha	2,33	0,03	-	-	-	-	-	-
Não realiza antissepsia após a ordenha e/ou fornece alimento durante a ordenha	-	-	7,57	0,06	-	-	-	-
Ausência de água quente ou não treinamento do ordenhador	-	-	2,97	0,17	-	-	-	-
Ausência de + de 1item relacionado a higiene <sup>1</sup>	-	-	1,50	0,55	-	-	-	-
Número de vacas em lactação**	1,00	0,03	1,01	0,03	1,00	0,34	-	-

\*OR – Odds Ratio (estimador do risco relativo); \*\*Número de vacas em lactação foi utilizada no modelo como variável contínua; <sup>1</sup> Água quente, detergente alcalino, detergente ácido e treinamento do ordenhador

## CONCLUSÕES

A anti-sepsia dos tetos antes e após a ordenha, a linha de ordenha, o não fornecimento de alimento durante a ordenha foram identificados como procedimentos que contribuíram para evitar altas contagens de células somáticas no rebanho. A adoção destes procedimentos pode reduzir a médio ou curto prazo a CCSLT.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGER, J.F., PRIOU, C., HUDA, A. et al. K. Risk factors for transmission of *Streptococcus agalactiae* infection between Danish dairy herds: a case control study. *Veterinary Research*, v.25, n.2-3, p.227-234, 1994.

BARKEMA, H.W., SCHUKKEN, Y.H., LAM, T.J.G.M. et al. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *Journal Dairy Science*, v. 81, n.7, p.1917-1927, 1998.

BARKEMA, H.W., VAN DER PLOEG, J.D., SCHUKKEN, Y.H. et al. Management style and its association with bulk milk somatic cell count and incidence rate of clinical mastitis. *Journal Dairy Science*, v.82, n.8, p.1655-1663, 1999.

BERRY, E. A., HILLERTON, J. E. The effect of selective dry cow treatment o new intramammary infections. *Journal Dairy Science*, v.85, n.1, 112-121, 2002.

BRITO, M.A.V.P., BRITO, J.R.F., VEIGA, V.M.O. et al. Udder infection patterns in hand and machine milked dairy herds under subtropical conditions. In: PANAMERICAN CONGRESS ON MASTITIS CONTROL AND MILK QUALITY, 1, 1998, Merida. *Proceedings...* Merida: 1998. p.148-151.

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

- CAVAZOS, F. Useful ideas and principles for the implementation of reinforcement programs to keep milkers motivated. In: ANUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 42., 2003, Fort Worth. *Proceedings...* Madison: NMC, 2003. p.77-85.
- FRANKENA, K., GRAAT, E.A.M. Multivariate analysis: logistic regression. In: NOORDHUIZEN, J.P.T.M., FRANKENA, K. et al. *Application of quantitative methods in veterinary epidemiology*. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. p.135-178.
- HUESTON, W.D., HEIDER, L.E., HARVEY, W.R. et al. Determinants of high somatic cell count prevalence in dairy herds practicing teat dipping and dry cow therapy and with no evidence of *Streptococcus agalactiae* on repeated bulk tank milk examination. *Preventive Veterinary Medicine*, v.9, p.131-142, 1990.
- OLIVER, S.P., LEWIS, M.J., INGLE, T.L. et al. Prevention of bovine mastitis by a premilking teat disinfectant containing chlorous acid and chlorine dioxide. *Journal Dairy Science*, v. 76, n.1, p.287-292, 1993.
- OMORE, A.O., McDERMOTT, J.J., ARIMI, S.M. et al. A longitudinal study of milk somatic cell counts and bacterial culture from cows on smallholder dairy farms in Kiambu District, Kenya. *Preventive Veterinary Medicine*, v.29, n.1, p.77-89, 1996.
- OTT, S.L., NOVAK, P.R. Association of herd productivity and bulk-tank somatic cell counts in US dairy herds in 1996. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.218, n.8, p.1325-1329, 2001.
- PEERLER, E.J., GREEN, M.J., FITZPATRICK, J.L. et al. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. In: SYMPOSIUM OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR VETERINARY EPIDEMIOLOGY AND ECONOMICS, 9, 2000, Breckenridge. *Proceedings...* Breckenridge: ISVEE, 2000. 1 CD.
- PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. *Mastitis: counter attack*. A strategy to combat mastitis. Naperville: Babson Bros., 1991. 150 p.
- SCHUKKEN, Y.H., VAN DE GEER, D., GROMMERS, F.J. et al. Intramammary infections and risk factors for clinical mastitis in herds with low somatic cell counts in bulk milk. *Veterinary Record*, v.125, p.393-396, 1989.
- SPENCER, S. B. Equipamento de ordenha X Controle de mastite e qualidade do leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2., 2002, Ribeirão Preto. *Anais...*São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2002. p.119-148.
- STATISTICAL Package for the Social Science, versão 8.0. Chicago: SPSS Inc. 1998.
- WILSON, D. J., HELENA, H. D., GONZALEZ, R. N. et al. Association between management practices, dairy herd characteristics, and somatic cell count of bulk tank milk. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.210, n.10, p.1499-1502, 1997.

## CAPÍTULO 2

### FONTES DE VARIAÇÃO PARA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM VACAS LEITEIRAS

(*Variation sources for somatic cell counts in dairy cows*)

#### RESUMO

Avaliaram os fatores responsáveis pela variação da contagem de células somáticas (CCS) em vacas. Foram coletadas 3.987 amostras de leite de 2.657 animais oriundos de 24 rebanhos leiteiros localizados nos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. As amostras de leite foram usadas para a CCS e a identificação de patógenos da mastite de junho de 2002 a julho de 2003. Estatísticas descritivas, teste t de Student para amostras independentes e modelos lineares generalizados foram usados para avaliar a CCS de acordo com a presença ou ausência da infecção intramamária. Os modelos lineares generalizados identificaram os efeitos de rebanho, animal dentro de rebanho, ordem de parto, estação do ano, presença de infecção intramamária e infecção intramamária causada por *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* como significativos na variação da CCS. Os efeitos de rebanho e de animal dentro de rebanho foram responsáveis por mais de 60% da variação da CCS. O efeito de animal dentro de rebanho foi maior que o efeito de rebanho. Presença de infecção intramamária foi o fator predominante responsável pelo aumento da CCS. Animais com infecção intramamária apresentaram aproximadamente o dobro da CCS em relação a animais não infectados. Foi observado efeito específico dos patógenos na variação da CCS. O leite de vacas infectadas com *S. agalactiae* apresentou a maior média de CCS (1.520.000 células/ml).

Palavras-chave: mastite bovina, contagem de células somáticas, qualidade do leite

#### ABSTRACT

Factors that influence the cows variation of somatic cell count (SCC) were evaluated. A total of 3,987 milk samples were collected from 2,657 dairy cows in 24 herds located in Minas Gerais and Rio de Janeiro States. The milk samples were collected to SCC and identification of mastitis pathogens from June 2002 to July 2003. Descriptive statistics, Student t test for independent samples and generalized linear models were used to evaluate SCC according to presence or absence of intramammary infection. The generalized linear models identified the effects of herd, animal within herd, parity, year season, intramammary infection and infection caused by *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus* spp. except *S. agalactiae* as significant on SCC variation. The effects of herd and animal within herd were responsible for more than 60% of SCC variation. The effect of animal within herd was higher than the effect of herd. Presence of intramammary infection was the predominant factor responsible for the SCC increasing. Animals with intramammary infection presented SCC about two fold higher than animals without infection. The specific effect of mastitis agents on SCC variation was observed in the study. Milk samples from infected cows with *S. agalactiae* presented the highest medium value of SCC (1.520.000 cells/ml).

Key-words: bovine mastitis, somatic cell counts, milk quality

## INTRODUÇÃO

A contagem de células somáticas (CCS) de vacas tem sido usada como ferramenta para monitorar os níveis de mastite em rebanhos leiteiros. Vários fatores podem influenciar a variação da CCS, como idade, ordem de parto, período de lactação, mês e estação do ano, entre outros, porém o estado de infecção é o principal fator responsável pela variação da CCS (Harmon, 1994).

A mastite é reconhecida como uma doença fortemente relacionada ao manejo do rebanho e considera-se que 90% dos casos de mastite são controlados com o manejo conforme Current... (1996). Apesar da que a característica de rebanho ser, às vezes, considerada a principal fonte de variação, existe grande variação de resposta entre os animais para características idênticas de manejo.

Estudos têm mostrado que a relativa importância do rebanho em explicar a variação da CCS é menor que a variação devido à vaca individualmente (Kennedy et al., 1982, Vecht et al., 1989, Schepers et al., 1997). Schepers et al. (1997) mostraram que o componente de variação explicado por vacas individuais para a CCS é muito maior do que o explicado para rebanho. O objetivo do estudo foi determinar os fatores que influenciam a CCS de vacas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostra

O trabalho foi conduzido em 24 rebanhos bovinos leiteiros dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, em três etapas, de junho de 2002 a julho de 2003. Os rebanhos foram selecionados de acordo com o histórico da CCS dos rebanhos. Os rebanhos se localizavam nos municípios de Juiz de Fora-MG (1), Coronel Pacheco-MG (2), Matias Barbosa-MG (1), Belo Horizonte-MG (1), Rio Preto-MG (3), Areal-RJ (1), Valença-RJ (2), Conservatória-RJ (2), Itaperuna-RJ (4), Porciúncula-RJ (4) e Natividade-RJ (3). Foram coletadas no total

3.987 amostras de leite oriundas de 2.657 animais.

### Coleta de amostras de leite

Foram coletadas amostras de leite três vezes de todos os animais em lactação, excluindo os que apresentaram mastite clínica no momento da coleta e que estavam sendo submetidos a algum tipo de tratamento com antibióticos. As amostras para exames bacteriológicos foram obtidas imediatamente antes da ordenha após cuidadosa anti-sepsia dos tetos com álcool a 70% (v/v). As amostras de leite foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e transportadas dentro de 24 horas para os laboratórios da Embrapa Gado de Leite. Os procedimentos de coleta das amostras de leite foram de acordo com Brito (2001) e Harmon et al. (1990). As amostras de leite dos animais para CCS foram coletadas em frascos específicos contendo o conservante Bonopol® e para exames bacteriológicos em frascos estéreis.

### Análises laboratoriais

A CCS do leite dos animais foi realizada no Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite em equipamento automatizado por meio de citometria de fluxo (Bentley – Somacount 300) de acordo com o Milk... (1995).

Os patógenos da mastite foram identificados no Laboratório de Microbiologia do Leite da Embrapa Gado de Leite.

Para isso, semeou-se 0,01 ml de cada amostra de leite, com alça calibrada descartável, em cada quadrante de uma placa de ágar-sangue preparado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas e foi feita a primeira leitura, seguindo-se nova incubação por mais 24 horas para a segunda leitura. As colônias isoladas no ágar-sangue foram observadas quanto à morfologia, tamanho, pigmentação e presença de hemólise. Os microrganismos isolados foram observados ao microscópio

por meio de esfregaços corados pelo método de Gram. A significância do número de colônias dos microrganismos isolados foi interpretada segundo critérios propostos pelo Laboratory...(1987).

Os microrganismos foram identificados a partir de subcultivos em placas de ágar-soja tripticaseína, de acordo com recomendações de Harmon et al. (1990). Bactérias do gênero *Streptococcus* foram identificadas pela ausência de produção de catalase e pelos testes de CAMP (Christie, Atkins e Munch-Peterson), hidrólise do hipurato de sódio, crescimento em meio com 6,5% de NaCl e hidrólise da esculina. A classificação foi feita de acordo com Hoblet et al. (1986) da seguinte maneira: (1) *S. agalactiae*: reação positiva nos testes de CAMP e hidrólise do hipurato de sódio, crescimento variável em meio com 6,5% de NaCl e reação negativa no teste de hidrólise da esculina, (2) *Streptococcus* spp. esculina positivos (ESCPOS): reação variável no teste de CAMP, na hidrólise do hipurato e em meio com 6,5% de NaCl e resultado positivo na hidrólise da esculina. Neste grupo incluem-se *S. uberis*, *S. bovis*, espécies de *Enterococcus* e outras espécies de *Streptococcus* que hidrolisam a esculina e (3) *Streptococcus* spp. esculina negativos (ESCNEG): reação negativa no teste de CAMP, de hidrólise da esculina e do hipurato de sódio e ausência de crescimento em presença de 6,5% de NaCl. Neste grupo estão incluídos *S. dysgalactiae* e outros *Streptococcus* spp. esculina-negativos.

As bactérias do gênero *Staphylococcus* foram classificadas em coagulase negativos e *Staphylococcus aureus* de acordo com a produção de catalase, coagulação do plasma de coelho e produção de acetoina.

Bastonetes Gram-positivos pequenos, pleomórficos e não esporulados, com morfologia semelhante a difteróides, foram identificados como *Corynebacterium* spp. Para isso, as seguintes características foram observadas: colônias pequenas, circulares, esbranquiçadas ou cremosas, apresentando superfície rugosa, com 1 a 2 mm de diâmetro, visíveis somente após 48 horas de incubação e encontradas nas áreas mais gordurosas onde se semeava o leite, ausência de hemólise no ágar-sangue e produção de catalase.

Amostras consideradas contaminadas foram aquelas em que houve crescimento de três ou mais colônias diferentes no isolamento primário, sem o predomínio de nenhuma delas. Para análise estatística, os patógenos da mastite identificados como ESCPOS e ESCNEG foram agrupados como "*Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*".

#### **Análise estatística**

As análises dos dados foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SAS/STAT® (1990) e Statistical...(1998).

A variação da CCS dos animais foi avaliada por meio da aplicação dos modelos lineares generalizados (Dohoo et al. 2003). Os valores de CCS foram transformados para escore linear (EL) de acordo com Philpot e Nickerson (1991) (Quadro 2). O EL foi medido para cada animal e o período de lactação (PEL) foi codificado em intervalos de 19 dias (1 para 0 a 19 dias após parto, 2 para 20 a 39 dias após parto, etc.). Para vacas com mais de 300 dias de lactação foi dado o código 16 e com mais de três partos foi codificado como 4 (OPA = 4). A codificação do período de lactação e ordem de parto foi feita de acordo com Schepers et al. (1997).

Quadro 1. Relação entre escore linear e contagem de células somática usada para análise de variância (ANOVA)

Escore linear	Contagem de células somáticas (x1.000/ml)	
	Ponto médio	Variação
0	12,5	0 – 17
1	25	18 – 34
2	50	35 – 70
3	100	71 – 140
4	200	141 – 282
5	400	283 – 565
6	800	566 – 1.130
7	1600	1.131 – 2.262
8	3200	2.263 – 4.525
9	6400	> 4.525

Fonte: Philpot e Nickerson (1991)

Para os animais que não apresentaram crescimento bacteriano nos exames microbiológicos, o modelo linear generalizado usado foi o seguinte:

$$Y_{ijklmn} = \mu + REB_i + ANI_j (H_i) + ANO_k + EST_l + OPA_m + PEL_n + e_{ijklmn}$$

onde:

$Y_{ijklmn}$  = valores observados (EL),

$\mu$  = constante associada a cada observação,

$REB_i$  = efeito fixo do rebanho  $i$  ( $i = 1$  a  $24$ ),

$ANI_j (H_i)$  = efeito aleatório de animal ( $j = 1$  a  $1152$ ) dentro do rebanho  $i$ ,

$ANO_k$  = efeito fixo do ano ( $k = 1$  ou  $2$ )

$EST_l$  = efeito fixo da estação do ano ( $l = 1$  a  $4$ )

$OPA_m$  = efeito fixo da ordem de parto ( $m = 1$  a  $4$ )

$PEL_n$  = efeito fixo do período de lactação ( $n = 1$  a  $16$ )

$e_{ijklmn}$  = erro aleatório

Para avaliar a variação do EL dos animais que apresentaram crescimento bacteriano nos exames microbiológicos, os dados foram analisados usando o mesmo procedimento citado anteriormente, porém neste modelo foi incluída uma nova fonte de

variação denominada presença de infecção intramamária (PIN). A PIN foi codificada como 1 para ausência de infecção e 2 para presença de infecção. As codificações do PEL e da OPA foram realizadas de forma semelhante à análise anterior. Para esta segunda situação o modelo foi o seguinte:

$$Y_{ijklmno} = \mu + REB_i + ANI_j (H_i) + ANO_k + EST_l + OPA_m + PEL_n + PIN_o + e_{ijklmno}$$

onde:

$Y_{ijklmno}$  = valores observados (EL),

$\mu$  = constante associada a cada observação,

$REB_i$  = efeito fixo do rebanho  $i$  ( $i = 1$  a  $24$ ),

$ANI_j (H_i)$  = efeito aleatório de animal ( $j = 1$  a  $1152$ ) dentro do rebanho  $i$ ,

$ANO_k$  = efeito fixo do ano ( $k = 1$  ou  $2$ )

$EST_l$  = efeito fixo da estação do ano ( $l = 1$  a  $4$ )

$OPA_m$  = efeito fixo da ordem de parto ( $m = 1$  a  $4$ )

$PEL_n$  = efeito fixo do período de lactação ( $n = 1$  a  $16$ )

$PIN_o$  = efeito fixo da presença de infecção intramamária ( $o = 1$  ou  $2$ )

$e_{ijklmno}$  = erro aleatório

Um terceiro modelo, apresentado a seguir, foi proposto para avaliar a variação do EL de acordo com o tipo de microrganismo isolado. As codificações do PEL e da OPA foram semelhantes às anteriores, porém, a presença da infecção intramamária foi subdividida de acordo com o agente responsável pela infecção: *S. aureus* (STAPHA), *S. agalactiae* (STRAG), *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* (STREP), *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (STACN) e *Corynebacterium* spp. (DIPT), codificando-se 1 para ausência, e 2 para presença do patógeno.

