

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

DEBORAH KITTLER GONÇALVES

**OCORRÊNCIA DE MASTITE, SEUS AGENTES ETIOLÓGICOS E PRÁTICAS DE
MANEJO SANITÁRIO REALIZADO DURANTE A ORDENHA EM PROPRIEDADES
NO MUNICÍPIO DE DOM PEDRITO - RS**

**Dom Pedrito
2014**

DEBORAH KITTLER GONÇALVES

**OCORRÊNCIA DE MASTITE, SEUS AGENTES ETIOLÓGICOS E PRÁTICAS DE
MANEJO SANITÁRIO REALIZADO DURANTE A ORDENHA EM PROPRIEDADES
NO MUNICÍPIO DE DOM PEDRITO - RS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Zootecnia da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Zootecnia

Orientador: Prof^a Dra. Larissa Picada
Blum

Coorientador: Dra. Anelise Afonso Martins
Médica Veterinária - UNIPAMPA

**Dom Pedrito
2014**

DEBORAH KITTLER GONÇALVES

**OCORRÊNCIA DE MASTITE, SEUS AGENTES ETIOLÓGICOS E PRÁTICAS DE
MANEJO SANITÁRIO REALIZADO DURANTE A ORDENHA EM PROPRIEDADES
NO MUNICÍPIO DE DOM PEDRITO - RS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Zootecnia da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Zootecnia

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em:

Banca examinadora:

Prof. Dra. Larissa Picada Brum
Orientador
UNIPAMPA

Prof. Dra. Tisa Echevarria Leite
UNIPAMPA

Prof. Dr. Fernando Zocche
UNIPAMPA

G635o Gonçalves, Deborah Kittler

OCORRÊNCIA DE MASTITE, SEUS AGENTES ETIOLÓGICOS E PRÁTICAS DE MANEJO SANITÁRIO REALIZADO DURANTE A ORDENHA EM PROPRIEDADES NO MUNICÍPIO DE DOM PEDRITO - RS / Deborah Kittler Gonçalves.

43 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade Federal do Pampa, BACHARELADO EM ZOOTECNIA, 2014.

"Orientação: Larissa Picada Blum".

1. Mastite. 2. Higiene de ordenha. 3. Qualidade do leite.
I. Título.

Dedico este trabalho aos meus maiores incentivadores,
que sempre estiveram ao meu lado durante toda esta jornada.
Com amor aos meus pais Dagoberto e Fani.

AGRADECIMENTO

A minha orientadora Larissa Picada Brum, que me acolheu no Laboratório de Microbiologia, me ensinando muito durante este um ano, o meu muito obrigado por ter acrescentado muito a minha vida acadêmica.

A coorientadora mais pacienciosa Anelise Afonso Martins, sempre de um bom humor contagiante, sempre disposta a ajudar e principalmente ensinar.

A vocês duas eu só tenho agradecimentos.

Ao meu avô Carlos (*in memória*) que me incentivou muito quando comecei essa jornada, que sempre me ensinou a trilhar meus caminhos com determinação e agora é mais uma estrela na minha constelação para me guiar.

Aos meus pais, por todo o ensinamento que me deram ao longo desta vida, acima de tudo me deram todo o apoio nas minhas escolhas.

Meus irmãos Francielly e Bruno, ser a irmã do meio não é fácil, mas amo vocês muito.

A Dona Maria Emilia e Evani, avós amadas.

E claro aos meus amigos e amigas que sempre estiveram ao meu lado durante muitos momentos especiais, em especial a Jaqueline “Gringa”, que colaborou muito durante este trabalho nas análises no Laboratório de Microbiologia

“Sou apenas um caminhante, que perdeu o medo de se perder.”

O vendedor de Sonhos - Augusto Cury

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar a ocorrência e etiologia de mastites clínicas e subclínicas e qualidade bacteriológica dos tanques de armazenamento de leite em seis propriedades leiteiras do município de Dom Pedrito – RS, entre os meses de abril a julho de 2014. Em geral as propriedades eram caracterizadas por criação semi-extensiva, rebanhos de no máximo 100 animais, com produções diárias variando entre 6 litros a 18 litros vaca/dia. Durante as visitas foram acompanhadas as linhas de ordenha e realizados os testes de caneco telado e o CMT- *California Mastitis Test*, observado o manejo higiênico sanitário do processo e realizado um questionário com os produtores sobre o manejo. As amostras de animais com alterações no leite detectáveis aos testes foram coletadas em tubos estéreis, bem como as amostras dos tanques de imersão, acondicionados em caixas isotérmicas e encaminhadas ao laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA. As amostras foram submetidas a testes microbiológicos para a contagem de mesófilos aeróbios através da contagem padrão em placa (CPP), determinação de coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTT) pela técnica de tubos múltiplos (NMP) e posterior identificação bacteriana. A ocorrência de mastite subclínica diagnosticada pelo teste CMT nas propriedades estudadas variou entre 0 a 55%, enquanto a mastite clínica foi (0 a 8,3%), sendo as bactérias isoladas *Staphylococcus spp*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp*, *Moraxella sp*, *Pseudomonas ssp*, *Flavobacterium sp*. Todas as propriedades apresentavam deficiência nas instalações e/ou no manejo realizado como: ausência de sala de espera para os animais, fornecimento de ração durante a ordenha, utilização do mesmo pano para higienização no pré dipping, assim como, a falta de um local limpo e seco que possibilitasse arrazoamento pós ordenha. Para a qualidade do leite armazenado no tanque apenas uma propriedade estaria fora das conformidades preconizadas pela IN 62 apresentando CPP acima de 2×10^7 . Em relação ao NMP, estes variaram para CT de ausente a $1,1 \times 10^4$ enquanto para CTT de ausente a $9,3 \times 10^2$ em duas propriedades. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que as falhas de processos de higiene antes, durante e pós ordenha podem estar associados com a ocorrência de mastite nos rebanhos analisados e com a qualidade do leite obtido.

Palavras chaves: Mastite. Higiene na ordenha. Qualidade do leite

ABSTRACT

The present study aimed to assess the milking systems, the occurrence, etiology of clinical and subclinical mastitis, and the bacteriological quality of the milk storage tanks in six farms from the city of Dom Pedrito - RS, in the period from April to July 2014. Generally, the farms are known for its semi-extensive breeding, cattle herds of 100 animals at max, with daily production ranging from 6 to 18 liters of milk per cow. Also, all the farms are part of a milk gathering system of a regional cooperative. During the visits, the milking lines were examined and the "screened cup" test and CMT - California Mastitis Test - were made. It was also observed the hygienic handling of the facilities and through the milking process. After that, it was performed a survey with the workers about the whole process. The samples taken from the animals that presented modifications discovered in the "screened mug" test and that had a positive result in the CMT were collected aseptically in sterilized tubes, as well as the samples from the immersion tanks that were stored in isotherm refrigerated containers to be transported and sent to the Microbiology Laboratory of the Unipampa - Universidade Federal do Pampa, to be analyzed. The samples were subjected to microbiological tests for aerobic mesophilic count by standard plate count (CPP), determination of total coliforms (TC) and thermophilic (CTT) by the multiple tube technique (MPN) and subsequent bacterial identification. The occurrence of subclinical mastitis diagnosed by CMT in studied herds ranged between 0-55%, while clinical mastitis was (0 to 8.3%), while isolated *Staphylococcus spp*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Moraxella sp*, *Pseudomonas spp*, *Flavobacterium sp*. All properties were defective premises and or management held as: no waiting room for animals, providing feed during milking, use the same cloth for cleaning the pre dipping, as well as the lack of a clean place and dry which enabled feeding after milking. For the quality of milk stored in the tank only one property would be out of conformance advocated by presenting 62 IN CPP above 2×10^7 . For PWN, these ranged from absent to CT for $1,1 \times 10^4$ enquanto to CTT missing the $9,3 \times 10^2$ two properties. The results obtained in this study demonstrate that the failures of processes of care before, during and after milking may be associated with the occurrence of mastitis in herds analyzed and the quality of milk obtained.