$$Y_{ijklmno} = \mu + \text{REB}_i + \text{ANI}_j (H_i) + \text{ANO}_k + \text{EST}_l + \text{OPA}_m + \text{PEL}_n + \text{STAPHA}_o + \text{STRAG}_p + \text{STREP}_q + \text{STACN}_r + \text{DIPT}_s + e_{ijklmnopqrs}$$

onde:

$Y_{ijklmnopqrs}$  = valores observados (EL),

$\mu$  = constante associada a cada observação,

$\text{REB}_i$  = efeito fixo do rebanho  $i$  ( $i = 1$  a 24),

$\text{ANI}_j (H_i)$  = efeito aleatório de animal ( $j = 1$  a 1152) dentro do rebanho  $i$ ,

$\text{ANO}_k$  = efeito fixo do ano ( $k = 1$  ou 2)

$\text{EST}_l$  = efeito fixo da estação do ano ( $l = 1$  a 4)

$\text{OPA}_m$  = efeito fixo da ordem de parto ( $m = 1$  a 4)

$\text{PEL}_n$  = efeito fixo do período de lactação ( $n = 1$  a 16)

$\text{STAPHA}_o$  = efeito fixo da presença de infecção por *S. aureus* ( $o = 1$  ou 2)

$\text{STRAG}_p$  = efeito fixo da presença de infecção por *S. agalactiae* ( $o = 1$  ou 2)

$\text{STREP}_q$  = efeito fixo da presença de infecção por *Streptococcus* spp. que não STRAG ( $o = 1$  ou 2)

$\text{STACN}_r$  = efeito fixo da presença de infecção por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo ( $o = 1$  ou 2)

$\text{DIPT}_s$  = efeito fixo da presença de infecção por *Corynebacterium* spp. ( $o = 1$  ou 2)

$e_{ijklmnopqrs}$  = erro aleatório

Estatísticas descritivas (média aritmética e geométrica, desvio padrão e mediana) foram utilizadas para avaliar a CCS dos animais de acordo com os agentes da mastite, presença de infecção e tipos de infecção e para avaliar a média do escore linear de acordo com a ordem de parto e presença de infecção. Foi aplicado o teste  $t$  para amostras independentes descrito por Sampaio (1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de resultados de exames microbiológicos e de CCS usados para as análises estatísticas foi de 3.749 amostras. Dos resultados usados para análise estatística, 1.139 (30,3%) não apresentaram crescimento bacteriano e em 2.614 (69,7%) foi identificado a presença de pelo menos um patógeno da mastite. Do total de amostras que apresentaram crescimento bacteriano, foi observada infecção mista em 404 (15,5%) amostras. Entre as amostras de leite que apresentaram crescimento bacteriano, foram isolados 826 (31,6%) *Corynebacterium* spp., 790 (30,2%) *S. aureus*, 551 (21,1%) *S. agalactiae*, 466 (17,8%) *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e 351 (13,4%) *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. Foram isolados *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em todos os rebanhos. Do total de amostras de animais, 238 (5,8%) amostras foram classificadas como contaminadas no exame microbiológico de acordo com Harmon et al. (1990).

Médias aritmética e geométrica, desvios padrão e medianas da CCS de acordo com o resultado dos exames bacteriológicos são apresentados na Tab.1. Amostras de leite sem crescimento bacteriano apresentaram em média 264.000 células/ml, com 50,0% das amostras com CCS menor ou igual a 24.000 células. Em amostras de leite com isolamento de pelo menos um patógeno da

mastite, a média da CCS foi de 779.000 células/ml e 50,0% das amostras apresentaram valor igual ou maior que 342.000 células/ml.

Entre os patógenos isolados, o responsável pela maior elevação da CCS foi *S. agalactiae*, com média aritmética de 1.520.000 e 50,0% das amostras com valor igual ou maior que 923.000 células/ml. *S. aureus* e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* foram responsáveis pela segunda e terceira maior elevação da CCS, com médias da CCS de 966.000 e 894.000 células/ml e com 50,0% das amostras com valores da CCS iguais ou maiores que 509.000 e 641.000 células/ml, respectivamente.

*Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo apresentaram em média a CCS de aproximadamente 400.000 células/ml. Cinquenta por cento das amostras com isolamento de *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo apresentaram

valores da CCS iguais ou menores que 166.000 e 205.000 células/ml. Entre os patógenos classificados como primários, no mínimo, 50% das amostras apresentaram a CCS acima de 500.000 células/ml e aqueles classificados como secundários, mais de 50% das amostras apresentaram a CCS abaixo de 205.000 células/ml.

Resultados encontrados neste estudo e por Brito et al. (1999), mostram grande variação da CCS e de percentual de quartos mamários com CMT positivo em função dos agentes isolados. O valor da CCS dos animais também é influenciado pela ordem de parto, período de lactação, estação do ano e manejo do rebanho conforme Harmon (1994), Schepers et al. (1997) e Leavens et al. (1997). A variação da CCS entre animais para o mesmo patógeno provavelmente foi relacionada a características individuais como idade, ordem de parto e período de lactação, conforme resultados encontrados anteriormente por Schepers et al. (1997) e Leavens et al. (1997).

Tabela 1. Variação da CCS (x1.000/ml) de acordo com a presença de infecção intramamária, presença de infecção mista, tipo de infecção mista e tipo de agente etiológico

Fonte de variação	Categoria	N <sup>1</sup>	Média aritmética	Desvio padrão	Média geométrica	Mediana
Presença de infecção	Não	1137	264	611	22	24
	Sim	2612	779	1.070	228	342
Agente etiológico	STAPHA	790	966	1.072	371	509
	STRAG	551	1.520	1.559	662	923
	STREP	351	894	922	449	641
	STACN	466	422	633	125	205
	DIPT	826	410	561	94	166

<sup>1</sup> amostras com resultados do exame microbiológico; STAPHA – *Staphylococcus aureus*; STRAG – *Streptococcus agalactiae*; STREP – *Streptococcus* sp. que não *S. agalactiae*; STACN – *Staphylococcus* sp. coagulase negativo; DIPT – *Corynebacterium* sp.

Os valores de EL transformados para CCS encontrados por Wilson et al. (1997a) para amostras de leite com e sem isolamento variaram de 71.000 a 140.000 e de 141.000 a 282.000, respectivamente. Os valores médios encontrados nesse estudo foram maiores que os encontrados por Wilson et al. (1997), mas ao se analisar a média geométrica e a mediana, os dados foram semelhantes. Em relação às estatísticas descritivas da CCS para *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp., observou-se um discreto aumento em

relação aos que não apresentaram crescimento bacteriano, sendo esses resultados semelhantes aos encontrados por Elvinger e Natzke (1992), Harmon (1994) e Wilson et al. (1997).

Os resultados encontrados no estudo e por Wilson et al. (1997) para amostras de animais com isolamento de *S. aureus*, *S. agalactiae*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium bovis* mostraram o mesmo comportamento em

relação à variação da CCS de acordo com os agentes.

Os resultados relativos à estatística descritiva da CCS de acordo com o tipo de bactéria envolvida na infecção intramamária mostraram que os patógenos classificados como primários (*S. aureus*, *S. agalactiae* e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*) e secundários (*Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp.) foram os responsáveis pelas maiores e menores variações da CCS respectivamente, conforme Harmon (1994) e resultados apresentados por Nickerson e Boddie (1994). Resultados encontrados neste e em outros estudos mostraram que patógenos da mastite causam processos inflamatórios com intensidade diferente (Haas et al., 2002).

Para avaliar a variação da CCS em amostras de leite de acordo com os resultados do exame bacteriológico, levando em conta o efeito de rebanho, características dos animais, ano de coleta e estação do ano foram usados resultados de 1.761 amostras oriundas de 1.154 animais. O modelo linear generalizado para amostras de leite sem crescimento bacteriano foi significativo ( $p < 0,001$ ) e explicou 80,5% da variação da CCS. As fontes de variação que foram significativas no modelo estavam relacionadas ao rebanho, animal dentro de rebanho e ordem de parto (Tab.2). As variáveis ano de coleta, estação do ano e período de lactação não apresentaram efeito significativo sobre a CCS. Efeito de animal dentro de rebanho seguido pelo efeito de rebanho explicaram a maior parte da variação da CCS, contribuindo com aproximadamente 67%.

Tabela 2. Análise de variância da CCS de animais classificados como não infectados com base no exame bacteriológico

Fonte de variação	gl	SQ	F	p	CCP
Rebanho	21	792,2	11,33	***	8,2
Animal dentro de rebanho	1153	5910,7	1,54	***	61,4
Ano de coleta	1	11,4	3,44	ns	0,1
Estação do Ano	3	22,3	2,23	ns	0,2
Ordem de parto	3	29,2	2,93	*	0,3
Período de lactação	15	51,2	1,02	ns	0,5
Erro	564	1878,6	-	-	-
Total corrigido	1760	8695,6	-	-	-

\* $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; SQ – soma dos quadrados; gl – grau de liberdade; F – valor do teste de Fisher; p – nível de significância; CCP – coeficiente de correlação parcial.

O modelo linear generalizado usado para avaliar a presença de infecção foi significativo ( $p < 0,001$ ) e explicou 80,7% da variação da CCS (Tab.3). As fontes de variação significantes no modelo foram relativas ao rebanho, animal dentro de rebanho, ordem de parto e presença de infecção. Os efeitos de animal dentro de rebanho e de rebanho foram, juntos, responsáveis por 68,0% da variação total da CCS. Por meio da soma dos quadrados, a ordem de grandeza dos efeitos foi semelhante à encontrada para amostras sem crescimento bacteriano.

O modelo linear generalizado considerando o tipo de infecção foi significativo ( $p < 0,001$ )

e explicou 81,7% da variação da CCS (Tab.4). Os efeitos significativos foram relativos ao rebanho, animal dentro de rebanho, ordem de parto, estação do ano, presença de *S. agalactiae* e de *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. Ano de coleta, período de lactação, presença de *S. aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp. não foram significantes estatisticamente. O efeito de animal dentro de rebanho foi o maior responsável pela variação da CCS, seguido pelo efeito de rebanho, alcançando juntos aproximadamente 70,0% da variação total.

Tabela 3. Análise de variância da CCS de animais classificados como infectados com base no exame bacteriológico

Fonte de variação	gl	S Q	F	p	CDP
Rebanho	21	748,5	10,77	***	7,8
Animal dentro de rebanho	1151	5804,8	1,52	***	60,5
Ano de coleta	1	12,5	3,79	ns	0,1
Estação do Ano	3	22,1	2,23	ns	0,2
Ordem de parto	3	32,7	3,29	*	0,3
Período de lactação	15	44,7	0,9	ns	0,5
Presença de infecção	1	13,8	4,17	*	0,1
Erro	559	1850,1			
Total corrigido	1754	8529,2			

\* p<0,05; \*\*\* p<0,001; \*p<0,05; \*\*\* p<0,001; SQ – soma dos quadrados; gl – grau de liberdade; F – valor do teste de Fisher; p – nível de significância; CCP – coeficiente de correlação parcial.

Os valores de CCS foram transformados para EL com objetivo de comparar médias de acordo com ordem de parto e presença de infecção. As médias da CCS de acordo com a ordem de parto e presença de infecção intramamária estão apresentadas na Tab.5. As médias da CCS para animais sem presença de infecção na primeira, segunda e acima da segunda lactação

foram crescentes e diferentes, mostrando que o aumento da CCS está efetivamente associada às lactações (p<0,01). A mesma diferença entre os partos foi observada para animais que apresentaram presença de infecção (p<0,01). Foi também observada diferença entre as médias da CCS de animais com e sem infecção dentro das mesmas lactações (p<0,01).

Tabela 4. Análise de variância da CCS de animais classificados como infectados de acordo com o agente com base no exame bacteriológico

Fonte de variação	gl	S Q	F	p	CCP
Rebanho	21	421,4	6,36	***	5,4
Animal dentro de rebanho	1151	5039,8	1,39	***	64,3
Ano de coleta	1	11,2	3,54	ns	0,1
Estação do Ano	3	36,4	3,85	**	0,5
Ordem de parto	3	28,8	3,04	*	0,4
Período de lactação	15	42,0	0,89	ns	0,5
STAPHA	1	0,0	0,00	ns	0,0
STRAG	1	71,0	22,50	***	0,9
STREP	1	34,4	10,90	**	0,4
STACN	1	2,6	0,83	ns	0,0
DIPT	1	0,9	0,31	ns	0,0
Erro	555	1752,1			
Total corrigido	1754	7440,6			

\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; \*p<0,05; \*\*\* p<0,001; gl – grau de liberdade; F – valor do teste de Fisher; p – nível de significância; CCP – coeficiente de correlação parcial; STAPHA – *S. aureus*; STRAG – *S. agalactiae*; STREP – *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*; STACN – *Staphylococcus* spp. coagulase negativo; DIPT – *Corynebacterium* spp.

O efeito da ordem de parto influenciou o aumento da CCS nos animais, independente da presença ou ausência de infecção, estando de acordo com os resultados encontrados por Schepers et al. (1997) e Leavens et al. (1997). O aumento discreto da CCS com o avanço da idade e período de lactação em animais sem infecção intramamária foi observado no presente estudo, conforme Harmon (1994). Entretanto, a variação da CCS em animais sem infecção de acordo com a ordem de parto poderia também ser causada por

resultados falso negativo no exame bacteriológico. Como a presença da infecção foi significativa no segundo modelo linear generalizado e os valores médios da CCS dos animais de acordo com ordem de parto, foi aproximadamente duas vezes maior para amostras com isolamento em relação as que não apresentaram crescimento bacteriano (Tab.5), o estado de infecção foi o principal fator responsável pela variação da CCS, relatado por Harmon (1994).

Tabela 5. Médias do escore linear da CCS de acordo com a ordem de parto e presença de infecção

Ordem de parto	Presença de infecção intramamária			
	Não		Sim	
	n	Média	n	Média
1	265	1,45 <sup>aa</sup>	401	3,83 <sup>ab</sup>
2	184	2,17 <sup>ba</sup>	438	4,41 <sup>bb</sup>
> = 3	309	2,78 <sup>ca</sup>	764	4,81 <sup>cb</sup>
T	1137	2,22 <sup>A</sup>	2612	4,53 <sup>B</sup>

Letras minúsculas e maiúsculas distintas nas linhas e colunas, respectivamente, indicam valores estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) pelo teste t de Student para amostras independentes; T – sem considerar ordem de parto.

Ao avaliar os resultados da análise de variância da CCS de acordo com o tipo de infecção, foi verificado que entre os patógenos isolados, somente as presenças de *S. agalactiae* ( $p < 0,001$ ) e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* ( $p < 0,01$ ) foram significativas e nos resultados da estatística descritiva foram maiores em relação aos isolamentos de *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp.

Apesar da presença de *S. aureus* não ter sido significativa no modelo linear generalizado, observaram-se altos valores para CCS nas estatísticas descritivas. Do total de amostras de leite com isolamento de *S. aureus*, 50,0% das amostras apresentou valores maiores que 501.000 células/ml. Os resultados mostraram que houve efeito específico de patógenos na variação da CCS, conforme proposto por Haas et al. (2002).

De acordo com Reneau (1986) e descrito no Current... (1996), o manejo do rebanho é fundamental no controle da mastite e

conseqüentemente na variação da CCS, mas foi verificado no estudo que a maior variação na CCS dos animais não foi devida a características de rebanho, como o manejo, e sim entre animais submetidos a características idênticas de manejo. O resultado encontrado para as principais fontes de variação sobre a CCS mostrou que o efeito de rebanho foi menor que o efeito de animais dentro de rebanho, estando este de acordo com os resultados encontrados por Kennedy et al. (1982), Vecht et al. (1989) e Schepers et al. (1997). Nos modelos lineares generalizados utilizados, foi considerado o efeito relacionado à característica individual, como ordem de parto e período de lactação, mas de acordo com os resultados encontrados no estudo, houve outras características relacionadas aos animais submetidos ao mesmo manejo que os tornaram susceptíveis a infecções intramamárias, e conseqüentemente responsáveis pela variação da CCS.

## CONCLUSÕES

A infecção intramamária foi o fator predominante responsável pelo aumento da CCS das vacas leiteiras. Os microrganismos patogênicos da mastite causam efeito específico no aumento da CCS. *Streptococcus agalactiae* foi a bactéria responsável pelo maior aumento da CCS de vacas. Outros fatores que explicaram o aumento da CCS de vacas foram associados ao rebanho, animal dentro de rebanho, ordem de parto e estação do ano. Os efeitos de animal dentro de rebanho seguido pelo de rebanho foram os maiores na variação da CCS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRITO, J. R. F. *Coleta de amostras de leite para determinação da composição química e contagem de células somáticas*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. 16 p. (Circular Técnica, 62).
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n. 2, p. 129-135, 1999.
- CURRENT concepts of bovine mastitis. Madison: National Mastitis Council, 1996. 64 p.
- DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. *Veterinary epidemiologic research*. Charlottetown: AVC, 2003. 706 p.
- ELVINGER, F.; NATZKE, R. P. Elements of mastitis control. In: VAN HORN, H. H.; WILCOX, C. J. *Large dairy herd management*. Champaign: American Dairy Science Association, 1992. p. 440-447.
- HAAS, Y.; BARKEMA, H. W.; VEERKAMP, R. F. The effect of pathogen-specific clinical mastitis on the lactation curve for somatic cell count. *Journal Dairy Science*, v. 85, n. 5, p. 1314-1323, 2002.
- HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 7, p. 2103-2113, 1994.
- HARMON, R. J.; EBERHART, R. J.; JASPER, D. E. et al. *Microbiological procedures for diagnosis of bovine udder infection*. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34 p.
- HOBLET, H.; HUESTON, W. D. et al. Mastitis microbiology simplified. *Bovine Practitioner*, n. 21, p. 77-78, 1986.
- KENNEDY, B. W.; SETHAR, M. S.; TONG, A. K.; W.; MOXLEY, J. E. Environmental factors influencing test-day somatic cell counts in Holstein. *Journal Dairy Science*, v. 65, n.2, p. 275-280, 1982.
- LABORATORY and field handbook on bovine mastitis. Arlington: National Mastitis Council, 1987. 208 p.
- LEAVENS, H.; DELUYKER, H.; SCHUKKEN, Y. H. et al. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *Journal Dairy Science*, v. 80, n. 12, p. 3219-3226, 1997.
- MILK: enumeration of somatic cells. Brussels: IDF, 1995. 8p. IDF Standard 148A.
- NICKERSON, S. C.; BODDIE, R. L. Effect of naturally occurring coagulase-negative staphylococcal infections on experimental challenge with major mastitis pathogens. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 9, p. 2526-2536, 1994.
- OSTERAS, O.; EDGE, V. L.; MARTIN, S. W. Determinants of success or failure in the elimination of major mastitis pathogens in selective dry cow therapy. *Journal Dairy Science*, v. 82, n. 6, 1221-1231, 1999.
- PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. *Mastitis: counter attack. A strategy to combat mastitis*. Naperville: Babson Bros., 1991. 150 p.
- RENEAU, J. K. Effective use of Dairy Herd Improvement somatic cells counts in mastitis control. *Journal Dairy Science*, v. 69, n.6. p.1708-1720, 1986.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada a experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.

SAS/STAT user's guide, version 6. Cary: SAS, 1990.

SCHEPERS, A. J.; LAM, T. J. G. M.; SCHUKKEN, Y. H. et al. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of Dairy Science*, v. 80, n. 8, p. 1833-1840, 1997.

STATISTICAL Package for the Social Science, version 8. 0. Chicago: SPSS, 1998.

VECHT, U.; WISSELINK, H. J.; DEFIZE, P. R. Dutch national mastitis survey. The effect of herd and animal factors on somatic cell count. *Netherland Milk Dairy Journal*, v. 43, n.4, p. 425-435, 1989.

WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; DAS, H. H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pensilvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. *Journal Dairy Science*, v. 80, v. 10, p. 2592-2598, 1997.

## CAPÍTULO 3

### FATORES DE RISCO PARA MASTITE SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS ORDENHADAS MECANICAMENTE

(*Risk factors to subclinical mastitis in dairy cows milked with milking machine*)

#### RESUMO

Avaliaram-se fatores de risco para mastite subclínica em 24 rebanhos de vacas leiteiras localizados nos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. Os rebanhos foram selecionados de acordo com o histórico da contagem de células somáticas (CCS) e informação prévia sobre o manejo. Os rebanhos foram classificados em dois grupos com base na média geométrica da CCS em menor que 250.000 células/ml e maior que 750.000 células/ml. Foram coletadas 3.987 amostras de leite de 2.657 animais para identificação de patógenos da mastite. Informações sobre os rebanho, animais, manejo e equipamento de ordenha foram obtidas por meio de um questionário. A análise estatística foi realizada por meio da aplicação do teste do qui-quadrado, análise de correspondência e modelos de regressão logística. *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* estavam associados ao grupo com CCS maior que 750.000 células/ml e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp. ao grupo com CCS menor que 250.000 células/ml. Fatores de risco para mastite subclínica relacionado aos animais, manejo e equipamento de ordenha foram identificados no estudo. O maior risco identificado no estudo foi a seleção de animais para o tratamento a secagem, com risco relativo de 15,50 para infecção intramamária causada por *Streptococcus agalactiae*. O maior número de fatores de risco identificados no estudo foi relacionado ao manejo do rebanho. Identificar e quantificar fatores de risco para mastite pode priorizar procedimentos que visam a redução de mastite no rebanho a curto e médio prazo.

Palavras-chave: mastite bovina, fatores de risco, bactérias.

#### ABSTRACT

Risk factors to subclinical mastitis were evaluated in 24 dairy herds located in Rio de Janeiro e Minas Gerais state. The herds were selected according to somatic cell count (SCC) and previous information about the management. The herds were classified into two groups based on geometric mean of SCC in lower than 250.000 cells/ml and higher than 750.000 cells/ml. Three thousand nine hundred eighty seven milk samples were collected from 2.657 dairy cows for identification of mastitis pathogens. Information about herd, animals, management and milking machine was obtained through application of a questionnaire. Qui-square test, correspondence analysis and logistic regression models were used for statistics analysis. *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* were associated with group with SCC higher than 750.000 cells/ml and *Streptococcus* spp. except *S. agalactiae*, *Staphylococcus* spp. coagulase negative and *Corynebacterium* spp. with group lower than 250.000 cells/ml. Risk factors to subclinical mastitis associated with animals, management and milking machine were identified. The highest risk factor identified was the selection of animal for dry cow treatment, with relative risk of 15,50 for intramammary infection caused by *Streptococcus agalactiae*. The higher number of risk factors identified was associated with herd management. To identify and quantify risk factor to mastitis can prioritize procedures that decrease of the herd mastitis cases in short and medium time.

Key words: bovine mastitis, risk factors, bacterias.

## INTRODUÇÃO

Programas de controle e prevenção de mastite visam principalmente reduzir o aparecimento de novos casos, diminuir a duração e eliminar as infecções já estabelecidas. Para isso, é preciso a rápida identificação e tratamento dos casos clínicos, terapia da vaca seca em todos os animais, desinfecção dos tetos após a ordenha, descarte de animais cronicamente infectados e rotina de manutenção e avaliação do funcionamento do equipamento de ordenha.

O Conselho Nacional de Mastite dos Estados Unidos (NMC) recomenda um programa de controle de mastite formado pelos pontos citados anteriormente associados a análises laboratoriais para CCS e identificação de microrganismos causadores de mastite. A importância do suporte laboratorial na identificação de agentes da mastite é evidenciada de várias formas para o programa de controle da doença (Brito et al., 1999). O impacto da implementação de estratégias de controle da mastite tem sido muito bem sucedido em controlar microrganismos contagiosos, porém os ambientais tiveram sua importância ampliada (Bradley, 2002).

A necessidade de identificar objetivamente os fatores de risco associados com doenças particulares é importante, pois possibilita direcionar e priorizar procedimentos que visam o controle e erradicação (Thrusfield e Noordhuizen, 1997). Trabalhos sobre fatores de risco estão sendo realizados por pesquisadores, que buscam novos conhecimentos para prevenir e controlar as mastites. Peeler et al. (2000) identificaram como principal fator de risco para novas infecções intramamárias característica relacionada ao animal.

Com o aumento da produção e produtividade dos rebanhos leiteiros no Brasil, há uma tendência em trabalhar com equipamentos mecânicos para realização da ordenha. O objetivo do estudo foi identificar fatores de risco para mastite subclínica em vacas de rebanhos leiteiros

ordenhados mecanicamente localizados nos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Rebanhos

O trabalho foi conduzido em rebanhos bovinos leiteiros dos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, em três etapas, no período de junho de 2000 a julho de 2003. Na primeira etapa, foram enviados aproximadamente 300 questionários (Anexo 1) aos responsáveis pelos rebanhos ligados a cooperativas, laticínios, indústrias e a uma associação de criadores envolvidos no programa de CCS do rebanho. Os técnicos encarregados de aplicar os questionários foram treinados pela equipe do projeto para padronização dos procedimentos de preenchimento e respostas. O questionário teve como objetivo obter informações sobre a composição do rebanho, manejo e procedimentos higiênicos adotados durante a ordenha, higienização da ordenhadeira mecânica e ao controle e prevenção de mastite. Um total de 175 questionários foi devolvido para os autores. Calculou-se a média geométrica dos resultados de seis CCS consecutivas do rebanho correspondendo a um período máximo de seis meses e a, pelo menos, uma análise mensal. As seis análises utilizadas para o cálculo da média geométrica foram as três anteriores e as três seguintes em relação à data de aplicação do questionário. Os questionários devolvidos após dezembro de 2001 não foram considerados no trabalho.

Na segunda etapa, por meio da análise de conglomerados (Dohoo et al., 2003) com base na CCS dos 175 rebanhos e utilização de equipamento de ordenha, foram selecionados 48 rebanhos para a aplicação de um segundo questionário (Anexo 2). A aplicação dos questionários foi realizada no período de janeiro a março de 2002. Após a análise dos dados foram selecionados 24 rebanhos para acompanhamento individual das vacas em lactação durante aproximadamente 12 meses (terceira etapa). Os rebanhos selecionados se localizavam nos municípios (Figura 1) de

Juiz de Fora-MG (1), Coronel Pacheco-MG (2), Matias Barbosa-MG (1), Belo Horizonte-MG (1), Rio Preto-MG (3), Areal-RJ (1), Valença-RJ (4), Itaperuna-RJ (4), Porciúncula-RJ (4) e Natividade-RJ (3). Os 24 rebanhos foram divididos em dois grupos de acordo com o histórico da CCS. O Grupo 1 foi formado por rebanhos que obtiveram média geométrica menor ou igual a 250.000 células/ml (n=16) e o Grupo 2 por rebanhos com média geométrica maior ou igual a 750.000 células/ml (n=8).

Na terceira etapa, foram realizadas análises de amostras de leite de todos os animais em lactação para identificação de patógenos da mastite e amostras de leite do rebanho para CCS em três diferentes épocas do ano. Após a última coleta das amostras de leite foi aplicado um novo questionário (Anexo 3) com objetivo de identificar fatores de risco para infecção intramamária associados à higiene e saúde do rebanho, controle e prevenção da mastite, funcionamento, manutenção e higienização do equipamento

de ordenha. O questionário aplicado neste momento compreendia uma seção com entrevista com ordenhadores e gerentes dos rebanhos, outra com observações visuais de equipamento e procedimentos de ordenha, e uma terceira para obtenção de dados relativos ao funcionamento do equipamento de ordenha, utilizando-se instrumentos especializados (Medidor de vazão da bomba de vácuo Westfalia®, Pulso Test Westfalia® e Surge® Digital Vacuum). Foram coletados também dados sobre as características individuais dos animais em lactação submetidos à coleta de amostras de leite. Os dados individuais obtidos de animais foram: ordem de parto, data do parto, profundidade do úbere, equilíbrio do úbere, escape de leite no momento da ordenha e presença de lesão no úbere e/ou tetos no momento da ordenha. A coleta das amostras de leite e a aplicação dos questionários foram realizadas de junho de 2002 a julho de 2003.



Legenda	
Minas Gerais	Rio de Janeiro
1 Belo Horizonte	6 Areal
2 Coronel Pacheco	7 Porciúncula
3 Juiz de Fora	8 Natividade
4 Matias Barbosa	9 Itaperuna
5 Rio Preto	10 Valença

Figura 1 – Distribuição espacial dos rebanhos amostrados de acordo com os municípios dos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, 2000/2003.

### **Cálculo do tamanho da amostra para estimar a relação de expostos e doentes com base nas informações obtidas na primeira e segunda etapa**

O cálculo para estimar o risco mínimo a ser detectado e o tamanho da amostra, com objetivo de identificar fatores de risco para a mastite, foi realizado de acordo com Graat et al. (1997), utilizando-se as fórmulas apresentadas a seguir:

$$n = \{Z\alpha \cdot [(1+c) \cdot p' \cdot (1-p')]^{1/2} + Z\beta \cdot [p1 \cdot (1-p1) + po \cdot (1-po) \div c]^{1/2}\}^2 \div (p1 - po)^2$$

sendo que,

$$p' = (p1 + c \cdot po) \div (1 + c) \text{ e } q' = 1 - p' \text{ e } p1 = (po \cdot R) \div [1 + po \cdot (R - 1)]$$

onde:

po – frequência relativa de expostos entre os controles (animais não doentes),

p1 – frequência relativa de expostos entre os casos (animais doentes ou infectados),

p' - média ponderada de expostos para número de casos e controles,

c – razão entre animais não-doentes/doentes (numero de controles por caso),

R – risco mínimo a ser detectado,

Z $\alpha$ - corresponde ao nível de confiança (1 -  $\alpha$ ),

Z $\beta$  - corresponde ao poder do teste (1 -  $\beta$ ),

Para o presente estudo, foi considerado para po = 20%, c = 1, R = 1.5, Z $\alpha$  = 1,96 e Z $\beta$  = 0,80. Com base nas estimativas de frequência relativa de expostos entre os controles, risco mínimo a ser detectado, razão entre animais não-doentes/doentes, nível de confiança e poder do teste foi calculado que seriam necessários 518 "casos" e 518 "controles", totalizando 1.038 animais.

### **Amostra**

Foram coletadas no total 3.987 amostras de leite oriundas de 2.657 animais. O primeiro e segundo grupos foram compostos por 2.325 e 1.662 amostras de leite provenientes de 1.418 e 1.129 animais, respectivamente. O número de amostras para cada grupo foi superior ao número de animais pois houve animais submetidos a duas ou três coletas.

### **Coleta de amostras de leite**

As amostras de leite do rebanho para CCS foram coletadas em frascos específicos contendo o conservante Bonopol®. As amostras de leite dos animais para exames bacteriológicos foram coletadas de todos os animais em lactação, excluindo os que apresentaram mastite clínica no momento da coleta e que estavam sendo submetidos a algum tipo de tratamento com antibióticos. As amostras para exames bacteriológicos foram obtidas imediatamente antes da ordenha após cuidadosa anti-sepsia dos tetos com álcool a 70% e colhidas diretamente em frascos estéreis. As amostras de leite foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e transportadas dentro de 24 horas para os laboratórios da Embrapa Gado de Leite. Os procedimentos de coleta das amostras de leite foram de acordo com Brito (2001) e Harmon et al. (1990).

### **Análises laboratoriais**

A CCS dos rebanhos foi realizada no Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite em equipamento automatizado por meio de citometria de fluxo descrito em Milk...(1995).

Os agentes da mastite foram identificados no Laboratório de Microbiologia do Leite da Embrapa Gado de Leite. Para isso, semeou-se 0,01 ml de cada amostra de leite, com alça calibrada descartável, em cada quadrante de uma placa de ágar-sangue preparado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. As placas foram incubadas a

37°C por 24 horas e foi feita a primeira leitura, seguindo-se nova incubação por mais 24 horas para a segunda leitura. As colônias isoladas no ágar-sangue foram observadas quanto à morfologia, tamanho, pigmentação e presença de hemólise. As colônias isoladas foram observadas ao microscópio por meio de esfregaços corados pelo método de Gram. A significância do número de colônias dos microrganismos isolados foi interpretada segundo critérios propostos pelo Laboratory...(1987).

Os microrganismos foram identificados a partir de subcultivos em placas de ágar-soja tripticaseína, de acordo com recomendações de Harmon et al., (1990). Bactérias do gênero *Streptococcus* foram identificadas pela ausência de produção de catalase e pelos testes de CAMP (Christie, Atkins e Munch-Peterson), hidrólise do hipurato de sódio, crescimento em meio com 6,5% de NaCl e hidrólise da esculina. A classificação foi feita de acordo com Hoblet et al. (1986) da seguinte maneira: (1) *S. agalactiae*: reação positiva nos testes de CAMP e hidrólise do hipurato de sódio, crescimento variável em meio com 6,5% de NaCl e reação negativa no teste de hidrólise da esculina, (2) *Streptococcus* spp. esculina positivos (ESCPOS): reação variável no teste de CAMP, na hidrólise do hipurato e em meio com 6,5% de NaCl e hidrólise da esculina. Neste grupo incluem-se *S. uberis*, *S. bovis*, espécies de *Enterococcus* e outras espécies de *Streptococcus* que hidrolisam a esculina e (3) *Streptococcus* spp. esculina negativos (ESCNEG): reação negativa no teste de CAMP, de hidrólise da esculina e do hipurato de sódio e ausência de crescimento em presença de 6,5% de NaCl. Neste grupo estão incluídos *S. dysgalactiae* e outros *Streptococcus* spp. esculina-negativos.

As bactérias do gênero *Staphylococcus* foram classificadas em coagulase negativos e *Staphylococcus aureus* de acordo com a produção de catalase, coagulação do plasma de coelho e produção de acetoina. Bactérias do gênero *Pseudomonas* foram identificadas pela reação positiva nas provas de catalase e oxidase, produção de

pigmento em meio de ágar-soja tripticaseína e reação oxidativa em meio de Hugh e Leifson.

Bastonetes Gram-positivos pequenos, pleomórficos e não esporulados, com morfologia semelhante a difteróides, foram identificados como *Corynebacterium bovis* pela ausência de inibição no teste de CAMP, reação negativa no testes de hidrólise da gelatina e do amido e produção de urease e catalase. Estes testes foram realizados para todos os isolados com características de difteróides dos primeiros oito rebanhos. Posteriormente, devido ao grande número de amostras isoladas, optou-se por classificá-las como *Corynebacterium* spp. Para isso, as seguintes características foram observadas: colônias pequenas, circulares, esbranquiçadas ou cremosas, apresentando superfície rugosa, com 1 a 2 mm de diâmetro, visíveis somente após 48 horas de incubação e encontradas nas áreas mais gordurosas onde se semeava o leite, ausência de hemólise no ágar-sangue e produção de catalase. Os esfregaços dessas culturas corados pelo Gram evidenciaram bastonetes Gram-positivos com morfologia típica de difteróides.

Amostras consideradas contaminadas foram aquelas em que houve crescimento de três ou mais colônias diferentes no isolamento primário, sem o predomínio de nenhuma delas. Para análise estatística, os patógenos da mastite identificados como ESCPOS e ESCNEG foram agrupados como "*Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*".

#### **Análise estatística**

As análises dos resultados foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SAS/STAT® (1990) e Statistical...(1998).

Com os dados de cada coleta foram calculadas as freqüências de mastite subclínica por rebanho de duas formas: sem considerar o tipo de agente isolado, e de acordo com o agente isolado. Foi considerada a freqüência média do rebanho e a média aritmética das freqüências de

cada coleta. Para cálculo da frequência do rebanho para cada coleta dividiu-se o número de amostras com isolamento do agente pelo número total de amostras coletadas. Calculou-se a correlação entre a prevalência de mastite subclínica dos rebanhos e a CCS do rebanho por meio da correlação de Pearson, descrito por Sampaio (1998).