Key words: Mastitis. Milking hygiene. Milk Quality

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Crescimento bacteriano, teste de oxidase e coagulase.....	19
Figura 2 - Ordenhador, sistema de ordenha e instalações.....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de animais em lactação, média de produção diária de leite, animais positivos ao CMT e ao caneco telado e ocorrência de casos de mastite subclínica de acordo com cada propriedade analisada.....	22
Tabela 2 - Porcentagem de quartos mamários diagnosticados com mastite subclínica positivos ao CMT.....	23
Tabela 3 - Sistemas de higiene pré e pós ordenha e alimentação dos animais durante a ordenha.....	24
Tabela 4 - Valores médios das contagens de aeróbios mesófilos, coliforme totais, coliformes termotolerantes, de amostras de leite do tanque de refrigeração de cada propriedade.	28
Tabela 5 - Ocorrência de patógenos por propriedades	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1 Propriedades	17
2.2 Amostras.....	17
2.3 Análise das Amostras.....	17
2.3.1 Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios (CPP).....	17
2.3.2 Determinação de coliformes totais e termotolerantes (NMP).....	18
2.3.3 Identificação bacteriana.....	19
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	20
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
REFERÊNCIAS	33
APÊNDICE.....	41

1 INTRODUÇÃO

Dentro do setor agropecuário do estado do Rio Grande do Sul, pode-se citar a produção leiteira como uma das atividades mais importantes, sendo desenvolvida em 80% dos municípios gaúchos (MARTINS *et al.*, 2007). A agricultura familiar é responsável por 85% da produção total de leite, sendo mais de 134 mil produtores de leite no Estado, que possuem um rebanho acima de 1,5 milhões de vacas, com produção diária de 10,6 milhões de litros de leite (FIORI, 2013).

De acordo com os dados do IBGE (2014), entre os meses de janeiro e março de 2014, o Rio Grande do Sul produziu 849.841 litros de leite. No 1º trimestre brasileiro foram produzidos 6.186 bilhões de litros de leite, indicando uma queda de 5,5% em relação ao 4º trimestre de 2013. Na mesma prévia do IBGE, regionalmente verificou-se que o Sudeste foi responsável por 41,4%, seguido pela região Sul com 33,8%, Centro-oeste por 14,7% e regiões Norte e Nordeste participaram respectivamente com 5% cada uma.

Segundo o veterinário da Secretaria Municipal da Agricultura e Meio Ambiente do município de Dom Pedrito - RS, existem 33 produtores de leite, que produzem 4.000l de leite por dia, as quais são entregues a cooperativa regional, há ainda outros produtores que tem sua produção entregue diretamente ao consumidor (comunicação pessoal Médico Veterinário Leonir).

Com a grande demanda por leite e produtos lácteos pelo mercado, observa-se uma preocupação comum: a qualidade, que é um importante elemento para a tomada de decisão dos consumidores. Se, por um lado, este fator é responsável pela busca do aperfeiçoamento contínuo, por outro, assegura a sobrevivência na competitividade entre mercados (TRONCO, 1997; PINHEIRO *et al.* 2011)

A atividade leiteira possui papel relevante na economia brasileira, no entanto percebe-se que a qualidade do leite no país deixa a desejar, devido a inúmeros fatores, entre eles, à falta ou desconhecimento da importância da higiene da ordenha, equipamentos e ordenhadores, além da aquisição de animais saudáveis, diagnóstico e controle da mastite (SOUZA *et al.*; 2014; SILVA, 2007).

Langoni *et al.* (2011) relatam que entre as doenças que acometem os rebanhos leiteiros, a mastite é a mais relevante e que constitui um fator limitante em muitas propriedades, devido a queda de produção e as perdas econômicas provocadas pela doença.

O termo mastite designa os fenômenos inflamatórios, geralmente de natureza infecciosa, que acometem a glândula mamária (BRADLEY, 2002). Segundo LeBlanc *et al.* (2006), trata-se de uma doença de cunho multifatorial que tem nas inter-relações entre o hospedeiro, o ambiente e os agentes infecciosos, os fatores determinantes para sua ocorrência. De acordo com Ferreira (2008) a enfermidade acarreta prejuízos significativos ao produtor.

Em vacas infectadas com mastite subclínica estima-se que a produção de leite seja reduzida em até 15%, enquanto um único quarto mamário infectado poderá ter a produção reduzida em até 45% - 50% (BRADLEY, 2002; BRITO *et al.*, 2000).

No Brasil foi estimado que, em função da alta prevalência de mastite nos rebanhos em torno de 20 a 38%, possa ocorrer perda de produção entre 12 e 15%, o que significa um total de 2,8 bilhões de litros/ano em relação à produção anual de 21 bilhões de litros Fonseca e Santos, 2000. Smith e Hogan (2001, *apud* Silva, 2007) em estudo realizado nos Estados Unidos relatam que a enfermidade reduz a produção e a qualidade do leite com imensas perdas econômicas, estimadas em U\$ 200,00 por vaca/ano. Bar *et al.* (2008) calculou custos de U\$ 179,00 em geral para mastites, independente da etiologia. Esses autores consideraram parâmetros como custos do tratamento, diagnóstico, diminuição na produção, descarte do leite, perda no valor do leite, fase da lactação e produção individual, entre outras, no entanto esses valores podem aumentar consideravelmente se forem incluídos riscos de recidivas em outras lactações, descarte precoce, diminuição na produção das próximas lactações entre outros.

Entre os fatores de risco para a mastite pode-se definir como características que aumentam a probabilidade de sua ocorrência, a biossegurança, os procedimentos de ordenha, o sistema de ordenha, os tratamentos intramamários, a higiene do animal e das instalações. Outro importante fator de risco está relacionado à alta produção de leite, pois animais que tem alta produção são mais susceptíveis a apresentar episódios de mastite, o que demonstra que ignorar a produção de leite como um fator de risco pode subestimar as perdas de produção (OLIVEIRA *et al.*, 2012; COETRÃO *et al.*, 2008; YAMAMURA *et al.*, 2008).

A inexistência de treinamento dos ordenhadores e a não utilização de serviços laboratoriais para identificação dos patógenos também são relatadas como fatores predisponentes a ocorrência de mastite (COETRÃO *et al.*, 2008).

A mastite em geral é classificada de acordo com os sinais clínicos em clínica e subclínica. A mastite clínica apresenta alterações no leite, presença de edema, e sinais de inflamação no úbere, sendo sua identificação na maioria das vezes realizada através dos sinais clínicos evidentes e pelo teste do caneco telado ou de fundo preto, onde se percebe a formação de grumos e outras alterações (PILON 2010). A forma clínica da doença é a que mais preocupa os produtores, já que esta demonstra sinais clínicos visíveis, porém a que mais acarreta prejuízos e mais encontrada é a forma subclínica (BARBALHO e MOTA, 2001; SANTOS e FONSECA, 2000).

A mastite subclínica, não apresenta alterações assinaláveis no úbere e, na maioria dos casos, nem no leite, sendo difícil seu diagnóstico. Além da redução na produção a mastite provoca, entre outras, alterações nos três principais componentes do leite: proteína, gordura e lactose. (AIRES, 2010; SANTOS e FONSECA, 2007; COSTA *et al.*, 1998).

Sua ocorrência afeta a qualidade do produto final e está diretamente relacionada à carga microbiológica do leite ao chegar à indústria beneficiadora, ocorrendo alterações nos constituintes do leite pela ação proteolítica e lipolítica com prejuízos ao tempo de vida-de-prateleira e à qualidade do leite (SANTOS *et al.*, 2003; MA *et al.*, 2000). As alterações fisiológicas na glândula mamária infectada e os patógenos, presentes nos casos de mastite subclínica também são responsáveis pelas alterações causadas ao leite como aumento da contagem de células somáticas, aumento das proteínas do soro, aumento de sódio, cloro, lactato, diminuição de cálcio, fósforo, caseína, lactose entre outras (SATU, 2003; KITCHEN, 1981).

Vários métodos têm sido recomendados para diagnosticar a ocorrência de mastite subclínica nos rebanhos leiteiros, entre eles, pode-se citar o *California Mastitis Test* (CMT), *Wisconsin Mastitis Test* (WMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) (CARDOZO, 1996).

Alguns dos principais patógenos causadores de mastite são os *Staphylococcus aureus*, *S. agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*, seguido de *Corynebacterium bovis* e enterobactérias, entre outros que no país são causadoras de aproximadamente 5% dos casos de mastite (BRITO *et al.*, 2002; COSTA, 1998). Estes patógenos podem ser divididos em dois

grupos, baseados na sua origem: patógenos contagiosos e patógenos ambientais (PEELER *et al.*, 2000).

As infecções causadas pelos agentes contagiosos tendem a se apresentar na forma subclínica e a se tornarem crônicas, podem ser consideradas as mais importante por não serem auto-limitantes e apresentarem baixa porcentagem de cura espontânea. São microorganismos adaptados para sobreviverem no úbere. Eles são disseminados principalmente pelas mãos dos ordenhadores e equipamentos de ordenha, geralmente contaminados a partir do leite de animais infectados. Os rebanhos com mastite contagiosa em geral apresentam altas contagens de células somáticas (CCS). Um dos métodos utilizados para reduzir sua disseminação é a desinfecção de tetas após a ordenha. O tratamento da vaca ao final da lactação, com antibióticos adequados para o período seco, elimina a maioria desses patógenos (BRITO *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2010; BENEDETTE *et al.*, 2008)

A mastite ambiental tem como principal fonte dos microrganismos o ambiente. Podendo ser encontrados em todos os rebanhos e podem ser recuperados da água, fezes, materiais usados como cama, pele dos animais entre outras fontes. As infecções tendem a se apresentar na forma clínica aguda e algumas vezes, na forma hiperaguda, em que se observa febre, perda de apetite, desidratação e, ocasionalmente, morte do animal. (BRITO *et al.*, 2002; COSTA, 1998).

Segundo Bradley e Green (2000) enterobactérias, causadoras de mastite ambientais são freqüentemente encontradas durante o período seco, pois têm habilidade em se manterem quiescentes na glândula mamária até o parto, subseqüentemente, causando mastite clínica durante a fase inicial da lactação, enquanto na lactação e no processo de ordenha em si há maior susceptibilidade de difusão de mastite contagiosa

Santos *et al.* (2010) salienta que alguns patógenos que ocasionam a mastite são de fácil controle, com adoção de boas práticas de higiene e de manejo do rebanho durante a ordenha. Para melhorar a qualidade do leite e garantir um alimento seguro e de alto valor nutricional, é fundamental o controle da mastite nos rebanhos. Muitos esforços têm sido empregados para o seu controle (LANGONI *et al.*, 2011).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os sistemas de ordenhas realizadas nas propriedades, a ocorrência e etiologia de mastites clínicas e subclínicas e qualidade bacteriológica do leite armazenado nos tanques de refrigeração por expansão em seis propriedades leiteiras do município de Dom Pedrito – RS entre os meses de abril a julho de 2014

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Propriedades

Foram visitadas 6 propriedades produtoras de leite, localizadas no município de Dom Pedrito – RS, entre os meses de abril a julho de 2014. Em geral as propriedades eram caracterizadas por criação semi-extensiva, rebanhos de no máximo 100 animais, com produções diárias variando entre 6 litros a 18 litros vaca dia e todas as propriedades pertenciam ao sistema de coleta de leite para uma cooperativa regional.

Durante as visitas foram acompanhadas as linhas de ordenha e realizados os testes de caneco telado e CMT- California Mastitis Test (SCHALM e NOORLANDER 1957 *apud* BOZO *et al.*, 2013), e observado o manejo higiênico sanitário das instalações e da ordenha.

Os produtores responderam a um questionário sobre manejo higiênico sanitário de acordo com a metodologia de SOUZA *et al.* (2005) e BOZO *et al.* (2013) (APÊNDICE 1)

2.2 Amostras

As amostras de animais com alterações no leite detectáveis ao teste do caneco telado e/ou positivos ao CMT foram coletas assepticamente em tubos estéreis, bem como as amostras dos tanques de imersão e acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas para transporte ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Pampa – Unipampa, para realização das análises

2.3 Análise das amostras

As amostras positivas aos testes de triagem foram submetidas a testes bacteriológicos para a contagem de mesófilos aeróbios através da contagem padrão em placa, determinação de coliformes totais e fecais pela técnica de tubos múltiplos e posterior identificação bacteriana.

2.3.1 Contagem de Microrganismos Mesófilos Aeróbios (CPP)

Nas amostras de leite foram realizadas diluições seriadas até 10^{-3} em tubos contendo solução salina peptonada 0,1%, posteriormente uma alíquota de 1ml de cada diluição foi semeada para a contagem padrão em placa em placa de Petri contendo meio ágar padrão para contagem (PCA) e colocadas para incubação à 37 °C por 48 horas. O cálculo da CPP foi realizado com auxílio de contador de colônias digital nas placas que continham mais de 25 colônias, sendo posteriormente realizadas as médias aritméticas das colônias e multiplicado pelo inverso da diluição, resultando no número de unidades formadoras de colônia (UFC) por mL de leite.

2.3.2 Determinação de coliformes totais e termotolerantes (NMP)

Para determinação dos coliformes totais e termotolerantes nas positivas de leite foi utilizada a Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos, que determina o Número Mais Provável (NMP), empregando-se séries de três tubos por diluição. Alíquotas de 1mL das amostras nas diluições de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} foram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato de Sódio (CLS) e Caldo Lactosado Verde Brilhante (CLVB), enquanto para determinação de coliformes termotolerante a 45°C foi utilizado o Caldo *Escherichia coli* (EC). As alíquotas de cada diluição foram transferidas para séries de três tubos contendo CLS com tubos de Durham invertidos no seu interior, posteriormente foram incubados a 36°C durante 24 e 48h. Dos tubos que apresentaram turbidez e formação de gás foram retiradas uma alçada da solução a qual foi semeada em tubos contendo 10 mL de CLVB e EC, da mesma forma contendo tubos de Durham invertidos.

Os tubos contendo caldo verde brilhante foram incubados a 36°C por 24/48 h, enquanto os de E. C. por 24 e 48h a 45°C em banho maria. A formação de gás nos tubos de CLVB foi considerado indicativo da presença de coliformes totais, sendo o resultado expresso em NMP por ml de leite. Para contagem de *E. coli*, os tubos de E. C. com presença gás no seu interior foram observados sob luz ultravioleta em uma cabine escura, considerando-se positivos para *E.coli* os que apresentassem fluorescência. Esses foram repicados em placas de Petri contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (BEM) as quais foram incubadas a 36°C por 24h/48h. As colônias

crescidas apresentando coloração enegrecida com ou sem brilho metálico, suspeitas de *E. coli*, foram identificadas por provas bioquímicas.

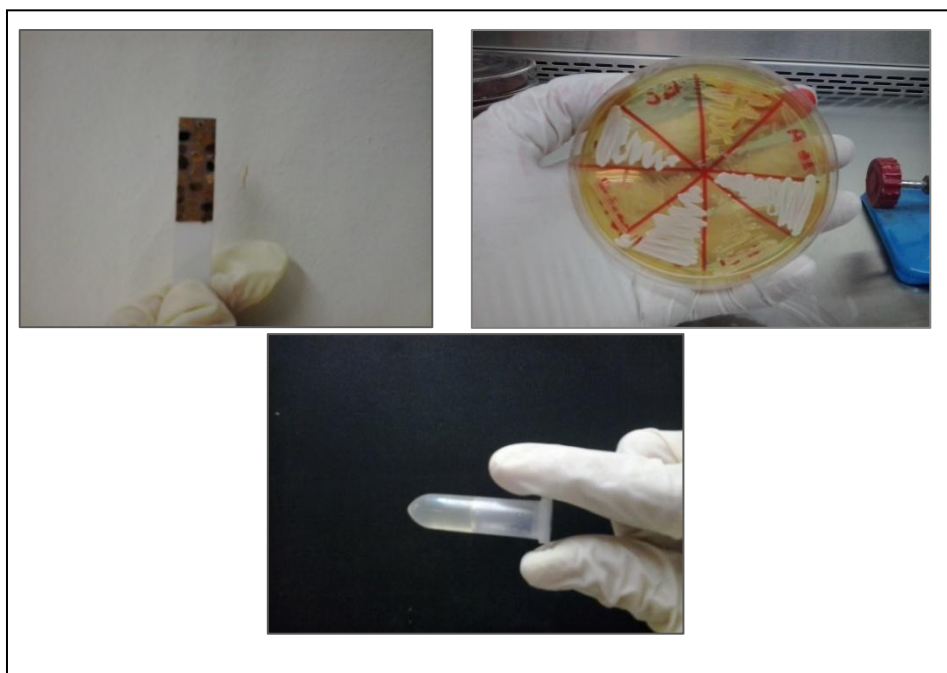
Os resultados de NMP para coliformes totais e termotolerantes foram calculados pela tabela de Hoskins (1934) e expressos em NMP/ml (SILVA, 2010).