Para calcular a média geométrica da CCS dos grupos 1 e 2 foram utilizadas as médias geométricas da CCS dos rebanhos. O teste do qui-quadrado foi utilizado para verificar a associação entre os rebanhos classificados de acordo com a análise de conglomerados e a presença de infecção intramamária, e tipos de patógenos da mastite.

Para avaliar associações entre os tipos de patógenos causadores de mastite e rebanhos classificados de acordo com a CCS e ordem de parto foi utilizada a análise de correspondência pelo método de normalização canônica descrito por Souza et al. (2002). Os patógenos foram classificados em *S. aureus*, *S. agalactiae*, *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp. e os partos foram classificados em 1, 2, 3 e  $\geq 4$ . Para esta análise foram usados os resultados das amostras de leite que apresentaram apenas um tipo de patógeno. Para avaliar a média do escore linear de acordo com a ordem de parto, foi aplicado o teste T para amostras independentes, descrito por Sampaio (1998).

Para a análise dos fatores de risco foram utilizados modelos de regressão logística descrito por Lemeshow e Hosmmer (1984), Hosmmer e Lemeshow (1989) e Frankena e

Graat (1997). A estratégia para construção do modelo final de regressão logística foi baseada em Frankena e Graat (1997). Foram realizadas análises bivariadas para testar associações entre cada variável independente do modelo de regressão logística (fatores de risco). O "Teste t" foi usado para variáveis contínuas e o Teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para variáveis categóricas. O critério de decisão para a escolha dos fatores de risco foi aquele que oferecia explicação biológica coerente para presença do patógeno que na associação apresentaram  $P < 0,20$ . Após a seleção das possíveis variáveis independentes foi aplicada uma série de modelos de regressão logística tendo como variável dependente (variável resposta) a presença do patógeno da mastite (Quadro 1), e como variáveis independentes (Quadro 2) os fatores anteriormente selecionados e relacionados às características do rebanho, práticas de manejo durante a ordenha, procedimentos relacionados ao controle e prevenção da mastite e equipamento de ordenha. Após a seleção do modelo final de regressão logística foram observados os coeficientes beta ( $\beta$ ) de cada variável independente para se estimar o grau de risco ("ODDS RATIO" – OR). O número máximo de variáveis independentes usados nos modelos foi calculado em função do número de rebanhos classificados de acordo com as situações estabelecidas na primeira etapa.

A construção final do modelo de regressão logística baseou-se nas recomendações de Frankena e Graat (1997) e variáveis selecionadas pelo comando "stepwise" na geração de um modelo de regressão logística pelo programa SAS/STAT® (1990).

Quadro 1. Variáveis dependentes e respostas usadas nos modelos finais de regressão logística de acordo com os agentes da mastite

Variável	Significado	Respostas
STAPHA	Presença de infecção intramamária causada por <i>Staphylococcus aureus</i>	Não = 0; Sim = 1
STRAG	Presença de infecção intramamária causada por <i>Streptococcus agalactiae</i>	Não = 0; Sim = 1
STREP	Presença de infecção intramamária causada por <i>Streptococcus</i> spp. que não o <i>S. agalactiae</i>	Não = 0; Sim = 1
STACN	Presença de infecção intramamária causada por <i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativo	Não = 0; Sim = 1
DIPT	Presença de infecção intramamária causada por <i>Corynebacterium</i> spp.	Não = 0; Sim = 1

Os modelos finais de regressão logística são apresentados a seguir.

Para *Staphylococcus aureus* (STAPHA):

LOGIT (Yijklmnopqrst) =  $\beta_0 + \beta_1(i) + \beta_2(j) + \beta_3(k) + \beta_4(l) + \beta_5(m) + \beta_6(n) + \beta_7(o) + \beta_8(p) + \beta_9(q) + \beta_7(r) + \beta_8(s) + \beta_9(t)$ , onde Yijklmnopqrst é a variável dependente (STAPHA), "i" é LABS, "j" TSEC, "k" SELE, "l" COMO, "m" MOMJ, "n" IMCJ, "o" PRESS, "p" FORN, "q" INSE, "r" IDAD, "s" PESO e "t" TIPOC.

Para *Streptococcus agalactiae* (STRAG):

LOGIT (Yijklmnop) =  $\beta_0 + \beta_1(i) + \beta_2(j) + \beta_3(k) + \beta_4(l) + \beta_2(m) + \beta_3(n) + \beta_4(o) + \beta_4(p)$ , onde Yijklmnop é a variável dependente (STRAG), "i" é ESC, "j" LABS, "k" TIPOC e "l" COMO, "m" é SELE, "n" EQ, "o" LINH e "p" FORN.

Para *Streptococcus* sp. que não *S. agalactiae* (STREP):

LOGIT (Yijklmnopq) =  $\beta_0 + \beta_1(i) + \beta_2(j) + \beta_3(k) + \beta_4(l) + \beta_2(m) + \beta_3(n) + \beta_4(o) + \beta_4(p)$ , onde Yijklmnop é a variável dependente (STREP), "i" é PROF, "j" ESC, "k" ALIM e "l" LAVA, "m" é PRED, "n" TIPOC, "o" POSD, "p" PESO e "q" TROC.

Para *Staphylococcus* sp. coagulase negativo:

LOGIT (Yijklmnopqrstu) =  $\beta_0 + \beta_1(i) + \beta_2(j) + \beta_3(k) + \beta_4(l) + \beta_5(m) + \beta_6(n)$ , onde Yijklmnopqrstu é a variável dependente (STACN), "i" é LAGO, "j" LABS, "k" LAVA, "l" PRED, "m" MOMJ, "n" PRESS, "o" PREI, "p" INSE, "q" ALIM, "r" é EXTR, "s" KPAC, "t" FREQP e "u" TREI.

Para *Corynebacterium* spp.:

LOGIT (Yijklmnop) =  $\beta_0 + \beta_1(i) + \beta_2(j) + \beta_3(k) + \beta_4(l) + \beta_5(m) + \beta_6(n)$ , onde Yijklmnop é a variável dependente (DIPT), "i" é COMO, "j" PRED, "k" FORN, "l" ALIM, "m" IDAD, "n" FADP, "o" LAVA, e "p" PROF.

Quadro 2. Variáveis independentes, significados e respostas usadas nos modelos finais de regressão logística para avaliar fatores de risco associados aos agentes da mastite.

Variável	Significado	Respostas
PROF	Profundidade do úbere	Sobre o jarrete = 1; Abaixo e junto do jarrete = 0
EQ	Equilíbrio do úbere	Sim = 1; Não = 0
ESC	Escape de leite	Não = 1; Sim = 0
LAGO	Animais com acesso a lago, açudes ou tanques	Não = 1; Sim = 0
LABS	Utiliza serviço laboratorial (microbiologia) para diagnóstico dos casos de mastite	Sim = 1; Não = 0
TSEC	Faz tratamento da vaca seca (infusão de antibiótico intramamário)	Sim = 1; Não = 0
SELE	Seleciona animais para o tratamento da vaca seca	Não = 1; Sim = 0
LAVA	Lava os tetos antes da ordenha e como lava	Sim, com água corrente = 1; Não lava ou lava com pano comum = 0
COMO	Como seca os tetos após lavagem	Papel toalha individual = 1; Pano comum ou jornal = 0
PRED	Realiza desinfecção dos tetos antes da ordenha	Sim = 1; Não = 0
MOMJ	Momento do exame dos primeiros jatos	Antes da lavagem e secagem = 1; entre lavagem e secagem, após desinfecção = 0
IMCT	Imersão dos conjuntos de teteiras em solução desinfetante entre a ordenha de animais	Não = 1, Sim = 0
PRESS	É feito pressão sobre o conjunto de teteiras no final da ordenha	Não = 1; Sim = 0
POSD	Realiza desinfecção dos tetos após a ordenha	Sim = 1; Não = 0
TIPOC	Tipo de caneca usada na desinfecção dos tetos antes e depois da ordenha	Sem retorno = 1; Com retorno = 0
FORN	Fornece leite mastítico para bezerras	Não = 1; Sim = 0
PREI	Prepara o animal adequadamente para aplicação de antibiótico intramamário	Sim = 1; Não = 0
INSE	Utiliza a técnica de inserção parcial da cânula na aplicação de antibiótico intramamário	Sim = 1; Não = 0
LINH	Faz linha de ordenha	Sim = 1; Não = 0
ALIM	Alimenta os animais após a ordenha	Sim = 1; Não (antes ou durante a ordenha) = 0
IDAD	Idade do equipamento de ordenha (anos)	1 a 4 = 1; 6 a 12 = 0
PESO	Peso do conjunto de teteiras (Kg)	1,5 a 2,0 = 1; 2,2 a 3,85 = 1
EXTR	Possui extratores automáticos do conjunto de teteiras	Sim = 1; Não = 0
KPAC	Nível de vácuo na ponta da teteira (Kpa)	Adequado (42 a 46) = 1; Inadequado (>42 e <46) = 1
FADP	Funcionamento adequado dos pulsadores	Sim = 1; Não = 0
FREQP	Frequência de pulsação	Adequado (entre 55 e 65 bpm) = 1; Inadequado (<55 e >65 bpm) = 0
TROC	Frequência de troca dos insufladores	Adequada = 1; Inadequada = 0
TREI	Ordenhadores foram treinados para realização de ordenha	Sim = 1; Não = 0

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base no histórico da CCS do rebanho e aplicação de questionário prévio em 48 rebanhos, foram selecionados 24 rebanhos para acompanhamento. Durante 13 meses (junho/02 a julho/03), amostras de leite total dos 24 rebanhos e dos animais em lactação foram coletadas para CCS e exame bacteriológico, respectivamente. Foram coletadas 72 amostras de leite do rebanho e 3.987 de animais. O número de resultados de exames microbiológicos usados para as análises estatísticas foi de 3.749 amostras de leite de animais. Dos resultados usados para análise estatística, 1.139 (30,3%) amostras não apresentaram crescimento bacteriano e em 2.614 (69,7%) foi identificada a presença de pelo menos um agente infeccioso da mastite. Do total de amostras que apresentaram crescimento bacteriano, foi observada infecção mista em 404 (15,5%). Entre as amostras de leite que apresentaram crescimento bacteriano, foram isolados 826 (31,6%) *Corynebacterium* spp., 790 (30,2%) *S. aureus*, 551 (21,1%) *S. agalactiae*, 466 (17,8%) *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e 351 (13,4%) *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. Foi isolado *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em todos os rebanhos. Do total de amostras de animais, 238 (5,8%) amostras foram classificadas como contaminadas no exame microbiológico de acordo com Harmon et al., (1990).

Dos 24 rebanhos, em 23 (95,8%) foram isolados *S. aureus* e em 18 (75,0%) *S. agalactiae*. A amplitude da frequência de infecções intramamárias causadas por *S. aureus*, *Corynebacterium* spp., *S. agalactiae*, *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo dos rebanhos variou respectivamente de 2,4 a 53,9%; 1,0 a 46,0%; 0,3 a 49,6%; 1,0 a 32,0% e 2,9 a 39,3%. Os resultados apresentados mostraram que *S. aureus* e *Corynebacterium* spp foram os mais frequentes agentes causadores de mastite

subclínica em rebanhos leiteiros. Do total de rebanhos estudados, 18 (75,0%) apresentaram pelo menos um animal infectado por *S. agalactiae* e 9 apresentaram frequência média variando de 7,1 a 49,6%. O isolamento de *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em todos os rebanhos, com frequência média variando de 1,0 a 39,3% mostrou que existe a necessidade de reduzir a exposição dos animais a estes microrganismos, principalmente por meio da limpeza do ambiente e procedimentos de desinfecção dos tetos.

O número de isolamentos de agentes da mastite de acordo com o tipo e o grupo de rebanhos classificados com base na análise de conglomerados é apresentado na Tab.1. Verificou-se um percentual maior e significativo ( $P < 0,001$ ) de isolamentos de *S. aureus* e *S. agalactiae* no grupo representado pelos rebanhos com CCS maior que 750.000 células/ml, enquanto no grupo formado pelos rebanhos com CCS menor que 250.000 células/ml houve maior percentual de isolamentos de *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp. Os resultados apresentados mostram que patógenos do ambiente, como os estreptococos, foram importantes causadores de mastite em rebanhos com baixa CCS. O papel dos microrganismos ambientais em rebanhos com baixa CCS foram discutidos por Leigh (1999) e Bradley (2002), mas deve-se levar em consideração também *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp.

Os Grupos 1 e 2 foram formados por meio de seleção prévia dos rebanhos com base no histórico da CCS e análise de conglomerados. As médias geométricas (mínimas e máximas) da CCS do rebanho para os Grupos 1 e 2 foram 279.000 (159.000 e 879.000) e 1.287.000 (457.000 e 2.311.000) células/ml respectivamente. Dos 16 rebanhos selecionados para compor o Grupo 1, 10 apresentaram média geométrica que variou de 253.000 a 879.000 células. Entre os 8 rebanhos

selecionados para compor o Grupo 2, 1 apresentou média geométrica menor que 750.000 células. Desta forma, com a finalidade de avaliar associação entre tipos de agentes e a CCS procedeu-se a divisão dos rebanhos em três grupos. Os rebanhos receberam nova classificação de acordo com a média geométrica da CCS em menor que 250.000, entre 250.000 e 750.000, e maior que 750.000 células/ml.

Os resultados obtidos na análise de correspondência para avaliar associação entre os tipos de isolamento e os três grupos revelaram que as dimensões 1 e 2 foram responsáveis por 90,2 e 9,8% da variabilidade dos dados, representados graficamente na Figura 1. Considerando apenas a dimensão 1, verificou-se associação entre a presença de *S. aureus* e *S. agalactiae* com rebanhos que

apresentaram a média geométrica da CCS maior que 750.000 células/ml. Rebanhos com média geométrica abaixo de 750.000 células/ml foram associados à presença de *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp. Os percentuais de isolamentos de *S. aureus* e *S. agalactiae* no Grupo 2 foi respectivamente de 30,2% e 32,6% e no Grupo 1 de 14,2% e 1,4%. Em relação aos percentuais de isolamentos de *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp. no Grupo 1 foram 10,7%, 13,5% e 25,9% e no Grupo 2 7,5%, 10,9% e 17,0%, respectivamente. As diferenças entre os percentuais de isolamentos de acordo com os tipos de agentes revelaram-se estatisticamente significativas no teste do qui-quadrado (Tab.1).

Tabela 1. Distribuição de freqüência para os Grupos 1 (CCS < 250.000 células/ml) e 2 (CCS > 750.000 células/ml) de acordo com a presença de infecção intramamária e agentes envolvidos na infecção.

Estado da glândula mamária		Grupo			
		1		2	
		N	%	n	%
Presença de infecção***	Não	802	37,3	337	21,0
	Sim	1348	62,7	1266	79,0
<i>Staphylococcus aureus</i> ***	Não	1844	85,8	1119	69,8
	Sim	306	14,2	484	30,2
<i>Streptococcus agalactiae</i> ***	Não	2120	98,6	1081	67,4
	Sim	30	1,4	522	32,6
<i>Streptococcus</i> spp. que não <i>S. agalactiae</i> **	Não	1919	89,3	1483	92,5
	Sim	231	10,7	120	7,5
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativo*	Não	1859	86,5	1428	89,1
	Sim	291	13,5	175	10,9
<i>Corynebacteriu m</i> spp.***	Não	1594	74,1	1331	83,0
	Sim	556	25,9	272	17,0
Total		2150	100,0	1603	100,0

P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001 – Teste do qui-quadrado.

Para o Grupo 1, que apresentou média geométrica de 279.000 células/ml, o percentual de amostras de leite com exame bacteriológico positivo foi de 62,7%, com variação do percentual de animais infectados em cada coleta de 26,1 a 87,9%. No Grupo 2, com média geométrica de 1.287.000 células/ml, 80,5% das amostras

apresentaram isolamento de pelo menos um agente da mastite. Neste grupo foi observado que o percentual de animais infectados por coleta variou de 63,6 a 100,0%. A diferença entre os percentuais de isolamentos, sem considerar os tipos de agentes, foi significativa (P<0,001) entre os Grupos 1 e 2.

O resultado da análise de correspondência para avaliar associação entre ordem de parto e tipo de infecção intramamária encontrou 84,7% da variabilidade dos dados, como pode ser observado na representação gráfica da Figura 2. As dimensões 1 e 2 explicaram 66,2 e 18,5%, respectivamente, da variabilidade dos dados. As associações mais evidentes foram entre *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e animais na primeira lactação, *S. aureus* e animais na terceira lactação e finalmente entre *S. agalactiae* e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* em animais com quatro ou mais lactações.

Os fatores de risco para presença de *S. aureus* são apresentados na Tab.2. As variáveis “fornecimento de leite de vacas com mastite para bezerros” e “não utilização de serviço laboratorial para diagnóstico bacteriológico” foram os maiores riscos identificados para a presença de *S. aureus*. A presença desses fatores representaram, respectivamente, 5,10 e 4,12 vezes mais chance para o isolamento de *S. aureus* das vacas.

Foram identificados três fatores de risco relacionados aos procedimentos no momento da ordenha e três relacionados à terapia com antibióticos. Um fator de risco

associado ao equipamento de ordenha foi identificado, mostrando que vacas ordenhadas em equipamentos com mais de 6 anos apresentavam 2,64 mais chance de apresentar infecção por *S. aureus*. O menor risco identificado no estudo para infecções intramamárias causadas por *S. aureus* foi realização dos exames dos primeiros jatos entre a lavagem e secagem dos tetos ou após a secagem dos tetos. O risco calculado foi de 1,40 vezes mais chances de apresentar infecção para o agente em relação à realização do exame dos primeiros jatos antes da lavagem dos tetos.