2.3.3. Identificação bacteriana

As colônias crescidas nas placas contendo o meio de cultura para contagem padrão foram submetidas à caracterização morfológica. Colônias individuais foram então repicadas em meios específicos, como: Agar sangue desfibrinado de ovino 5%, MacConkey, Brain Heart Infusion (BHI), Müller Hinton, a 36^oC por 24/48h, sendo então observadas as características como forma da colônia, pigmentação e presença de hemólise, enquanto para as provas morfológicas e tintoriais foi utilizado a coloração de Gram para caracterização das bactérias foram divididas em grupos de cocos e bacilos gram positivas e gram negativas.

Posteriormente conforme as particularidades dos grupos identificados, as bactérias isoladas foram submetidas a provas bioquímicas como fermentação de carboidratos, redução de nitrato, utilização do citrato, fermentação do manitol, presença de motilidade, resistência a novobiocina, oxidase, catalase e coagulase (QUINN *et al.*, 2005).

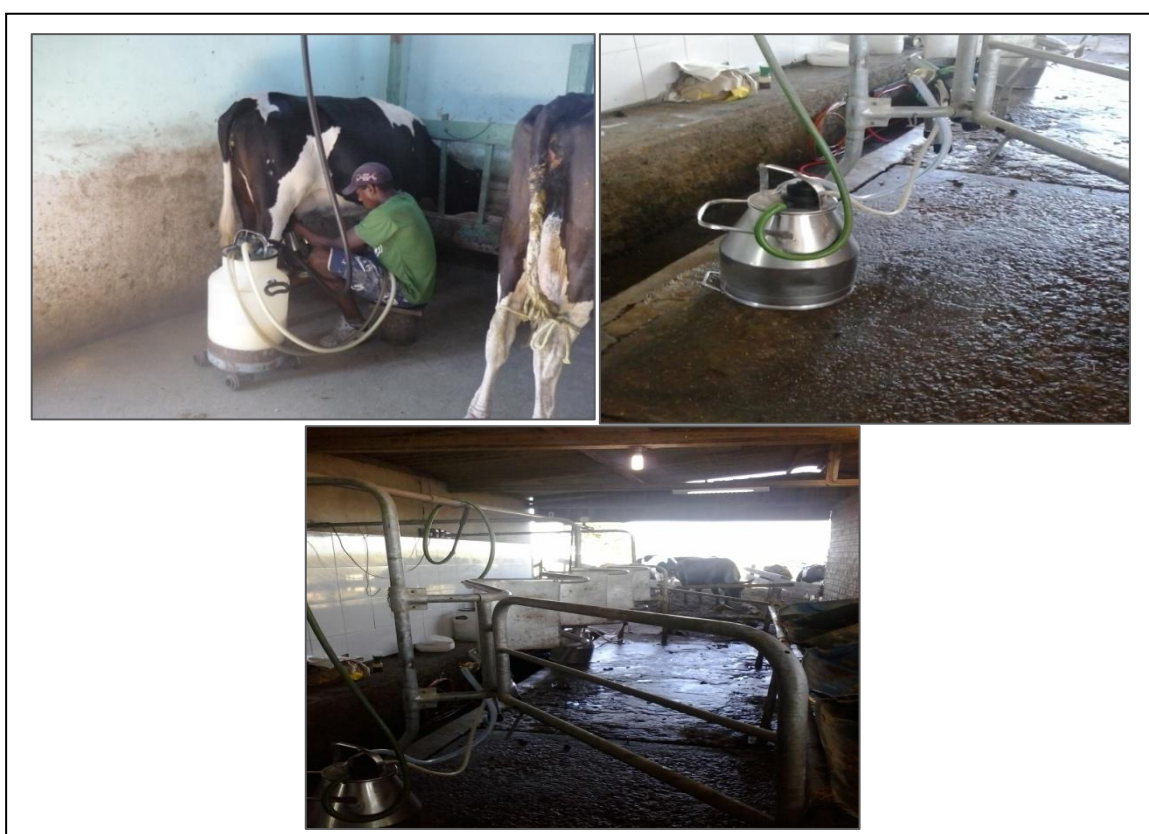
Figura 1 - Crescimento bacteriano, teste de oxidase e coagulase



3 Resultados e Discussões

Das seis propriedades rurais visitadas todas possuíam mão de obra familiar com exceção da propriedade 1, onde havia além do proprietário dois funcionários contratados, as ordenhas eram mecânica com tarro ao pé e o leite era armazenado em tanque de refrigeração por imersão. Todas realizavam duas ordenhas diárias, com intervalo de aproximadamente 12h. Os rebanhos eram compostos por animais das raças Holandesa, Jersey e suas cruzas, os animais eram mantidos em sistema semi-extensivo.

Figura 2 - Ordenhador, sistema de ordenha e instalações



Fonte: a autora.

As instalações eram compostas por galpão aberto com piso de alvenaria, onde apenas uma propriedade apresentava galpão de ordenha com paredes azulejadas e semi fechadas. Em todas as propriedades o tanque de refrigeração de leite era mantido em sala específica e nenhuma das propriedades apresentava pedilúvio, sala de recepção e galpão ou sala de alimentação.

A água utilizada como fonte de bebida para os animais em todas as propriedades provinha de açude. Para a limpeza dos equipamentos e da sala de ordenha era utilizada água encanada e/ou proveniente de poço artesiano. Na propriedade 6 era utilizada para limpeza dos equipamentos água de açude clorada. A qualidade da água utilizada no manejo, não foi analisada em todas as propriedades pelo presente estudo, somente em uma das propriedades foi coletada (P6), e nesta foi identificada a bactéria *Escherichia coli*.

De acordo com Guerra *et al.* (2011) a água não deve ter qualidade e quantidade requerida negligenciadas, pois é uma peça chave para o sucesso e rentabilidade na atividade leiteira. O autor ainda cita que a qualidade da água pode aumentar o nível de contaminações por patógenos no rebanho e comprometer a vida útil dos equipamentos.

Para verificar a ocorrência de mastite nos rebanhos estudados, foi testado um total de 89 animais em lactação, totalizando 355 quartos mamários, onde 83% (5/6) das propriedades possuíam animais positivos ao teste de CMT e 33% (2/6) positivos ao teste de caneco telado.

Em se tratando do teste do CMT, foi verificado que em 83% (5/6) das propriedades visitadas, o teste era realizado com intervalo de 30 dias pelo técnico responsável enviado pela cooperativa. No entanto quanto ao teste do caneco telado foi observado que em apenas 17% (1/6) das propriedades o mesmo era realizado a cada 15 dias, porém, nesta mesma propriedade não realizava-se o teste de CMT.

Verificou-se que a ocorrência de mastite subclínica diagnosticada pelo teste CMT foi de 34% (31/89) enquanto que a clínica em 2,47% (2/89) dos animais. No entanto quando considerada a ocorrência nas propriedades essa frequência variou entre 0 a 55% para a subclínica e de 0 a 8,3% para a clínica (Tabela 1).

Miller e Nesi (2012), em um experimento realizado no município de Ipuçu-SC obtiveram resultados semelhantes com altas taxa de mastite subclínica (89,95%). Ainda no mesmo trabalho, estes autores correlacionaram uma possível queda na produção de leite devido aos casos de mastite, porém, a queda na produção não foi analisada no presente estudo.

Tabela 1 - Número de animais em lactação, média de produção diária de leite, animais positivos ao CMT e ao caneco telado e ocorrência de casos de mastite subclínica de acordo com cada propriedade analisada.