No caso do *S. agalactiae*, os fatores de risco para presença deste agente são apresentados na Tab.3. Animais selecionados para o tratamento a secagem em relação ao tratamento a secagem em todos os animais apresentaram 15,50 vezes mais chances de estarem infectados por *S. agalactiae*, sendo este o maior risco identificado na presente pesquisa. O segundo maior risco identificado para *S. agalactiae* foi não utilizar o serviço laboratorial para diagnóstico bacteriológico, com 4,46 vezes mais chance de ocorrência de casos causados por este agente. Os demais fatores de risco identificados foram relacionados ao manejo do rebanho e as características individuais das vacas.

Tabela 2. Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de *Staphylococcus aureus* como variável dependente

Variável	Fator de Risco	OR	P
LABS	Não utilizar serviço laboratorial (microbiologia)	4,12	***
TSEC	Não realizar tratamento a secagem	2,71	***
SELE	Selecionar animais para tratamento a secagem	2,44	***
COMO	Utilizar pano comum ou jornal para secar tetas	3,23	***
MOMJ	Realizar exames dos primeiros jatos entre a lavagem e secagem das tetas ou após a secagem das tetas	1,40	**
IMCJ	Imergir o conjunto de teteiras em balde com solução desinfetante entre a ordenha dos animais	3,17	***
PRESS	Exercer pressão sobre o conjunto de teteiras no final da ordenha dos animais	0,40	***
FORN	Fornecer leite de vacas com mastite para bezerros	5,10	***
INSE	Inserir toda cânula da bisnaga do antibiótico via intramamária	2,23	***
IDAD	Utilizar equipamentos de ordenha com mais de 6 anos	2,64	***
PESO	Utilizar conjunto de teteiras com peso de 2,2 a 3,8 Kg	0,29	***
TIPOC	Utilizar caneca com retorno para desinfecção das tetas	0,16	***
Constante	-	NA	NA

OR = odds ratio (risco relativo), P = nível de significância da variável no modelo (\*\*\* <0,001; \*\* <0,01); NA = não se aplica; Goodness-of-fit Test (Teste da falta de ajustamento) = 0,95

Tabela 3. Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de *Streptococcus agalactiae* como variável dependente

Variável	Fator de Risco	OR	P
ESC	Apresentar escape de leite	2,21	***
LABS	Não utilizar serviço laboratorial (microbiologia)	4,46	***
TIPOC	Utilizar caneca com retorno para desinfecção das tetas	3,07	***
COMO	Utilizar pano comum ou jornal para secar tetas	0,61	***
SELE	Selecionar animais para tratamento a secagem	15,50	***
EQ	Apresentar úbere desequilibrado	1,47	**
LINH	Não realizar linha de ordenha	4,24	***
COMA	Comprar animais para reposição do rebanho	2,36	***
Constante	-	NA	NA

OR = odds ratio (risco relativo), P = nível de significância da variável no modelo (\*\*\* <0,001; \*\* <0,01); NA = não se aplica; Goodness-of-fit Test (Teste da falta de ajustamento) = 0,06

Para infecções causadas por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, o maior fator de risco identificado foi relacionado à aplicação de antibiótico intramamário (Tab.4). Foi observado que em rebanhos que realizavam a inserção total da cânula da bisnaga de aplicação de antibiótico intramamário, os animais apresentaram 5,99 vezes mais chance de estarem infectados por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em relação aos animais submetidos a técnica de inserção parcial. Os demais riscos variaram de 1,50 a 2,58 e foram relacionados aos procedimentos de ordenha, manejo de ambiente e equipamento de ordenha.

Fatores de risco para *Corynebacterium* spp. são apresentados na Tab. 5. Os maiores riscos para infecções causadas por *Corynebacterium* spp. foram associadas ao manejo do rebanho no momento da ordenha. Utilização de pano comum para secar os tetos, não realizar desinfecção dos tetos antes da ordenha e alimentar os animais antes ou durante a ordenha apresentaram risco entre 3,13 a 3,23. Os demais fatores de risco identificados foram associados ao manejo dos bezerros e equipamento de ordenha.

Tabela 4. Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de *Staphylococcus* spp. coagulase negativo como variável dependente

Variável	Fator de Risco	OR	P
LAGO	Animais terem acesso a lago, açudes ou tanques	2,07	**
LABS	Não utilizar serviço laboratorial (microbiologia)	0,26	***
LAVA	Não lavar os tetos ou lavar com pano comum	2,44	***
PRED	Não realizar desinfecção das tetas antes da ordenha	0,45	***
MOMJ	Realizar exames dos primeiros jatos entre a lavagem e secagem ou após a secagem dos tetos	2,58	***
PRESS	Exercer pressão sobre o coletor de leite no final da ordenha	0,43	***
PREI	Não preparar o animal adequadamente para aplicação de antibiótico intramamário	0,06	***
INSE	Inserir toda cânula da bisnaga do antibiótico via intramamária	5,99	***
ALIM	Alimentar animais antes ou no momento da ordenha	0,14	***
EXTR	Não possuir extratores automáticos do conjunto de teteiras	0,73	0,13
KPAC	Apresentar níveis inadequados de vácuo na ponta da teteira	1,50	*
FREQP	Apresentar frequência de pulsação inadequada dos pulsadores	0,67	**
TREI	Não treinar ordenhadores	0,70	*
Constante	-	NA	NA

OR = odds ratio (risco relativo), P = nível de significância da variável no modelo (\*\*\* <0,001; \*\* <0,01; \*0,05); NA = não se aplica; Goodness-of-fit Test (Teste do bom ajustamento) = 0,57

Tabela 5. Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de *Corynebacterium* spp. como variável dependente

Variável	Fator de Risco	OR	P
COMO	Utilizar pano comum para secar tetas	3,13	***
PRED	Não realizar desinfecção das tetas antes da ordenha	3,16	***
FORN	Fornecer leite de vacas com mastite para bezerros	1,55	***
ALIM	Alimentar animais antes ou no momento da ordenha	3,23	***
IDAD	Utilizar equipamentos de ordenha com mais de 6 anos	1,67	***
EPIG	Apresentar pulsadores funcionando inadequadamente	1,50	**
LAVA	Não lavar o úbere ou lavar com pano comum	1,15	0,23
PROF	Apresentar base do úbere junto ou abaixo do jarrete	0,81	0,08
Constante	-	NA	NA

OR = odds ratio (risco relativo), P = nível de significância da variável no modelo (\*\*\* <0,001; \*\* <0,01); NA = não se aplica; Goodness-of-fit Test (Teste do bom ajustamento) = 0,16

Os fatores de risco associados à presença de *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* nos animais são apresentados na Tab. 6. O maior risco identificado foi “não-realizar desinfecção dos tetos antes da ordenha”, com 5,72 vezes mais chance de

ocorrência de mastite subclínica causada por *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. Os outros fatores de risco foram associados aos procedimentos durante a ordenha, equipamento de ordenha e características das vacas.

Tabela 6. Modelo final de regressão logística com presença ou ausência de *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae* como variável dependente

Variável	Fator de Risco	OR	P
PROF	Apresentar base do úbere junto ou abaixo do jarrete	1,85	***
ESC	Apresentar escape de leite	1,56	**
ALIM	Alimentar animais antes ou no momento da ordenha	2,06	***
LAVA	Não lavar o úbere ou lavar com pano comum	0,88	0,59
PRED	Não realizar desinfecção das tetas antes da ordenha	5,72	***
TIPOC	Utilizar caneca com retorno para desinfecção das tetas	2,60	***
POSD	Não realizar desinfecção das tetas após a ordenha	0,83	0,24
PESO	Utilizar conjunto de teteiras com peso de 2,2 a 3,8 Kg	1,72	**
TROC	Não trocar insufladores em períodos recomendados (2.500 ordenhas ou semestralmente)	0,60	**
Constante	-	NA	NA

OR = odds ratio (risco relativo), P = nível de significância da variável no modelo (\*\*\* <0,001; \*\* <0,01); NA = não se aplica; Goodness-of-fit Test (Teste da falta de ajustamento) = 0,16

Fatores de risco relacionados à terapia com antibióticos identificados no estudo foram “não realizar tratamento a secagem”, “seleção de animais para tratamento a secagem” e “inserção total da cânula da bisnaga de antibiótico para aplicação intramamária”. A não execução destes procedimentos, bem como o procedimento inadequado contribui para não alcançar os objetivos do programa de controle e prevenção de mastite, proposto por Neave et al. (1966), Dodd e Jackson (1971), Elvinger e Natzke (1992), Allore et al. (1998) e Recommended...(2001), que são reduzir o número de novas infecções, diminuir a

duração e eliminar infecções já estabelecidas por meio de terapias com antibiótico. Redução da duração e a eliminação das infecções já estabelecidas podem ser alcançadas com maior eficácia por meio da terapia da vaca seca em todos os animais, conforme Bradley (2002). A alternativa para animais com infecção subclínica crônica e casos clínicos esporádicos e que não eliminaram a infecção após terapia com antibióticos, é o descarte destes animais descrito no Recommended...(2001). As vacas não selecionadas para tratamento a secagem podem manter a infecção no rebanho. A

presença de *S. aureus* e *S. agalactiae* associada a três ou mais lactações sugere que a seleção de animais no tratamento a secagem pode estar causando o quadro de infecção subclínica crônica, o que dificulta o controle dessas infecções no rebanho.

A inserção total da cânula da bisnaga de antibiótico apresentou risco de 2,23 e 5,99 para as infecções causadas por *S. aureus* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo em relação à adoção correta do procedimento. A adoção inadequada do método de inserção da cânula de antibiótico para tratamento a secagem ou de casos clínicos, pode ter introduzido para o interior da glândula mamária *S. aureus* ou *Staphylococcus* spp. coagulase negativos localizados no duto do teto (Reommended..., 2001; Brito et al., 2002). Os resultados revelaram que a adoção inadequada do procedimento de administração intramamária de antibiótico pode ter contribuído para aumentar o número de novas infecções causadas por *S. aureus* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo.

Equipamento de ordenha com mais de seis anos, pulsadores funcionando inadequadamente, pressão de vácuo inadequada na ponta das teteiras e conjunto de teteiras com peso entre 2,2 e 3,8 Kg foram identificados como fatores de risco para *S. aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, *Corynebacterium* spp. e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. Avaliação e manutenção periódica no equipamento de ordenha com objetivo de atender as exigências mínimas para funcionamento sem comprometer a integridade da pele e extremidade dos tetos faz parte do programa de controle e prevenção da mastite, independente da idade do equipamento de ordenha. Equipamentos com maior tempo de uso devem ser avaliados com maior frequência para evitar associações com casos de mastite. A identificação da pressão de vácuo inadequado na ponta do conjunto de teteiras e funcionamento inadequado dos pulsadores como fatores de risco para *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *Corynebacterium* spp. está de acordo com

Mein et al. (2001), que afirmaram que a manutenção da integridade da pele e extremidade dos tetos é uma parte de qualquer programa de controle da mastite. Alta pressão de vácuo na ponta das teteiras e pulsadores funcionando inadequadamente podem provocar edema e lesões na extremidade dos tetos e ordenha incompleta. Estes fatores, isolados ou em conjunto, podem promover condições para novas infecções intramamárias nas vacas. Características relacionadas ao equipamento de ordenha associada a casos de mastite por estreptococos do ambiente foram equipamentos que possuíam o conjunto de teteiras com peso entre 2,2 a 3,8 Kilogramas. O peso do conjunto de teteiras associado à carência de manutenção do equipamento de ordenha e ordenha de tetos molhados podem contribuir para o deslizamento do conjunto de teteiras e possível contaminação dos insufladores com bactérias do ambiente. Fatores de risco identificados no estudo associados ao equipamento de ordenha provavelmente contribuíram para o aumento do número de novas infecções intramamárias nos rebanhos. Os resultados encontrados no estudo são semelhantes aos de Baxter et al. (1992), Hamann et al. (1992), Capuco et al. (1994) e Capuco (2000) e mostraram a importância do funcionamento adequado do equipamento de ordenha no controle e prevenção da mastite. Avaliação periódica do correto funcionamento do equipamento de ordenha e trabalho de motivação dos ordenhadores, discutidos nos trabalhos de Spencer (2002) e Cavazos (2003), podem ser formas de identificar rapidamente possíveis problemas com o equipamento, evitando assim o aparecimento de novos casos de infecções intramamárias.

Utilização de pano comum para secagem dos tetos, imersão do conjunto de teteiras entre a ordenha dos animais, realização do exame dos primeiros jatos entre a lavagem e secagem ou após a secagem, não lavagem dos tetos antes da ordenha ou lavagem com pano comum, não desinfecção dos tetos antes da ordenha, alimentação dos animais antes ou durante a ordenha, utilização de caneca com retorno para

desinfecção dos tetos e ausência de linha de ordenha foram fatores de risco associados ao momento da ordenha que provavelmente contribuíram para o aumento da taxa de novas infecções intramamárias nos rebanhos.

O maior risco associado ao momento de ordenha foi ausência de desinfecção dos tetos antes da ordenha. Animais não submetidos a este procedimento apresentaram 5,72 vezes mais chance de estarem infectados por *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. O pano comum usado para secar os tetos, a solução desinfetante usada nas canecas com retorno e para imersão do conjunto de teteiras, e as mãos do ordenhador poderiam estar funcionando como "ponte" ou fonte ambiental para disseminar agentes da mastite entre os animais do rebanho.

A prática de iniciar a ordenha com exame dos primeiros jatos e posteriormente lavar os tetos, se necessário, secá-los com papel toalha individual, assegura que somente tetos limpos e secos são ordenhados, procedimentos recomendados por Brito et al. (2002). Os procedimentos de limpeza e desinfecção estavam sendo realizados antes da realização do exame dos primeiros jatos, ou seja, antes do contato da mão do ordenhador com os tetos. Sugere-se que as mãos do ordenhador poderiam estar sendo fonte de infecção para os animais ou a "ponte" entre animal infectado e susceptível.

A imersão do conjunto de teteiras em solução desinfetante entre a ordenha dos animais não foi mencionado no programa apresentado no Recommended...(2001). Esta conduta foi identificada como fator de risco para novas infecções intramamárias causadas por *S. aureus*. Este procedimento provavelmente contribuiu para transmissão do agente principalmente em rebanhos com alta frequência de vacas infectadas.

O desinfetante que entra em contato com os tetos e retorna para o interior da caneca pode inativar o princípio ativo de todo o desinfetante, e ao invés de promover assepsia da pele dos tetos pode funcionar como carreador de bactérias, como o *S.*

*agalactiae*. Outro fator que pode ter contribuído para que bactérias oriundas do desinfetante contaminado penetrem no interior da glândula mamária, é que após a ordenha e realização da desinfecção dos tetos, os canais ficam abertos de 30 a 120 minutos. Este fato sugere que utilizar canecas com retorno para desinfecção dos tetos após a ordenha contribuiu para aumentar o número de novas infecções por *S. agalactiae*.

A ordenha de animais que apresentaram caso de mastite clínica por último é mencionada pelo Recommended...(2001). Mesmo sendo possível a eliminação da infecção após terapia com antibiótico dos casos clínicos, existe a possibilidade dos outros quartos mamários do mesmo animal estarem infectados com forma de apresentação subclínica. Desta maneira, fica evidente a importância de ordenhar animais que apresentaram casos de mastite clínica por último. Apesar da linha de ordenha não ter sido identificado como fator de risco para todos tipos de agentes estudados, recomenda-se a adoção do procedimento independente do agente envolvido na infecção.

Não desinfetar ou lavar os tetos antes da ordenha, lavar os tetos com pano comum e momento do exame dos primeiros jatos foram associados aos casos de mastite causados por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo.

Fatores de risco para mastites relacionados ao manejo do rebanho, sem considerar o momento da ordenha, podem ter contribuído para aumentar o número de novas infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo. Esses possíveis fatores de risco foram fornecimento de leite de vacas com mastite para bezerros, vacas com acesso a lagos, tanques ou açudes e compra de animais para reposição do rebanho.

Bezerros criados coletivamente com hábito de mamar uns nos outros e alimentados com leite de vacas que apresentaram mastite pode ter favorecido mastite em vacas na primeira lactação. *Staphylococcus*

desinfecção dos tetos e ausência de linha de ordenha foram fatores de risco associados ao momento da ordenha que provavelmente contribuíram para o aumento da taxa de novas infecções intramamárias nos rebanhos.

O maior risco associado ao momento de ordenha foi ausência de desinfecção dos tetos antes da ordenha. Animais não submetidos a este procedimento apresentaram 5,72 vezes mais chance de estarem infectados por *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. O pano comum usado para secar os tetos, a solução desinfetante usada nas canecas com retorno e para imersão do conjunto de teteiras, e as mãos do ordenhador poderiam estar funcionando como "ponte" ou fonte ambiental para disseminar agentes da mastite entre os animais do rebanho.

A prática de iniciar a ordenha com exame dos primeiros jatos e posteriormente lavar os tetos, se necessário, secá-los com papel toalha individual, assegura que somente tetos limpos e secos são ordenhados, procedimentos recomendados por Brito et al. (2002). Os procedimentos de limpeza e desinfecção estavam sendo realizados antes da realização do exame dos primeiros jatos, ou seja, antes do contato da mão do ordenhador com os tetos. Sugere-se que as mãos do ordenhador poderiam estar sendo fonte de infecção para os animais ou a "ponte" entre animal infectado e susceptível.

A imersão do conjunto de teteiras em solução desinfetante entre a ordenha dos animais não foi mencionado no programa apresentado no Recommended...(2001). Esta conduta foi identificada como fator de risco para novas infecções intramamárias causadas por *S. aureus*. Este procedimento provavelmente contribuiu para transmissão do agente principalmente em rebanhos com alta frequência de vacas infectadas.