Propriedades	N° de animais em ordenha	Média de produção diária	N° de animais positivos		Ocorrência de mastite	
			CMT*	C.T*	Subclínica ¹	Clinica ²
1	21	200	9	0	42%	0%
2	5	60	0	0	0	0%
3	12	107	3	1	25%	8,3%
4	22	300	6	1	27%	4,5%
5	9	100	5	0	55%	0%
6	20	375	8	0	40%	0%
Total	89		31	2	34,83%	2,24%

Fonte: a autora

*C.T = caneco telado

* California Mastitis Test

¹ diagnosticada pelo teste do CMT

² diagnosticadas pelo teste do caneco telado

Segundo Muller (2002) a forma subclínica da mastite é responsável por aproximadamente 70% das perdas, podendo reduzir a secreção de leite em até 45% nos quartos mamários afetados e elevar os níveis de contagem de CCS (Células Somáticas). Fonseca e Santos (2000) estimam que para cada caso clínico da enfermidade ocorram 35 casos de subclínica.

Dentro de um rebanho leiteiro o recomendado é que a prevalência de mastite subclínica não ultrapasse 15% e da clínica 1% do rebanho lactante (FONSECA E SANTOS, 2000). No presente estudo dependendo da propriedade a frequência encontrada foi superior ao recomendado tanto para a subclínica quanto para clínica 55% e 8,3% respectivamente. Esses resultados acima do preconizado são semelhantes ao encontrados por outros autores que variaram entre 39,57% e 65% de mastite subclínica (LANGONI *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2010; MARTINS *et al.*, 2010; BUENO *et al.*, 2002).

Em estudos na República do Uruguai no ano de 2002 realizado por Giannechinie e colaboradores (2003), foram verificado resultados semelhantes, determinando a prevalência de mastite subclínica em 54% dos animais testados nos rebanhos avaliados, enquanto que no presente trabalho foram observados 34% considerando todas as propriedades. Em contrapartida Oliveira *et al.* (2011) em avaliação da bacia leiteira de Rondon do Pará, onde foram testados 237 animais,

15,6% apresentaram mastite subclínica, resultados estes que estariam dentro do preconizado por Fonseca e Santos (2000).

Em relação ao acometimento dos quartos mamários nos animais estudados foi observado que houve variação entres as propriedades, no entanto verificou-se que em maior frequência ocorria à infecção em dois quartos simultaneamente (Tabela 2).

Tabela 2 - Porcentagem de quartos mamários diagnosticados com mastite subclínica positivos ao CMT

Propriedade	CMT positivo			
	1 quarto mamário	2 quartos mamários	3 quartos mamários	4 quartos mamários
1	44%	33%	22%	0%
3	0%	66%	0%	33%
4	50%	33%	16%	0%
5	0%	40%	20%	40%
6	37%	37%	25%	0%

Fonte: a autora

Na grande maioria das mastites subclínicas os animais podem ser fonte de infecções para outros animais na medida em que contaminam teteiras, ordenhadeiras e as mãos dos ordenhadores que disseminam os microrganismos para outros animais e entre os próprios animais contaminando quartos mamários (LANGONI, 2013)

De acordo com a literatura, as propriedades leiteiras teriam suas produções reduzidas decorrente da ocorrência de mastite e conforme o maior o número de quartos afetados (MULLER, 2002).

Segundo Langoni (2013) deve-se considerar a mastite como uma doença multifatorial e os elementos da tríade epidemiológica: agente – hospedeiro – meio ambiente estão interligados de forma clara e direta, e cada um deles apresentam características próprias e variadas. A principal maneira de prevenir a disseminação da mastite é a identificação, separação e o tratamento dos animais doentes (MULLER, 2002)

Os sistemas de higiene pré e pós ordenha foram avaliados durante as visitas nas propriedades onde foi verificado falhas nesses requisitos. Em 100% (6/6) das propriedades foram verificadas deficiência nas instalações como: ausência de sala

de espera e pós ordenha para os animais ou piquete de arraçoamento limpo e sem presença de lama e detritos (SOUZA *et al.*, 2005).

O fornecimento de alimento ocorria durante a ordenha e os animais eram soltos em piquetes com grande acúmulo de barro e matéria orgânica, da mesma forma não era evitado que os animais se deitassem logo serem ordenhados, sendo esse manejo uma porta de entrada para infecções por patógenos causadores de mastite, pois o esfíncter dos tetos permanece aberto por no mínimo uma hora possibilitando a entrada de microrganismos (BRITO *et al.*, 2009).

Tabela 3 - Sistemas de higiene pré e pós ordenha e alimentação dos animais durante a ordenha

Propriedades	Desprezo dos três 1º jatos	Lavagem dos tetos	Uso de dipping		Secagem dos tetos		Alimentação durante a ordenha
			Pré	Pós	Pano comum	Papel descartável	
1	N	N	S	N	S	N	S
2	N	S	N	S	S	N	S
3	N	S	N	N	N	N	S
4	N	S	S	S	N	S	S
5	N	N	S	S	N	S	S
6	N	S	n	S	N	S	S

Fonte: a autora

*N = não utilizavam/faziam

*S = utilizavam/faziam

Schreiner e Ruegg (2003) avaliando escores de limpeza de tetos e pernas de vacas produtoras de leite em Wisconsin (EUA), obtiveram resultados significativos entre a prevalência de patógenos contagiosos e ambientais, onde o escore de higiene dos tetos, a prevalência de infecções intramamárias causada por patógenos contagiosos foi de 2,8, 4,7, 5,1 e 7,4% de acordo com a classificação dos escores para limpeza de tetos 1 (limpo) 2 (intermediário), 3 (pouco sujo) e 4 (sujo), e para patógenos ambientais a correlação foi de 9,7, 9,6, 12,1 e 13,8% para os escores de limpeza dos tetos 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Ainda para os mesmos autores a prevalência de isolamentos de patógenos contagiosos e ambientais causadores de mastite foram significativamente associados com a limpeza dos tetos e pernas.

Estudos como o de Souza *et al.* (2005) demonstraram haver relação entre o fornecimento de alimento durante a ordenha e o aumento da contagem de células

somáticas em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, bem como o uso de pré e pós dipping contribuindo para baixas contagem de células somáticas.

Das propriedades analisadas, três apresentaram maior ocorrência de mastite, sendo elas a propriedade 1, 5 e 6 com 42%, 55% e 40% respectivamente. Entre elas a propriedade 1, além dos problemas de manejo já citados anteriormente comum a todas as propriedades, realizava como manejo de rotina o pré dipping utilizando uma mistura de álcool e detergente formulada pelo proprietário, secagem dos tetos com pano o qual era utilizado por todos os animais, não realizava o pós dipping, permitia a presença de animais domésticos como galinhas, gatos e cachorros no galpão de ordenha, e utilizava a área em volta do galpão com presença de lama para descanso dos animais após a ordenha.

Da mesma forma na propriedade 5 se observou deficiências de manejo com predomínio de animais velhos, grande área de terra e lama ao redor do galpão, onde os animais permaneciam antes e após a ordenha, assim como úberes e pernas com elevada sujidade. No entanto, o proprietário utilizava pré e pós dipping, a secagem dos tetos com papel toalha descartável, mas que devido às condições das instalações e manejo dos animais não foi provavelmente o suficiente para prevenção da enfermidade.

Na propriedade 6 a principal falha percebida durante a visita além da já citadas, foi a utilização de água de açude para a higiene dos animais e lavagem dos equipamentos. Posteriormente foi isolado *Escherichia coli* na água utilizada pelo produtor.

Segundo Oliveira *et al.*, (2012) os principais fatores de risco associados à mastite foram relacionados ao manejo higiênico-sanitário como sistema de criação semi-intensivo, alimentação dos animais durante a ordenha rodízio de antimicrobianos favorecendo o aparecimento de resistência a terapia, além do uso inadequado da terapia da vaca seca, o que favorece a persistência dos agentes no período seco ocasionando casos de mastites subsequentes.

Oliveira *et al.*, (2012) demonstrou que a lavagem dos tetos antes da ordenha foi apontada como um fator de proteção a mastite. Práticas como a lavagem das mãos dos ordenhadores com água e sabão e o descarte dos três primeiros jatos em uma “caneca telada” ou de “fundo preto”, com o objetivo de diagnosticar a mastite clínica, são medidas importantes para o controle desta enfermidade assim como a

utilização de serviços laboratoriais para a identificação dos patógenos (FONSECA & SANTOS, 2000; COENTRÃO *et al.*, 2008).