O desinfetante que entra em contato com os tetos e retorna para o interior da caneca pode inativar o princípio ativo de todo o desinfetante, e ao invés de promover assepsia da pele dos tetos pode funcionar como carreador de bactérias, como o *S.*

*agalactiae*. Outro fator que pode ter contribuído para que bactérias oriundas do desinfetante contaminado penetrem no interior da glândula mamária, é que após a ordenha e realização da desinfecção dos tetos, os canais ficam abertos de 30 a 120 minutos. Este fato sugere que utilizar canecas com retorno para desinfecção dos tetos após a ordenha contribuiu para aumentar o número de novas infecções por *S. agalactiae*.

A ordenha de animais que apresentaram caso de mastite clínica por último é mencionada pelo Recommended...(2001). Mesmo sendo possível a eliminação da infecção após terapia com antibiótico dos casos clínicos, existe a possibilidade dos outros quartos mamários do mesmo animal estarem infectados com forma de apresentação subclínica. Desta maneira, fica evidente a importância de ordenhar animais que apresentaram casos de mastite clínica por último. Apesar da linha de ordenha não ter sido identificado como fator de risco para todos tipos de agentes estudados, recomenda-se a adoção do procedimento independente do agente envolvido na infecção.

Não desinfetar ou lavar os tetos antes da ordenha, lavar os tetos com pano comum e momento do exame dos primeiros jatos foram associados aos casos de mastite causados por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo.

Fatores de risco para mastites relacionados ao manejo do rebanho, sem considerar o momento da ordenha, podem ter contribuído para aumentar o número de novas infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo. Esses possíveis fatores de risco foram fornecimento de leite de vacas com mastite para bezerros, vacas com acesso a lagos, tanques ou açudes e compra de animais para reposição do rebanho.

Bezerros criados coletivamente com hábito de mamar uns nos outros e alimentados com leite de vacas que apresentaram mastite pode ter favorecido mastite em vacas na primeira lactação. *Staphylococcus*

spp. coagulase negativo são geralmente isolados da flora normal da pele, incluindo pele do esfíncter, e o acesso de animais a lagos, açudes ou tanques pode ter facilitado a penetração deste agente no canal do teto. A compra de animais para reposição do rebanho e sua introdução imediata junto às vacas em lactação sem exames prévios para avaliar a saúde do úbere apareceu como procedimento de risco para a introdução de *S. agalactiae* no rebanho. Verificou-se a importância de exames microbiológicos, principalmente para identificação de *S. aureus* e *S. agalactiae*, em fornecer suporte no programa de controle e prevenção da mastite.

Fatores de risco para mastite associado a características individuais identificados no estudo provavelmente contribuíram para o aumento do número de novas infecções intramamárias. Os fatores de risco identificados foram escape de leite no momento da ordenha, úbere desequilibrado e base do úbere junto ou abaixo do jarrete. O escape de leite no momento da ordenha foi identificado como fator de risco para presença de *S. agalactiae*. Vacas que apresentaram escape de leite antes da ordenha, foram consideradas com mais chances de infecções intramamárias. Esses animais podem apresentar o canal dos tetos largos ou relaxados, o que aumenta o risco de penetração pelos agentes da mastite. Esta característica do animal pode estar associada aos casos de mastite causados por *S. agalactiae*, pois esse agente é altamente contagioso e a penetração do agente pelo canal do teto fica facilitada. Úbere desequilibrado pode estar associado à atrofia de um dos quartos mamários devido a infecções subclínicas crônicas, característica da maioria das infecções causadas por *S. agalactiae*. Animais que apresentaram estas características podem ser fonte de infecção não somente por *S. agalactiae*, mas também por agentes que causam infecção subclínica crônica como o *S. aureus*. O úbere na mesma altura ou abaixo do jarrete apresentou maior chance de infecção intramamária provavelmente devido ao aumento da exposição das extremidades dos tetos a microrganismos ambientais.

Foi verificado que vacas na primeira lactação estavam associadas aos casos de mastite causados por *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, o que sugere que medidas de controle recomendada nos programas podem não estar sendo eficientes para animais na primeira lactação. Leva-se também em consideração a possibilidade de infecções no período pré-parto, já que *Staphylococcus* spp. coagulase negativo faz parte da flora normal da pele.

Animais com quatro ou mais lactações e com úbere junto ou abaixo do jarrete foram associados a ocorrência de casos de mastite por *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. Estas vacas, provavelmente, apresentaram maior chance de contato da extremidade dos tetos com o chão ou outras fontes ambientais de infecção. Altura do úbere em relação ao jarrete é uma consequência da idade ou número de lactações do animal, que pode estar associado a maior taxa de novas infecções intramamárias por estreptococos do ambiente. A falta de limpeza ou higiene do estábulo e ambiente da vaca seca resulta em aumento da exposição das extremidades dos tetos aos agentes ambientais e pode ter sido a causa de novas infecções.

Não demandar serviços laboratoriais para diagnóstico microbiológico da mastite foi identificado como fator de risco para *S. aureus* e *S. agalactiae*. De acordo com o Recommended...(2001), a avaliação periódica de objetivos para a saúde do úbere deve ser baseada em resultados de análises laboratoriais para CCS e identificação dos agentes infecciosos. A identificação dos agentes causadores de mastite clínica ou subclínica associado a características do animal, de acordo com Guterbock et al. (1993) e Sol et al. (1997), proporcionará maior sucesso do tratamento e poderá fornecer indicadores para tomada de decisão caso seja necessário o descarte de algum animal. Bramley e Dodd (1984), Dinsmore et al. (1991), Hogeveen et al. (1995), Brito et al. (1999) e Osteras et al. (1999) destacaram a importância da identificação de bactérias causadoras de

mastite para o desenvolvimento de programas computacionais e conhecer o padrão de infecção do rebanho. A identificação de animais infectados por *S. aureus* e *S. agalactiae* proporcionará que a principal fonte de transmissão desses agentes no rebanho seja controlada por meio de tratamento com antibióticos ou descarte dos animais cronicamente infectados.

### CONCLUSÕES

As características de cada vaca, manejo do rebanho e equipamento de ordenha foram

identificadas como possíveis fatores de risco para infecções intramamárias subclínicas. O maior número de fatores de risco para mastite identificado foi relacionado ao manejo do rebanho. Suporte laboratorial para diagnóstico de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* foi considerado importante no controle e prevenção de mastite pois a identificação de animais infectados é fundamental no programa de controle e prevenção da mastite. Modificação no manejo do rebanho pode resultar em redução dos níveis de mastite subclínica com eficiência a curto ou médio prazo.

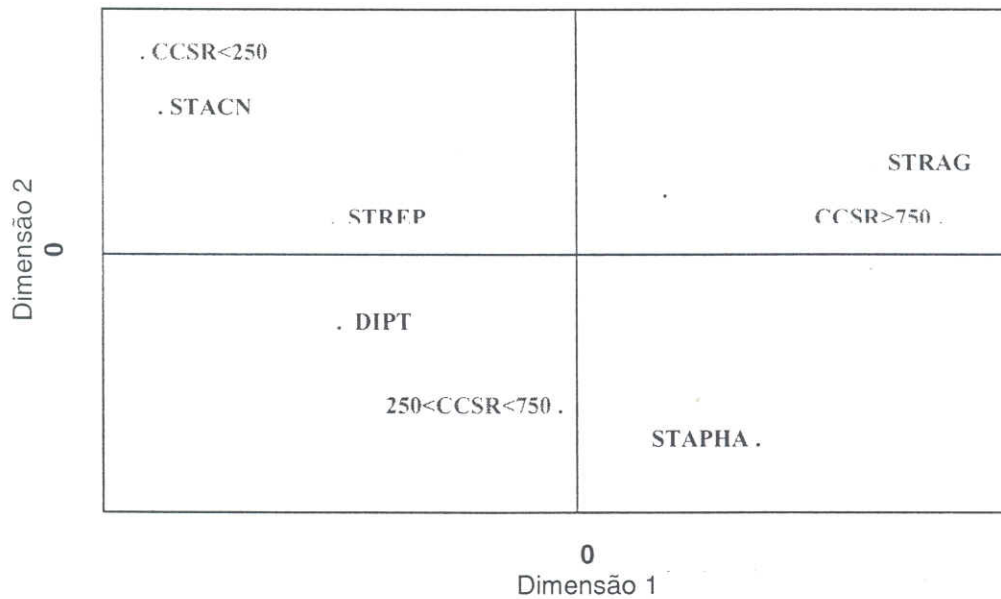


Figura 2 – Representação gráfica da análise de correspondência para avaliar associações entre o tipo de agente isolado (STAPHA – *S. aureus*; STRAG – *S. agalactiae*; STREP – *Streptococcus* que não *S. agalactiae*, STACN – *Staphylococcus* spp. coagulase negativo; DIPT – *Corynebacterium* spp.) e a CCS do rebanho (CCSR<250 – menor que 250.000 células/ml; 250<CCSR<750 – entre 250.000 e 750.000 células/ml; CCSR>750 – maior que 750.000 células/ml).

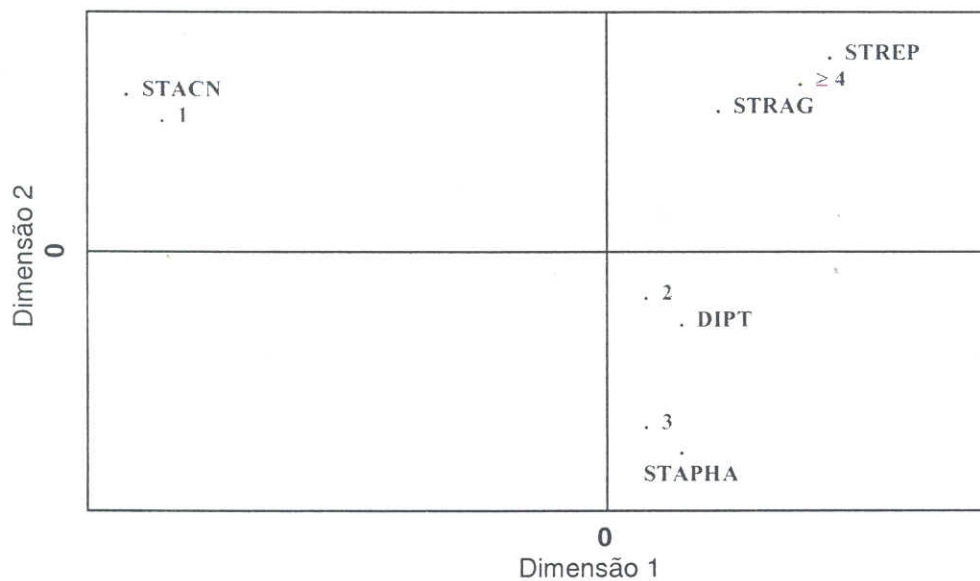


Figura 3 – Representação gráfica da análise de correspondência para avaliar associações entre o tipo de agente isolado (STAPHA – *S. aureus*; STRAG – *S. agalactiae*; STREP – *Streptococcus* que não *S. agalactiae*, STACN – *Staphylococcus* spp. coagulase negativo; DIPT – *Corynebacterium* spp.) e ordem de parto (1 – uma lactação; 2 – duas lactações; 3 – três lactações; 4 – quatro ou mais lactações).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLORE, H. G.; ERB, H. N.; SCHRUBEN, L. W.; OLTENACU, P. A. A simulation of strategies to lower bulk tank somatic cell count below 500,000 per milliliter. *Journal of Dairy Science*, v. 81, n. 3, p. 694-702, 1998.
- BAXTER, J. D.; ROGERS, G. W.; SPENCER, S. B.; EBERHART, R. J. The effect of milking machine liner slip on new intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, v. 75, n. 4, p. 1015-1018, 1992.
- BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary Journal*, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.
- BRAMLEY, A. J.; DODD, F. H. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control – progress and prospects. *Journal of Dairy Research*, v. 51, n.3, p. 481-512, 1984.
- BRITO, J. R. F. *Coleta de amostras de leite para determinação da composição química e contagem de células somáticas*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. 16 p. (Circular Técnica, 62).
- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. *Como (re)conhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2002. 8 p. (Circular Técnica, 70).
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n. 2, p. 129-135, 1999.
- CAPUCO, A. V.; MEIN, G. A.; NICKERSON, S. C. et al. Influence of pulsationless milking on teat canal keratin and mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 1, p. 64-74, 1994.
- CAPUCO, A. V.; WOOD, D. L.; QUAST, J. W. Effects of teatcup liner tension on teat canal keratin and teat condition cows. *Journal Dairy Research*, v. 67, n. 3, p. 319-327, 2000.
- CAVAZOS, F. Useful ideas and principles for the implementation of reinforcement programs to keep milkers motivated. In: ANUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 42., 2003, Fort Worth. *Proceedings*. . . Madison: NMC, 2003. p. 77-85.
- DINSMORE, R. P.; ENGLISH, P. B.; GONZALEZ, R. N. et al. Evaluation of methods for the diagnosis of *Streptococcus agalactiae* intramammary infections in dairy cattle. *Journal Dairy Science*, v. 74, n. 5, p. 1521-1526, 1991.
- DODD, F. H.; JACKSON, E. R. *The control of bovine mastitis*. Berkshire: Unwin Brothers, 1971. 130p.
- DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. *Veterinary epidemiologic research*. Charlottetown: AVC., 2003. 706 p.
- ELVINGER, F.; NATZKE, R. P. Elements of mastitis control. In: VAN HORN, H. H.; WILCOX, C. J. *Large dairy herd management*. Champaign: American Dairy Science Association, 1992. p. 440-447.
- FRANKENA, K.; GRAAT, E. A. M. Multivariate analysis: logistic regression. In: NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C. M. et al. *Application of quantitative methods in veterinary epidemiology*. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. p. 135-178.
- GRAAT, E. A. M.; FRANKENA, K.; BOS, H. Principles and methods of sampling in animal diseases surveys. In: NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C. M. et al. *Application of quantitative methods in veterinary epidemiology*. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. p. 31-62.

- GUTERBOCK, W. M.; VAN EENEHNAAM, A. L.; ANDERSON, R. J.; GARDNER, I. A.; CULLOR, J. S.; HOLMBERG, C. A. Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *Journal Dairy Science*, v. 76, n. 11, p. 3437-3444, 1993.
- HAMANN, J.; MEIN, G. A.; WETZEL, S. Teat tissue reactions to milking: effects of vacuum level. *Journal Dairy Science*, v. 76, n. 4, p. 1040-1046, 1992.
- HARMON, R. J.; EBERHART, R. J.; JASPER, D. E. et al. *Microbiological procedures for diagnosis of bovine udder infection*. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34 p.
- HOBLET, H.; HUESTON, W. D. et al. Mastitis microbiology simplified. *Bovine Practitioner*, n. 21, p. 77-78, 1986.
- HOGVEEN, H.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; TEPP, D. M. et al. A knowledge-based system for diagnosis of mastitis problems at the herd level. 1. Concepts. *Journal Dairy Science*, v. 78, n. 7, p. 1430-1440, 1995.
- HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. *Applied logistic regression*. New York: John Wiley & Sons, 1989. 307 p.
- JACKSON, E. R. Elimination of intramammary infections. In: DODD, F. H.; JACKSON, E. R. *The control of bovine mastitis*. Berkshire: Unwin Brothers, 1971. p. 25-34.
- LABORATORY and field handbook on bovine mastitis. Arlington: National Mastitis Council, 1987. 208 p.
- LEIGH, J. A. *Streptococcus uberis*: a permanent barrier to the control of bovine mastitis? *The Veterinary Journal*, v. 157, n. 3, p. 225-238, 1999.
- LEMESHOW, S.; HOSMER, D. W. Estimating odds ratios with categorically scaled covariates in multiple logistic regression analysis. *American Journal of Epidemiology*, v. 119, n. 2, p. 147-151, 1984.
- MEIN, G. A.; NEIJENHUIS, F.; MORGAN, W. F. et al. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. Non-infectious factors. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MASTITIS AND MILK QUALITY, 2., 2001, Vancouver. *Proceedings...Vancouver: NMC, 2001. p. 347-351.*
- NEAVE, F. K.; DODD, F. H.; KINGWILL, R. G. A method of controlling udder disease. *Veterinary Record*, v. 78, n. 15, p. 521-523, 1966.
- OSTERAS, O.; EDGE, V. L.; MARTIN, S. W. Determinants of success or failure in the elimination of major mastitis pathogens in selective dry cow therapy. *Journal Dairy Science*, v. 82, n. 6, 1221-1231, 1999.
- PEELER, E. J.; GREEN, M. J.; FITZPATRICK, J. L.; MORGAN, K. L.; GREEN, L. E. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. *Journal Dairy Science*, v. 83, n. 11, p. 2464-2472, 2000.
- RECOMMENDED Mastitis Control Program. 2001. Disponível em: <<http://www.nmconline.org/docs/NMC10steps.pdf>>. Acesso em: 18/05/2003.
- SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada a experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.
- SAS/STAT user's guide, version 6. Cary: SAS, 1990.

SOL, J.; SAMPIMON, O. C.; SNOEP, J. J. et al. Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal Dairy Science*, v. 80, n. 11, p. 2803-2808, 1997.

SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; BASTOS, R. R.; RUBIALE, L. Avaliação de associações e similaridades em epidemiologia veterinária por meio da análise de correspondência. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 54, n. 5, p. 539-542, 2002.

SPENCER, S. B. Equipamento de ordenha X Controle de mastite e qualidade do leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2., 2002, Ribeirão Preto. *Anais...* São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2002. p. 119-148.

STATISTICAL Package for the Social Science, version 8. 0. Chicago: SPSS, 1998.

THRUSFIELD, M. V.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Current areas of application of epidemiology and perspectives. In: NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; van der HOOFD, C. M.; GRAAT, E. A. M. *Application of quantitative methods in veterinary epidemiology*. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. p. 15-30.