Bozo *et al.* (2013) e Guerreiro *et al.* (2005) em trabalhos realizados com 5 propriedades nos estados do Paraná e Catanduva SP, obtiveram resultados que se assemelham com o presente estudo, onde todas as propriedades apresentavam problemas quanto às boas praticas de ordenha.

Quanto à qualidade do leite, em 2002 a Instrução Normativa 51 (IN 51) entrou em vigor para normatizar e garantir ao consumidor um produto com melhor qualidade, definindo os itens de composição como gordura, acidez, densidade relativa, índice crioscópico, sólidos não-gordurosos, proteína total, estabilidade em alizarol, contagem padrão em placas (UFC/ mL) e contagem de células somáticas (CS/mL) (BRASIL 2002).

No entanto, com intuito de aprimorar o leite produzido no Brasil em 2011, entrou em vigor a IN 62, na qual extinguindo a classe de leite tipo C, além de diminuir os valores para a Contagem padrão em placa e contagem de células somáticas para as regiões Sul e Centro Oeste. Em julho de 2011, onde o CPP máximo era de $7,5 \times 10^5$ (UFC/ mL) e para CCS (CS/ mL) máx. de $7,5 \times 10^5$, enquanto que em 2014 as máximas passaram a ser respectivamente 3×10^5 (UFC/ mL) e 5×10^5 CCS (CS/ mL), as regiões Norte e Nordeste tem um ano a mais para as novas adequações (BRASIL, 2011).

As contagens de bactérias mesófilas aeróbicas do leite proveniente dos tanques de expansão presentes nas propriedades analisadas variaram de 3×10^3 a 2×10^7 UFC/ml. Com esses resultados foi possível verificar que em uma das propriedades 17% (1/6) foi encontrado valores acima do exigido pela IN 62, demonstrando a necessidade de revisão das práticas de manejo utilizadas nesta propriedade, antes, durante e pós a ordenha, assim como do manejo utilizado para a limpeza do tanque (abela 4).

Arcuri *et al.*, (2006) obteve medias de contagem padrão de $<1,0 \times 10^5$ UFC/ ml em 20 dos 39 rebanhos estudos e $<7,5 \times 10^5$ UFC/ ml, onde todas as propriedades atenderam as exigências do IN 51. Martins e colaboradores (2008) Em avaliação de 30 tanques de refrigeração, sendo 9 tanques comunitários, acharam resultados contrários ao presente estudo, sendo que 30% dos tanques não atenderam as especificações da IN 51.

O resfriamento do leite nas propriedades tem como principal benefício a melhoria da qualidade, pela redução da deterioração por bactérias mesófilas (Miguel *et al.*, 2007).

Quanto à presença de coliformes totais, nas amostras coletadas dos tanques de refrigeração, foi possível verificar a semelhança em 83,33% (5/6) das propriedades com valores superiores a 1.1×10^4 NMP/ml, somente a propriedade 2 não apresentou crescimento para coliformes totais (<3.0), nesta mesma propriedade não foi verificado positividade aos testes de triagem de mastite nos animais em lactação (Tabela 4).

Segundo Silva e colaboradores (2010a), a contaminação do leite por bactérias do grupo coliformes é uma indicação de ausência de higiene e sanitização da sala de ordenha, dos ordenhadores e dos animais, confirmando a necessidade de modificar e reeducar os procedimentos utilizados nas propriedades leiteiras.

Contagens elevadas de coliformes em propriedades de Umuarama-PR, também foram verificadas, onde foi constatando a falta de higiene nas práticas de ordenha (SILVA *et al.*, 2010 b). Segundo alguns autores contagens acima de 1×10^3 NMP/mL de microrganismos do grupo coliforme são indicativos de falta de higiene durante as ordenhas, sendo estes agentes indicadores de contaminação ambiental, com isso é necessário implementar práticas corretas durante todo o processo de obtenção do leite (SILVA *et al.*, 2010b; CITADIN *et al.*, 2009; MURPHY 1997 *apud* ACURI *et al.*, 2006).

Uma vez que coliformes totais são indicativos de contaminação do ambiente, a presença dos coliformes termotolerantes no leite especialmente a *Escherichia coli* indica contaminações de origem fecal (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Nos resultados obtidos para coliformes termotolerantes a partir de amostras dos tanques de refrigeração, foi verificada a presença destes em 33,3% (2/6) das propriedades, com isso evidenciando a falta ou deficiência no manejo higiênico sanitário nestes estabelecimentos.

Os resultados variaram entre ausência (<3) e $9,3 \times 10^2$ NMP/ml, conforme pode ser verificado na tabela 4. As propriedades que apresentaram valores aumentados no NMP de coliformes termotolerantes (4 e 6), não coincidiram com a propriedade (1) que estava fora dos padrões microbiológicos exigidos pela IN62 quanto a contagem padrão em placa. Evidenciando que são métodos de controle higiênico-sanitário que auxiliam, porém não são interdependentes. Devido à proibição de

comercialização de leite não pasteurizado, não existem parâmetros microbiológicos normatizados para leite refrigerado cru quanto à quantidade de coliformes totais e termotolerantes na legislação vigente (Brasil, 2002; Brasil, 2011).

Semelhante ao presente estudo, Citadin *et al.* (2007), ao analisar coliformes termotolerantes no oeste do Paraná, obtiveram resultados entre $1,6 \times 10^1$ a $1,1 \times 10^4$ NMP/mL. Da mesma forma Moraes *et al.*, (2005), evidenciaram a presença de coliformes termotolerantes em 38% (8/21) propriedades do Estado do Rio Grande do Sul, ficando evidenciado a deficiência de higiene.

A partir do isolamento e testes bioquímicos do crescimento de coliformes termotolerantes foi possível identificar a *E. coli* como patógeno envolvido. A identificação de *E. coli* como contaminante no tanque de refrigeração de leite foi em 33% (2/6) das propriedades.

Na propriedade 6 foi identificado em um dos animais com mastite subclínica o isolamento de *E. coli*, da mesma maneira foi identificado esse agente no tanque de refrigeração e na água utilizada para limpeza dos animais. No entanto, na propriedade 4 onde houve crescimento do microrganismo somente no tanque de refrigeração, não foi evidenciado nas amostras provenientes dos animais com mastite, este resultado pode ter sido influenciado pela qualidade da água utilizada para a higiene do tanque, porém essa não foi avaliada no presente estudo.

À água utilizada no processo de produção do leite ainda é uma fator desconhecido para os produtores, já que estes não dão à devida importância a qualidade negligenciando os problemas que podem ocasionar a todo o sistema de produção, desde a distribuição de patógenos entre os animais como a contaminação do leite depois de obtido (GUERRA *et al.*, 2011; ARAUJO *et al.*, 2009).

Tabela 4 - Valores médios das contagens de aeróbios mesófilos, coliformes totais, coliformes termotolerantes, de amostras de leite do tanque de refrigeração de cada propriedade.

Propriedade	CPP (UFC/ml)	CT (NMP/ml)	CTT (NMP/ml)
1	2×10^7	$> 1,1 \times 10^4$	< 3.0
2	$1,3 \times 10^5$	< 3.0	< 3.0
3	$1,9 \times 10^5$	$> 1,1 \times 10^4$	< 3.0

4	2×10^5	$> 1,1 \times 10^4$	$9,3 \times 10^2$
5	3×10^3	$> 1,1 \times 10^4$	< 3.0
6	4×10^3	$> 1,1 \times 10^4$	$9,3 \times 10^2$

< 3.0 = Ausente

CPP – Contagem padrão em placa de mesófilos aeróbios

CT – coliformes totais

CTT – coliformes termotolerantes

UFC – unidades formadoras de colônia

NMP – número mais provável

Um dos fatores motivadores para os produtores melhorarem suas condições de higiene e a implantação de um programa de controle da sanidade da glândula mamária é o impacto financeiro que este tipo de programa pode ocasionar na renda do produtor (BOZO *et al.*, 2013). Segundo Borne *et al.*, (2014) avaliando o programa de nacional de controle da mastite na Holanda a principal razão de preocupação e motivadora de mudanças no conhecimento e práticas adotadas por criadores de bovinos de leite foi a custo gerado por casos de mastites clínicas.

Durante o período experimental foi realizado o diagnóstico etiológico dos agentes associados às mastites clínicas e subclínicas, detectadas no teste de CMT e caneco telado. Os principais agentes encontrados estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5- Frequência de patógenos bacterianos identificados das amostras provenientes dos animais com mastite de acordo com as propriedades avaliada.

Propriedades	Patógenos	Frequência	%
Propriedade 1	<i>Staphylococcus spp</i>	6	42%
	<i>Enterobacteriaceae</i>	3	21, 42%
	<i>Streptococcus spp</i>	2	14%
	<i>Moraxella sp</i>	1	7,14 %
	<i>Pseudomonas sp</i>	1	7,14 %
	<i>Flavobactérium sp</i>	1	7,14 %
Total		14	100%
Propriedade 2		0	0%
Propriedade 3	<i>Staphylococcus spp</i>	5	100%
Total		5	100%
Propriedade 4	<i>Staphylococcus spp</i>	3	60%

	<i>Enterobacteriaceae</i>	2	40%
Total		5	100%
Propriedade 5	<i>Staphylococcus spp</i>	6	75%
	<i>Enterobacteriaceae</i>	2	25%
Total		8	100%
Propriedade 6	<i>Staphylococcus spp</i>	6	75%
	<i>Enterobacteriaceae</i>	2	25%
Total		8	100%

Fonte: a autora

Nas propriedades avaliadas a ocorrência de patógenos considerados contagiosos foi de 65% (26/40), patógenos ambientais 27,5% (11/40) enquanto observou-se 7,5% (3/40) de outras bactérias. As bactérias identificadas pertencentes ao grupo das contagiosas foram *S. aureus* com 54 % (14/26), *S. epidermidis* 11% (3/26), *S. intermedius* 15% (4/26), *S. chromogenes* 15% (4/26) e *S. hyicus* 4% (1/26), já as bactérias ambientais encontradas no presente estudos foram da família *Enterobacteriaceae spp* com 81% (9/11), *Streptococcus uberis* 9% (1/11) e *Streptococcus sp.* 9% (1/11). Enquanto as outras bactérias 7,5% identificadas foram do gênero *Moraxella sp* 33% (1/3), *Flavobacterium sp* 33% (1/3) e *Pseudomonas sp* 33% (1/3).

Entre os patógenos contagiosos o de maior frequência encontrado foi o *Staphylococcus* coagulase positiva, sendo o mais isolado o *S. aureus* com 54%. No Brasil estudos realizados indicam que *S. aureus* está amplamente distribuído nos rebanhos leiteiros nacionais, com frequências que variam de 32,9 a 70,9%, resultados estes semelhantes ao encontrado no presente estudo (ZANETTE *et al.*, 2010; ANDRADE *et al.*, 2000; MOREIRA *et al.*, 1997; LARANJA & MACHADO, 1994)

Segundo Brito *et al.*, (2009) e FERREIRA *et al.* (2006), a mastite por patógenos contagiosos deve-se as condições deficientes de higiene durante a ordenha, incluindo o local, os equipamentos utilizados e os ordenhadores, que se tornam veículos para as bactérias, quando não ocorre a higienização correta. Estes fatores provavelmente contribuíram para os resultados obtidos no presente estudo, uma vez que foi observada a alta ocorrência destes microrganismos contagiosos e a deficiência nas praticas de manejo nas propriedades avaliadas.

Outros agentes são freqüentemente isolados nos casos de mastites como leveduras e bactérias do gênero *Corynebacterium sp.*, consideradas agentes contagiosos (COSTA *et al.*, 2008; LANGONI *et al.*, 2011; LAFFRANCHI *et al.*, 2001). No entanto, não houve isolamento desses microrganismos nas amostras analisadas.

Foi observado nos animais analisados a ocorrência de 27,5% de mastite causada por agentes ambientais, destes, 81% foram referente a enterobactérias. Segundo Prestes, *et al.* (2003) a família *Enterobacteriaceae* deve ser considerada como importantes agentes causadora da enfermidade, podendo inclusive ocasionar mastite com maior gravidade.

Lagoni *et al.*, 2011, obteve isolamentos de bactérias Gram negativas em 17% de amostras de leite.

Em diferentes países e regiões de tipos de sistemas criação de bovinos de leite há diferenças entre os agentes etiológicos das mastites, de acordo com características climáticas e tipo de instalações que praticam o estudo conduzido por Riekerink *et al.* (2008) sobre a etiologia de mastite clínica no Canadá que encontraram maior ocorrência de *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Streptococcus uberis*, e *Staphylococcus coagulase-negativo*, a distribuição destes, variou de acordo com a região do país e com o tipo de instalação, em instalações do tipo “free stall” foram encontradas maior proporção de *Klebsiella spp.* E *E. coli* em instalações do tipo “tie-stall” *S. aureus*, *Strep. uberis*, e *Staphylococcus coagulase negativa*, e outros *Streptococcus spp.*

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adequação de 83,3% das propriedades dentro dos limites exigidos pelo MAPA IN 51 e IN 62, quanto a CPP isolada do tanque de refrigeração, demonstrou que o leite produzido nessas propriedades estava dentro dos limites de higiene preconizados neste quesito. No entanto, foi possível observar que quanto à ocorrência de mastite e número mais provável de coliformes totais e fecais estão aquém do recomendado.

Verificou-se problema no sistema de manejo em todas as propriedades avaliadas, sendo o mais comum deficiência de instalações e na higiene dos animais antes, durante e pós ordenha, que certamente colaboraram para os casos de mastite clínica e subclínica nas propriedades.

Foi possível verificar que a alta ocorrência encontrada de microrganismos que causam mastite contagiosa em especial *Staphylococcus spp*, corrobora para os resultados de deficiência na higienização durante os processos de obtenção do leite.

A implantação de sistemas de higiene mais eficientes e o maior controle dos rebanhos analisados seria uma alternativa para a diminuição da ocorrência de mastite e possível aumento de produção leiteira, acarretando em melhores lucros.

Considerando o número de propriedades avaliadas é necessário ainda, mais estudos sobre a produção leiteira no município de Dom Pedrito – RS para que se tenha uma visão real do sistema de produção realizado na região.

REFERÊNCIAS

- AIRES, T.A.C.P.; Mastites em Bovinos: caracterização etiológica, padrões de sensibilidade e implementação de programas de qualidade do leite em explorações do Entre-Douro e Minho. **Tese de Mestrado**. Universidade Técnica De Lisboa 2010.
- ANDRADE, M.A.; FILHO, F.C.D.; MESQUITA, A.J.; ROCHA, P.T. Sensibilidade in vitro de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n.1, p.53-57, 2000.
- ARAÚJO, M.M.P.; ALVES, P.D.D.; BARBOSA, F.H.F.; ROSA, C.A. Qualidade higiênico-sanitária do leite e da água de algumas propriedades da bacia leiteira do município de Luz – MG. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 9, n. 2, 2º semestre de 2009
- ARCURI, E.F.; BRITO, M.A.V. P.; BRITO, J.R.F.; PINTO, S.M.; ÂNGELO, F.F.; SOUZA, G. N. Qualidade microbiológico do leite refrigerado nas fazendas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n. 3, p. 440 – 446, 2006
- BAR, D.; TAUER, L. W.; BENNETT, G.; GONZALEZ, R. N.; HERTL, J. A.; SCHUKKEN, Y. H.; SCHULTE, H. F.; WELCOME, F. L.; GROHN, Y. T. The cost of generic clinical mastitis in dairy cows as estimated using dynamic programming. **Journal Dairy Science**. 91:2205–2214, 2008
- BARBALHO, T. C. F.; MOTA, R. A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 2, p. 31-36, 2001.
- B. H. P van den Borner; J. Jansen; T. J. G. M Lam; G. van Schaik. Associations between the decrease in bovine clinical mastitis and changes in dairy farmers' attitude, knowledge, and behavior in the Netherlands. **Research in Veterinary Science**, 2014
- BENEDETTE, M. F.; ROCHA, F. P. C.; SANTOS, D. A. N.; COSTA, E. A. D'A.; AVANZA, M. F. B. Mastite Bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VI, nº 11, julho de 2008
- BOZO, G.A.; ALEGRO, L.C.A.; SILVA, L.C.; SANTANA, E.H.W.; OKANO, W.; SILVA, L.C.C.; Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação. **Arq. Bras. Med Vet. Zootec.**, v.65, n.2, p.589-594, 2013

BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J. (2000) A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. **Journal Dairy Science**, 83(9):1957-1965.