## ANEXOS

### Questionário 1

Código do rebanho \_\_\_\_\_ Código da Embrapa \_\_\_\_\_  
Proprietário \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Nome da propriedade \_\_\_\_\_

Cidade \_\_\_\_\_ Estado \_\_\_\_\_ CEP \_\_\_\_\_

1. Tempo em que está na atividade \_\_\_\_\_ anos

#### Características do rebanho

2. Número de vacas em lactação \_\_\_\_\_ 3. Número de vacas secas \_\_\_\_\_

4. Vacas de primeira cria: \_\_\_\_\_ 5. Vacas de segunda cria: \_\_\_\_\_

6. Vacas de terceira cria: \_\_\_\_\_ 7. Vacas com mais de 3 crias: \_\_\_\_\_

8. Produção total de leite por dia: \_\_\_\_\_ litros.

9. Sistema de produção: Semi-estabulado ( ) Free stall ( ) A pasto ( )

10. Local de ordenha: Sala de ordenha ( ) Curral ( ) Outro ( ) \_\_\_\_\_

11. Tipo de ordenha: Manual sem bezerro ao pé ( ) Manual com bezerro ao pé ( )

Mecânica - balde ao pé ( ) Mecânica (sistema canalizado) ( ) Outros ( ) \_\_\_\_\_

12. Idade dos equipamentos de ordenha \_\_\_\_\_ anos

13. Raça do rebanho: Holandês ( ) Pardo Suíço ( ) Jersey ( ) Gir ( )

Mestiço ( ) Outro ( ) (Qual?) \_\_\_\_\_

14. Água é tratada: Sim ( ) Produto usado \_\_\_\_\_ Não ( )

#### Manejo e cuidados higiênicos durante a ordenha/mastite

15. Faz linha de ordenha: Sim ( ) Não ( )

16. Examina os primeiros jatos de leite: Sim ( ) Não ( )

17. Lava as tetas antes da ordenha: Sim ( ) Não ( )

18. Seca as tetas antes da ordenha: Sim ( ) Usa papel toalha ( ) Usa pano ( )

Não ( )

19. Desinfeta tetas antes da ordenha deixando o desinfetante agir de 20 a 30 segundos antes de secar: Sim ( ) Produto \_\_\_\_\_ Não ( )

20. Vacas são alimentadas antes ou durante a ordenha: Sim ( ) Não ( )

21. Desinfeta tetas após a ordenha:

Sim ( ) Produto \_\_\_\_\_ Não ( )

22. Entre a ordenha de um animal e outro o conjunto de teteiras é imerso em alguma solução desinfetante: Sim ( ) Não ( )

23. Vacas se deitam imediatamente após a ordenha: Sim ( ) Não ( )

24. Faz tratamento à secagem:

Sim ( ) Produto \_\_\_\_\_ Não ( )

25. Quais animais são submetidos ao tratamento à secagem: Todas as vacas ( )

Parte do rebanho ( )

26. Trata os casos clínicos:

Sim ( ) Produto \_\_\_\_\_ Não ( )

#### Armazenamento e transporte do leite

27. Refrigera o leite na propriedade: Sim ( ) Não ( )

28. Como é feito o resfriamento: Tanque de expansão ( ); Tanque de imersão ( )

29. Temperatura do leite no tanque de expansão 1 hora após o término da ordenha: \_\_\_\_\_ °C

30. Transporte do leite: Latão ( ) A granel ( )

31. Frequência de coleta de leite na propriedade: \_\_\_\_\_



## Questionário 2

Data da entrevista: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### A IDENTIFICAÇÃO

1. Produtor: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_
2. Endereço: \_\_\_\_\_
3. Veterinário: \_\_\_\_\_
4. Endereço: \_\_\_\_\_

### B DADOS DO REBANHO

5. Raça: Holandês ( ) ; Jersey ( ) ; Pardo Suíço ( ) ; Girolanda ( ) ; Mestiço ( )  
Outros ( ) Especificar \_\_\_\_\_
6. Produção diária de leite (rebanho) \_\_\_\_\_ litros
7. Número de vacas em lactação: \_\_\_\_\_
- 7.1 Início da lactação (fase 1 – 0 a 100 dias) \_\_\_\_\_
- 7.2 Meio da lactação (fase 2 – 101 a 200 dias) \_\_\_\_\_
- 7.3 Final da lactação (fase 3 - > 200 dias) \_\_\_\_\_
8. Número de vacas secas: \_\_\_\_\_
9. Sistema de produção (tipo de estabulação): Totalmente confinado (Free stall): ( ) ;  
A pasto: ( ) ;  
Semi-confinado (parte do tempo confinado e outra parte do tempo a pasto): ( ) .
10. O rebanho faz parte de um programa de CCS? Sim ( ) Não ( ) .
11. Há quanto tempo faz controle de CCS? < de 6 meses ( ) ; 6 a 12 meses ( ) ;  
> de 12 meses ( )
12. Resultados de análise de CCS do rebanho nos últimos 6 meses.  
1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_  
4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_ 6. \_\_\_\_\_
13. São realizadas anotações zootécnicas? Sim ( ) Não ( ) .

### C BIOSSEGURANÇA

14. Destino das vacas doentes? Não separa ( ) ; Piquete ou local separado ( )  
Outros \_\_\_\_\_
15. Fontes de reposição do rebanho: Próprio rebanho: ( ) ; Compra vacas ( ) ; Compra novilhas ( ) ; Touro ( )  
Obs. \_\_\_\_\_
16. Esquema de reprodução do rebanho? Monta natural ( ) Inseminação artificial ( )  
Transferência de embriões ( )
17. Touros, sêmen ou embriões são provenientes de fornecedores que possuem um programa de controle de doenças infecciosas? ( ) Sim ( ) Não
18. Os animais adquiridos são mantidos em quarentena? ( ) Sim ( ) Não  
Local da quarentena \_\_\_\_\_
19. É requerido atestado sanitário dos animais adquiridos? ( ) Sim ( ) Não  
Quais? Tuberculose ( ) Brucelose ( ) Aftosa ( ) ; Outros \_\_\_\_\_
20. É fornecido atestado sanitário dos animais a serem vendidos? ( ) Sim ( ) Não  
Quais? Tuberculose ( ) Brucelose ( ) Aftosa ( ) ;  
Outros \_\_\_\_\_

21. Fonte e tratamento da água: Tratada ( ) ; Não tratada ( ) ; Canalizada ( ) ;  
Poço artesiano ( ) Outras fontes (córrego, açude, rio, etc.) ( )  
Obs. \_\_\_\_\_
22. Produto utilizado no tratamento da água? \_\_\_\_\_
23. Tipos de silos utilizados? ( ) subterrâneos; ( ) aéreos; ( ) trincheira; ( ) superfície
24. Localização e distância do silo em relação ao estábulo \_\_\_\_\_  
e sala de ordenha \_\_\_\_\_
25. Armazenamento das rações? colocadas diretamente no chão ( ) colocadas em estrados (suspensas) ( )
26. Os animais têm contato com os animais de outras propriedades? Sim ( ) Não ( )
27. Existe contato entre os animais de diferentes grupos de idade? Sim ( ) Não ( )
28. As vacas em lactação são mantidas separadas do restante do rebanho? Sim ( ) Não ( )
29. Há um programa sanitário para o rebanho planejado e assistido por um veterinário?  
Sim ( ) ; Não ( )
30. Controle sanitário do rebanho

	Sim	Não	Época	Comentários		
Manqueira (Vacinação)	( )	( )				
Aftosa (Vacinação)	( )	( )				
Raiva (Vacinação)	( )	( )				
Brucelose (Vacinação)	( )	( )				
Tuberculose (Exame)	( )	( )				
Brucelose (Exame)	( )	( )				
Controle de mastite subclínica	( )	( )				
Controle de mastite clínica	( )	( )				
Problemas de casco (exame)	( )	( )				
Outros:	( )	( )				
Helmintose:			Época	Produto Utilizado	Freqüência	Comentários
Categoria Animal						
Bezerros:	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Novilhas:	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Vacas gestantes	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Vacas em Lactação:	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Vacas Secas:	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Carrapatos:						
Categoria Animal						
Bezerros:	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Novilhas:	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Vacas prenhes:	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Vacas em Lactação:	( )	( )	_____	_____	_____	_____
Vacas Secas:	( )	( )	_____	_____	_____	_____

31. Os animais medicados são identificados com marcas ou brincos? Sim ( ) ; Não ( ) .
32. É permitido aos animais ficarem parados em lagoas ou tanques, águas paradas e poço de lama? Sim ( ) Não ( ) .
33. Tipo de superfície do estábulo: Concreto: ( ) ; Chão batido: ( ) ;  
Calçado (pé de moleque) ( ) ; Outros ( ) \_\_\_\_\_
34. Tipo de cama: Nenhuma: ( ) ; Serragem: ( ) ; Palha: ( ) ; Areia: ( ) ;  
Outros: ( ) \_\_\_\_\_

35. Existe contato de fezes e urina com a água ou alimentos fornecidos? Sim ( ) Não ( )
36. A condição geral (limpeza) dos animais é aceitável? Ruim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Excelente  
Comentários \_\_\_\_\_
37. Há controle populacional de roedores? Sim ( ) Não ( )
38. Existe acesso de pássaros ou roedores nos galpões de armazenamento de alimentos?  
Sim ( ) Não ( )
39. Há controle de moscas? Sim ( ) Não ( )
40. Há contato dos animais do rebanho com outras espécies animais? Sim ( ) Não ( )
41. Qual(is) espécie(s)? \_\_\_\_\_
42. Serviços laboratoriais (bacteriológico e/ou antibiograma) são utilizados? Sim ( ) Não ( )

#### D ALIMENTAÇÃO

43. Anotar as condições de armazenamento dos alimentos (presença ou ausência de mofo):  
Presença 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Ausência  
Comentários \_\_\_\_\_
44. A fonte de proteína utilizada na ração é de origem animal? Sim ( ) Não ( )
45. Observar as condições higiênicas das pistas de alimentação/cochos (limpos, sem esterco)  
Ruim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Excelente
46. Existem locais diferenciados para alimentação das vacas doentes e sadias? Sim ( ) Não ( )

#### E MATERNIDADE

47. Existe um local apropriado para o parto? Sim ( ) Não ( )  
Localização \_\_\_\_\_
48. Condições higiênicas do local do parto: Ruim (úmido, sujo) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Excelente  
(seco, limpo)

#### F CRIAÇÃO DE BEZERROS

49. Fornecimento do colostro: Sim ( ) Não ( )
50. Criação dos bezerros: Casinha individual ( ); Bezerreiro (coletivo) ( )  
Outros \_\_\_\_\_
51. Condições higiênicas do local onde ficam os bezerros até o desmame:  
Ruim (úmido, sujo) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Excelente (seco, limpo)
52. É permitido que os bezerros mamem em outros bezerros? Sim ( ) Não ( )
53. Leite proveniente de vacas com mastite é fornecido aos bezerros? Sim ( ) Não ( )
54. Leite com resíduo de antibiótico é fornecido aos bezerros? Sim ( ) Não ( )

#### G FASE DE LACTAÇÃO

55. As tetas são limpas antes da ordenha? Sim ( ); Não ( ).
56. Como as tetas são lavadas? Não são lavadas ( ); Água corrente ( ); Água em balde ( );  
Papel toalha com desinfetante ( ); Pano com desinfetante ( ) Outros ( ) \_\_\_\_\_
57. Como as tetas são secas? Não secam ( ) Pedaco de pano comum para todos ( )  
Papel-toalha individual ( ) Toalha de pano individual ( ); Outros \_\_\_\_\_
58. Estado das tetas depois da limpeza? Ruim (sujas, molhadas) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Excelente  
(limpas, secas)
59. As tetas são submetidas ao "pre-dipping"? Sim ( ) Não ( )
60. Se sim, qual o produto usado? \_\_\_\_\_ Concentração usada \_\_\_\_\_  
Concentração recomendada pelo fabricante \_\_\_\_\_  
O produto é preparado na propriedade? Sim ( ) Não ( )
61. O tempo de contato com a solução é adequado (20 a 30 segundos)? Sim ( ) Não ( )

62. Toda a solução é removida após a secagem da teta? Sim ( ) Não ( )
63. Os primeiros jatos de leite são examinados para verificar anormalidades? Sim ( ) Não ( )
64. Frequência de exame dos primeiros jatos: Todas as ordenhas ( ); 1 vez por dia ( );  
Ocasional ( ).
65. Em que momento os primeiros jatos de leite são examinados para verificar anormalidades?  
Antes da lavagem e secagem das tetas ( ); Após a lavagem e secagem das tetas ( );  
Entre a lavagem e a secagem ( ); Após pre-dipping ( ).
66. As vacas são tratadas gentilmente? Sim ( ) Não ( )
67. As tetas são desinfetadas depois da ordenha? Sim ( ) Não ( )
68. Se sim, como é feita a imersão da teta: completamente ( );  $\frac{3}{4}$  ( );  $\frac{1}{3}$  inferior ( )
69. Recipiente usado para desinfetar as tetas: Com retorno ( ); Sem retorno ( );  
Outros ( ) \_\_\_\_\_
70. Intervalo de troca no recipiente do desinfetante usado após a ordenha? Diário ( );  
Completa com o que sobrou do dia anterior; ( ) Intervalos maiores que um dia ( ).
71. Qual produto usado? \_\_\_\_\_ Concentração usada \_\_\_\_\_  
Concentração recomendada pelo fabricante \_\_\_\_\_  
Solução desinfetante é totalmente preparada na fazenda ( ) ou somente diluída ( )
72. Condições dos filtros (coador) de leite após a ordenha: Sujo 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Limpo.  
Tipo de coador: aço inoxidável ( ) plástico ( ) tecido ( ) Não usa ( )
73. Quantas ordenhas são realizadas por dia? Uma ( ); Duas ( ); Três ( )
74. Horário da ordenha: primeira \_\_\_\_\_ segunda \_\_\_\_\_ terceira \_\_\_\_\_  
Comentários: \_\_\_\_\_
75. A alimentação é fornecida após a ordenha para que as vacas fiquem de pé por no mínimo  
1 hora? Sim ( ) Não ( )
76. É adotada a linha de ordenha? Sim ( ); Não ( ) Animais são ordenhados por lotes de  
produção ( )
70. Em caso positivo, qual a ordem utilizada na linha de ordenha?  
1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_

## H MASTITE E TRATAMENTO

81. Há registro dos casos de mastite clínica ? Sim ( ) Não ( ).
82. É feita a coleta de amostras de leite para exames bacteriológicos; Sim ( ) Não ( )  
Ocasionalmente ( ). Em caso positivo, quais os patógenos isolados \_\_\_\_\_
83. Em que vacas ocorre a maioria dos casos clínicos? Vacas secas ( );  
Vacas recém paridas ( ); Vacas primíparas (1ª cria) em lactação ( );  
Vacas de alta produção ( ); Vacas com mais de 2 crias em lactação ( ).
84. As tetas são limpas adequadamente e sanitizadas antes da administração do tratamento?  
Sim ( ) Não ( )
85. Na administração das infusões intramamárias é usado a técnica de inserção parcial ?  
Sim ( ); Não ( ).
86. Medicamento usado para tratamento da mastite clínica nas vacas em lactação e o  
esquema de tratamento:  
Nome comercial: \_\_\_\_\_  
Esquema: \_\_\_\_\_
87. Obedece o período de carência dos antibióticos para o aproveitamento do leite?  
Sim ( ) Não ( )
88. Faz-se a identificação do leite proveniente de vacas tratadas? Sim ( ) Não ( )
89. Faz-se a identificação do leite de vacas com suspeita de mastite ou outra doença?  
Sim ( ) Não ( )
90. Como é feito o descarte do leite?  
De todos os quartos ( ) Somente do quarto tratado ( ) Não é feito descarte ( ).
91. Qual o destino do leite do animal tratado?  
\_\_\_\_\_

## I EQUIPAMENTOS DE ORDENHA E ARMAZENAMENTO DO LEITE

92. Tipo de sala de ordenha. Espinha de peixe ( ); Estábulo ( ); Outros ( )  
Especificar \_\_\_\_\_
93. Tipo de ordenha? Balde ao pé ( ); Circuito fechado ( )
94. Antes de cada ordenha se faz a sanitização com o produto e água quente?  
Sim ( ) Não ( )  
Comentários gerais: \_\_\_\_\_
95. Ambiente antes da ordenha: Limpo e seco ( ); Limpo e molhado ( ); Sujo ( ).
96. Para limpeza da ordenhadeira e do tanque de expansão a propriedade dispõe de: água corrente? Sim ( ) Não ( ) Quente ( ) Fria ( )
97. A limpeza da ordenhadeira é realizada com lavador automático ( ) ou manual ( ).
98. Um injetor de ar está presente e funcionando para facilitar a limpeza adequada de todas as superfícies de contato com o leite? Sim ( ) Não ( )
99. O leite é refrigerado imediatamente após a ordenha: Sim ( ) Não ( )
100. Local de armazenamento: tanque de expansão ( ); tanque comunitário ( ); imersão ( )
101. Qual a capacidade do tanque de expansão? \_\_\_\_\_
102. A coleta é realizada em dias alternados ( ) ou diariamente ( ).
103. Qual é a temperatura do leite no tanque de expansão no final de ordenha? \_\_\_\_\_ °C.
104. Quanto tempo após a primeira ordenha, a temperatura do leite no tanque chega a 3-4 °C? \_\_\_\_\_ horas
105. Qual a temperatura do leite no momento da coleta? \_\_\_\_ °C
106. Limpeza da ordenhadeira:

	Marca/tipo	Concentração usada	Frequência de uso	Concentração recomendada pelo fabricante
Det. alcalino				
Det. ácido				
Sanitizante				

107. Limpeza do tanque de expansão:

Produto	Marca	Concentração usada	Frequência de uso	Concentração recomendada pelo fabricante
Det. alcalino				
Det. ácido				
Sanitizante				

**J MÃO DE OBRA**

108. Comportamento higiênico (vestimenta limpa e adequada; higiene pessoal) e obediência aos procedimentos recomendados (Ruim) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 (Excelente)
- 109 Os operadores foram treinados para efetuar a limpeza do tanque de expansão, ordenhadeira ou latões Sim ( ) Não ( )

**K SECAGEM DAS VACAS**

110. Método usado para secagem das vacas: Abrupto ( ); Lento ( )
111. Faz tratamento da vaca seca? Sim ( ) Não ( )
112. Qual o medicamento usado na terapia de vaca seca? \_\_\_\_\_
113. Método de uso de medicamento nas vacas secas: Todas as vacas ( )  
Vacas selecionadas ( )

Comentários \_\_\_\_\_

114. Local destinado às vacas secas: separado ( ); não separado de outras categorias ( )

### Questionário 3

Data da entrevista: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### A Identificação

32. Produtor: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_  
33. Endereço: \_\_\_\_\_  
34. Veterinário: \_\_\_\_\_  
35. Endereço: \_\_\_\_\_

#### B Dados do Rebanho

1. Raça do rebanho: Holandês ( ) ; Jersey ( ) ; Pardo Suíço ( ) ; Girolanda ( ) ; Mestiço ( )  
Outros ( ) Especificar \_\_\_\_\_
2. Número de vacas em lactação: \_\_\_\_\_  
Início da lactação (fase 1 – 0 a 100 dias) \_\_\_\_\_  
Meio da lactação (fase 2 – 101 a 200 dias) \_\_\_\_\_  
Final da lactação (fase 3 - > 200 dias) \_\_\_\_\_
3. Número de vacas secas: \_\_\_\_\_
4. Sistema de produção (tipo de estabulação): Totalmente confinado (Free stall): ( ) ;  
A pasto: ( ) ; Semi-confinado (parte do tempo confinado e outra parte do tempo a pasto): ( )
5. O rebanho faz parte de um programa de CCS? Sim ( ) ; Não ( ) .
6. Há quanto tempo faz controle de CCS? < de 6 meses ( ) ; 6 a 12 meses ( ) ; > de 12 meses ( )
7. Resultados de análise de CCS do rebanho nos últimos 6 meses.  
1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_  
4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_ 6. \_\_\_\_\_
8. Meses em que ocorre a maior parte dos partos: \_\_\_\_\_
9. Fontes de reposição do rebanho: Próprio rebanho: ( ) ; Compra vacas ( ) ;  
Compra novilhas ( ) .
10. Tipo de superfície do estábulo: Concreto: ( ) ; Chão batido: ( ) ;  
Calçado (pé de moleque) ( ) ; Outros ( ) \_\_\_\_\_
11. Tipo de cama: Nenhuma: ( ) ; Serragem: ( ) ; Palha: ( ) ; Areia: ( ) ;  
Outros: ( ) \_\_\_\_\_
12. A condição geral (limpeza) dos animais é aceitável? Ruim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Excelente  
Comentários \_\_\_\_\_
13. Há um programa sanitário do rebanho planejado e assistido por um veterinário? Sim ( ) ;  
Não ( )
14. Os animais são identificados com marcas ou brincos? Sim ( ) ; Não ( ) .
15. É permitido aos animais ficarem parados em lagoas ou tanques, águas paradas e poço de lama? Sim ( ) ; Não ( ) .
16. É permitido que os bezerros mamem em outros bezerros? Sim ( ) Não ( )
17. Há um controle de moscas efetivo? Sim ( ) Não ( )
18. Serviços laboratoriais (bacteriológico e antibiograma) são utilizados? Sim ( ) Não ( )
19. São realizadas anotações Zootécnicas? Sim ( ) Não ( )
20. Método usado para secagem das vacas: Abrupto ( ) ; Lento ( )
21. Quantas ordenhas são realizadas por dia? Uma ( ) ; Duas ( ) ; Três ( )
22. Qual o horário das ordenhas? Primeira ordenha: \_\_\_\_\_ horas.  
Segunda ordenha: \_\_\_\_\_ horas Terceira ordenha: \_\_\_\_\_ horas.  
Comentários gerais: \_\_\_\_\_

**C Produção de leite, higiene e saúde do rebanho.**

23. As tetas são limpas antes da ordenha? Sim ( ) ; Não ( ).
24. Como as tetas são lavadas? Não são lavadas ( ) ; Água corrente ( ) ; Água em balde ( ) ; Papel toalha com desinfetante ( ) ; Pano com desinfetante ( ) Outros ( ) \_\_\_\_\_
25. Como as tetas são secas? Não secam ( ) Pedaco de pano comum para todos ( ) ; Papel-toalha individual ( ) Toalha de pano individual ( ) ; Outros \_\_\_\_\_
26. Estado das tetas depois da limpeza? Ruim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Excelente
27. As tetas são submetidas ao "predipping"? Sim ( ) Não ( )
28. Se sim, qual o produto usado? \_\_\_\_\_ Concentração usada \_\_\_\_\_  
Concentração recomendada pelo fabricante \_\_\_\_\_
29. O tempo de contato com a solução é adequado (20 a 30 segundos)? Sim ( ) Não ( )
30. Toda a solução é removida após a secagem da teta? Sim ( ) Não ( )
31. Os primeiros jatos de leite são examinados para verificar anormalidades? Sim ( ) Não ( )
32. Frequência de exame dos primeiros jatos: Todas as ordenhas ( ) ; 1 vez por dia ( ) ; Ocasional ( ).
33. Em que momento os primeiros jatos de leite são examinados para verificar anormalidades? Antes da lavagem e secagem das tetas ( ) ; Após a lavagem e secagem das tetas ( ) ; Entre a lavagem e a secagem ( ) ; Após pre-dipping ( ).

69. Tempo de ordenha (observar 10 animais aleatoriamente)

	Tempo de preparação (T1)	Tempo de ordenha (T2)	Tempo Total
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

T1 - tempo médio que ocorre entre o primeiro contato com as tetas e o início da ordenha

T2 - tempo médio de ordenha (colocação da unidade – remoção)

70. As teteiras são aplicadas suavemente e com um mínimo de admissão de ar? Sim ( ) Não ( )
71. É realizado a lavagem dos conjuntos após cada vaca ordenhada ? Sim ( ) Não ( ).  
Como? \_\_\_\_\_
72. As unidades da ordenha são mantidas corretamente alinhadas com o úbere?  
Sim ( ) ; Não ( )
73. Há deslizamento das teteiras? (observar aleatoriamente 20 vacas e verificar quantos deslizamentos houve): \_\_\_\_\_deslizamentos.
74. Há queda de teteiras e/ou conjunto de ordenha? Excessivo 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Nenhum.
75. É visível a forma de determinar quando o fluxo de leite cessa? Sim ( ) Não ( )
76. As vacas são sobre-ordenhadas? Excessivo 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Nenhum.
77. Pressão manual sobre o coletor é feita somente quando necessário ? Sim ( ) Não ( )
78. A entrada de ar é permitida entre a teteira e teta durante a pressão manual sobre o coletor? Sim ( ) Não ( )
79. O vácuo é desligado antes das teteiras serem removidas? Sim ( ) Não ( )

80. O vácuo é automaticamente cortado quando o conjunto de teteira cai no chão?  
Sim ( ); Não ( ). \_\_\_\_\_
81. As vacas são tratadas gentilmente? Sim ( ) Não ( )
82. As tetas são desinfetadas depois da ordenha? Sim ( ) Não ( )
83. Se sim, a teta é imersa completamente ( );  $\frac{3}{4}$  ( );  $\frac{1}{3}$  inferior ( ) na solução desinfetante.
84. Qual caneca usada para desinfetar as tetas? Com retorno ( ); Sem retorno ( );  
Outros ( ) \_\_\_\_\_
85. Qual o intervalo de troca no recipiente do desinfetante usado após a ordenha?  
Diário ( ); Completa com o que sobrou do dia anterior; ( )  
Intervalos maiores que um dia ( )
86. Qual produto usado? \_\_\_\_\_ Concentração usada \_\_\_\_\_  
Concentração recomendada pelo fabricante \_\_\_\_\_
87. Condições dos filtros após a ordenha: Sujo 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Limpo.

#### D Mastite e tratamento

88. Há registro de mastite clínica? Sim ( ) Não ( ).
89. Em que vacas ocorre a maioria dos casos clínicos? Vacas secas ( );  
Vacas recém paridas ( ); Vacas primíparas (1ª cria) em lactação ( );  
Vacas de alta produção ( ); Vacas com mais de 2 crias em lactação ( ).
90. O leite com mastite é usado para alimentar os bezerros? Sim ( ) Não ( )
91. As tetas são limpas adequadamente e sanitizadas antes da administração do tratamento?  
Sim ( ) Não ( )
92. Na administração das infusões intramamárias é usado a técnica de inserção parcial?  
Sim ( ); Não ( ).
93. Medicamento usado para tratamento da mastite clínica nas vacas em lactação e o esquema de tratamento? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
94. Obedece o período de carência dos antibióticos para o aproveitamento do leite?  
Sim ( ); Não ( )
95. Em caso positivo, o leite é destinado para amamentação dos bezerros? Sim ( ) Não ( )
96. Faz terapia em vaca seca? Sim ( ) Não ( )
97. Qual o medicamento usado na terapia de vaca seca?  
\_\_\_\_\_
98. Método de uso de medicamento nas vacas secas: Todas as vacas ( )  
Vacas selecionadas ( )  
Comentários \_\_\_\_\_
99. É utilizado o procedimento de linha de ordenha? Sim ( ); Não ( ).
100. Caso sim, qual a ordem é realizada a linha de ordenha?  
1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_  
4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_ 6. \_\_\_\_\_
70. A extremidade das tetas mostra alguma evidência de erosão ou outra anormalidade?  
Sim ( ) Não ( )
71. A alimentação é fornecida após a ordenha para que as vacas fiquem de pé por no mínimo 1 hora? Sim ( ) Não ( )

#### E Armazenamento e Coleta de leite

72. A propriedade tem tanque de expansão? Sim ( ) Não ( )
73. Qual a marca do tanque de expansão? \_\_\_\_\_

74. Qual a capacidade do tanque de expansão? \_\_\_\_\_
75. Quanto tempo usa tanque de expansão? \_\_\_\_\_ ano(s).
76. A coleta é realizada em dias alternados ( ) ou diariamente ( ).
77. O tanque de expansão é para coleta diária ( ) ou para coleta em dias alternados ( ).
80. É realizado algum teste no leite na hora da coleta a granel? Sim ( ) Não ( )  
Qual o teste? \_\_\_\_\_
78. No momento da coleta é adquirida uma amostra para contra prova? Sim ( ) Não ( )
79. Qual é a temperatura do leite no tanque de expansão no final de ordenha? \_\_\_\_\_ °C.
80. Quanto tempo após a primeira ordenha, a temperatura do leite no tanque chega a 3-4 °C?  
\_\_\_\_\_ horas
81. Qual a temperatura do leite no momento da coleta? \_\_\_\_\_ °C
82. Avaliação geral: Ruim 1 2 3 4 5 6 7 8 9 Excelente  
Comentários gerais

#### F Equipamento de ordenha

83. Tipo de sala de ordenha. Espinha de peixe ( ); Estábulo ( ); Outros ( )  
Especificar \_\_\_\_\_
84. Tipo de ordenha? Balde ao pé ( ); Circuito fechado ( )
85. Marca do equipamento de ordenha? \_\_\_\_\_
86. Idade do equipamento de ordenha \_\_\_\_\_ ano(s)
87. Número de unidades de ordenha \_\_\_\_\_
88. Número de ordenhadores \_\_\_\_\_
89. Linha de leite - Baixa ( ); Intermediária ( ); Alta ( )
90. Capacidade nominal da bomba de vácuo (litros/minuto)? \_\_\_\_\_ l/min
91. Quantos litros/minuto a bomba de vácuo esta produzindo? \_\_\_\_\_ l/min
92. Tipo de pulsador? Eletrônico ( ) Mecânico ( )
93. Capacidade do coletor (ml)? \_\_\_\_\_
94. Peso do conjunto de teteiras? \_\_\_\_\_ gramas
95. Diâmetro da linha de vácuo? \_\_\_\_\_
96. Comprimento da linha de vácuo? \_\_\_\_\_ metros
97. Diâmetro da linha de leite? \_\_\_\_\_
98. Diâmetro da linha de limpeza? \_\_\_\_\_
99. Tem extrator de teteira? Sim ( ) Não ( )
100. Tem portões pneumáticos? Sim ( ) Não ( )
101. Qual é o nível de vácuo no coletor no pique de fluxo de leite (ponta da teteira)?  
\_\_\_\_\_ Kpa.
102. Qual é a flutuação máxima de vácuo no coletor durante a ordenha? \_\_\_\_\_  
Comentários \_\_\_\_\_
- 
103. Qual a pressão de vácuo na linha de vácuo (regulador de vácuo) ? \_\_\_\_\_ Kpa
104. O vacuômetro (final da linha) está funcionando? Sim ( ) Não ( ).
105. Qual a pressão de vácuo no vacuômetro? \_\_\_\_\_ Kpa
106. Qual é a taxa de pulsação? \_\_\_\_\_
107. Qual a frequência de pulsação? \_\_\_\_\_
108. Qual o sistema de funcionamento do pulsador? Alternado ( ); Simultâneo ( ).
109. Que tipo de válvula reguladora de vácuo é usado? Servo assistido ( ); Mola ( );  
Peso ( ).
110. Qual é o tipo de medidor de leite? \_\_\_\_\_
111. Qual a resistência dos insufladores (Kpa) – Teste com o colapsômetro – escolher um  
conjunto de teteiras aleatoriamente

Conjunto 1 – AD: \_\_\_\_\_ AE: \_\_\_\_\_ PD: \_\_\_\_\_ PE: \_\_\_\_\_

### G Manutenção da ordenhadeira mecânica

112. Qual é a frequência de troca das teteiras ou insufladores? 1200 vacas ordenhadas ( ); 2500 vacas ordenhadas ( ); 6 em 6 meses ( ); Anual ( );  
Quando apresentam problemas ( )
113. Qual a frequência da substituição das mangueiras condutoras de leite? Não faz ( ); Anual ( ); A cada dois anos ( ); Outros ( ) \_\_\_\_\_
114. Qual a frequência da substituição das mangueiras condutoras de vácuo? Não faz ( ); Anual ( ); A cada dois anos ( ); Outros ( ) \_\_\_\_\_
115. As correias do motor da bomba de vácuo estão esticadas? Sim ( ) Não ( )
116. As correias do motor da bomba de vácuo estão livres de óleo? Sim ( ) Não ( )
117. Existe um tanque de distribuição de vácuo? Sim ( ) Não ( )
118. Quando a ordenhadeira está ligada mas não esta sendo usada, a reserva de vácuo é no mínimo 50% da capacidade da bomba de vácuo? Sim ( ) Não ( )
119. O controlador de vácuo esta limpo? Sim ( ) Não ( )
120. Os pulsadores estão limpos? Sim ( ) Não ( )
121. A linha de leite é de diâmetro adequado? ( ) Sim ( ) Não  
(Até 4 unidades = 2 polegadas; até 6 unidades = 2,5 polegadas; até 9 unidades = 3 polegadas)
122. As partes de borracha e plástico estão livres de rachaduras e fissuras ? Sim ( ) Não ( )
123. O diâmetro da linha principal de suprimento de vácuo (entre a bomba de vácuo e o reservatório de leite) é no mínimo igual ao da linha de leite? Sim ( ), Não ( )
124. O coletor tem algum orifício para drenar o ar? Sim ( ) Não ( )
125. O orifício de dreno de ar do coletor permanece limpo e aberto? Sim ( ) Não ( )
126. Antes de cada ordenha se faz a sanitização com o produto e água quente?  
Sim ( ) Não ( ) Comentários gerais: \_\_\_\_\_
- 
- 

### H Higienização do tanque de expansão e da ordenhadeira

127. Ambiente antes da ordenha: Limpo e seco ( ); Limpo e molhado ( ); Sujo ( )
128. Os operadores demonstram ter noções higiênicas? Sim ( ) Não ( )
129. Os operadores foram treinados para efetuar limpeza de tanque de expansão e ordenhadeira. Sim ( ) Não ( )
130. A propriedade dispõe de água quente para limpeza da ordenhadeira e do tanque de expansão? Sim ( ) Não ( )
131. A limpeza da ordenhadeira é realizada com lavador automático ( ) ou manual ( )
132. Um injetor de ar esta presente e funcionando para facilitar a limpeza adequada de todas as superfícies de contato com o leite? Sim ( ) Não ( )
133. Detergente usado para limpeza da ordenhadeira:

	Marca	Concentração usada	Frequência	Concentração recomendada pelo fabricante
Detergente alcalino				
Detergente ácido				
Sanitizante				

134. Detergente usado para limpeza do tanque de expansão:

	Marca	Concentração usada	Freqüência	Concentração recomendada pelo fabricante
Detergente alcalino				
Detergente ácido				
Sanitizante				

135. Quantos litros de água são usados na fase principal (água + detergente) para realizar a higienização da ordenhadeira mecânica. \_\_\_\_\_ litros.
136. Qual a temperatura da água usada para realizar a limpeza principal. \_\_\_\_\_ °C .
137. Quantos metros tem a linha de limpeza? \_\_\_\_\_ metros
138. A linha de vácuo está limpa? Sim ( ) Não ( )
139. Qual a freqüência que faz a limpeza da linha de vácuo? \_\_\_\_\_

**I Características físico-químicas da água**

140. Qual a qualidade da água? Tratada ( ); Não tratada ( ).  
Observação \_\_\_\_\_
141. Quantidade de cloro da água? \_\_\_\_\_ ppm.
142. Quantidade de ferro da água? \_\_\_\_\_ ppm.
143. Grau de dureza da água? \_\_\_\_\_
144. pH da água? \_\_\_\_\_