BRADLEY, A.J. Bovine mastitis: an evolving disease. **Veterinary Journal**, v. 164, n. 2, p.116-128, 2002

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n° 51, de 28 de Setembro de 2002. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, Qualidade, Coleta e Transporte de Leite. Brasília; 2002. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acessado em 08 ago. 2014

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n° 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, Qualidade, Coleta e Transporte de Leite. Brasília; 2011. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acessado em 07 ago. 2014

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F.; Controle da mastite – ou como reduzir a contagem de células somáticas do rebanho bovino leiteiro. **Embrapa Gado de Leite**, 2000

BRITO, José Reinaldi Feitosa; BRITO, Maria Aparecida Paiva; MENDONÇA, Patrícia Tristão. **Prevenção e Controle de Mastite**. Viçosa, MG, CPT, 2009

BUENO, V. F. R.; NICOLARU, E. S.; MESQUITA, A. J.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B.; COSTA, E. O.; COELHO, K. O.; NEVES, R. B. S. Mastite bovina clínica e subclínica, na região de Pirassununga, SP: Frequência e Redução na Produção. **Ciência Animal Brasileira** v.3, n. 2, p. 47 – 52, jul./dez. 2002

CARDOZO, R.M. Avaliação de testes para diagnóstico de mastites subclínicas em bovino de leite. **Revista Unimar**, v.18, n.3, p.627-636, 1996.

CITADIN, A. S.; POZZA, M. S. S.; POZZA, P. C.; NUNES, R. V.; BORSATTI, L.; MANGONI, J. Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado e fatores associados. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v. 10, n.1, p. 52-59, 2009

COENTRÃO, C. M.; SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; PAIVA, M. A. V.; LILENBAUM, W. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.60, n.2, p.283-288, 2008

CONETRO C.M.; SOUZA, G. N., BRITO J. R. F.; PAIVA M.A.V. B.; LILENBAUM W.; Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.60, n.2, p.283-288, 2008

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Educação Continuada**, CRMV-SP, v.1, n.1, 1998.

COSTA, E. O.; RIBEIRO, A. R.; GARINO - JR, F.; et al. Avaliação da condutibilidade elétrica do leite de glândula mamária com mastite: correlação com CMT e exames microbiológicos. **Revista do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, v. 1, n. 1, p. 3-8, 1998.

COSTA, G. M.; SILVA, N.; ROSA, C. A.; FIGUEIREDO, H. C. P.; PEREIRA, U. P. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1938 – 1942, out, 2008

FERREIRA, L. M.; FILHO, A. N.; OLIVEIRA, E.; ZAFALON, L. F.; SOUZA, V.; Variabilidade fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isolados em casos de mastite subclínica bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n.4, p.1228 – 1234, jul-ago, 2006

FERREIRA, L. M. Epidemiologia molecular aplicada ao monitoramento de estirpes de *Staphylococcus aureus* envolvidas em casos de mastite Bovina. **Tese de Mestrado**. Jaboticabal. SP 2008

FIORI, J.; Assistência Técnica e políticas públicas alavancam produção de leite no RS , Disponível em:<www.estado.rs.gov.br/noticias/1/116434/Assistencia-Tecnica-e-politicas-publicas-alavancam-producao-de-leite-no-RS> Acessado em:12/03/2014

Fonseca L.F.L. & Santos M.V. 2000. **Qualidade do leite e controle de mastite**. Ed: Lemos, São Paulo

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

GIANNEECHINI, By. R. Occurrence of Clinical and Sub-Clinical Mastitis in Dairy Herds in the West Littoral Region in Uruguay. **Acta Vet. Scand.** vol. 43., no. 4, p. 221-230, 2002

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

GUERRA, M. G.; JÚNIOR, J. G. B. G.; RANGEL, A. H. N.; ARAÚJO, V. M.; GUILHERMINO, M. M.; NOVAES, L. P. Disponibilidade e qualidade da água na produção de leite. **Acta Veterinária. Brasília**, v.5, n.3, p230-235, 2011

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Indicadores IBGE, Estatística da Produção Pecuária, Junho de 2014

Kitchen, B. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: Milk compositional changes and related diagnostic tests, **Journal Dairy Science**. v. 48, p. 167–188, 1981

LAFFRANCHI, A.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, J.A. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1027 – 1032, 2001

LANGONI, H.; PENACHIO, D. S.; CITADELLA, J.C.C.; LAURINO, F.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; LAUCHEIS, S. B.; MENOZZI, B. D.; SILVA, A. V. Aspectos microbiológicos e de que qualidade do leite bovino. **Pesq. Vet. Bras.** 31(12):1059-1065, dezembro 2011

LANGONI, H.; Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. **Pesq. Vet. Bras.** 33(5):620-626, maio 2013

LARANJA, L.F.; MACHADO, P.F. Ocorrência de mastite bovina em fazendas produtoras de leite B no estado de São Paulo. **Revista Ciência Agrícola**, v.51, n.3, p.578-585, 1994.

LeBLANK, S.J.; LISSEMORE, K.D.; KELTON, D.F. et al. Major advances in diseases prevention in dairy cattle. **Journal Dairy Sciences**, v. 89, n. 4, p. 1267-1279, 2006.

MA, Y. et al. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal DairyScience**, v. 83, p. 264-274, 2000.

MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; FILHO, E. S. A. Prevalencia e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ci. Anim. Bras., Goiânia**, v. 11, n. 1, p. 181-187, jan./mar. 2010

MARTINS, P. R. G.; FISCHER, V.; RIBEIRO M. E. R.; GOMES J. F.; STUMPF, W. Jr.; ZANELA, M. B.; Produção e qualidade do leite em sistemas de produção da região leiteira de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.37, n.1, jan-fev, 2007.

MARTINS, M.E.P.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; ARRUDA, M.T. qualidade de leite cru produzido e armazenado em tanques de expansão no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1152 – 1158, out./dez. 2008

MORAES, C. R.; FUENTEFRIA, A. M.; ZAFFARI, C. B.; CONTE, M.; ROCHA, J. P. A. V.; SPANAMBERG, A.; VALENTE, P.; CORÇÃO, G.; COSTA, M.. Qualidade microbiológica do leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33 n. 3, p. 259-264, 2005.

MILLER, E. A.; NESI, C. N.; Prevalência de agentes causadores de mastite, qualidade do leite e conformidade com a IN N. 51. **Unoesc &Ciencia– ACET**, Joaçaba, v.3, n.2, p. 159-204, jul/dez 2012

MOREIRA, P. C.; SILVA, L. A. F.; MESQUITA, A. J. Resistência de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Streptococcus ssp.* isolados do leite de vacas com mastite clínica na bacia leiteira de Goiânia. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, v.27, n.2, p.61-68, 1997.

MULLER, E.E.; 2002. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, Anais II Sul-Leite, Toledo, PR, p.206-217.

OLIVEIRA, U. V.; GALVÃO, G. S.; PAIXÃO, A. R. R.; MUNHOZ, A. D. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Itabuna-Ilhéus, Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.11, n.3, p.630-640 jul/set, 2010

OLIVEIRA, C. M. C.; SOUSA, M. G. S.; SILVA, N. S.; MENDOÇA, C. L.; SILVEIRA, J. A. S.; OAIGEN, R. P.; ANDRADE, S. J. T.; BARBOSA, J. D.; Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesq. Vet. Bras.** 31(2):104-110, fevereiro 2011

OLIVEIRA, J. M. B.; VANDERLEI, D. R.; MORAES, W. S.; BRANDESPIM, D. F.; MOTA R. A.; OLIVEIRA A. A. F.; MEDEIROS. E. S.; JÚNIOR, J. W. Fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Garanhuns, Pernambuco **Pesq. Vet. Bras.** 32(5):391-395, maio 2012

PILON, L. e DUARTE, K. M. R. Técnicas para detectar resíduos de antibióticos em leite bovino. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 42, Ed. 147, Art. 988, 2010

PINHEIRO, F.A.; CARDOSO, W. S.; CHAVES, K. F.; OLIVEIRA, A. S. B.; RIOS, S. A.; Perfil de Consumidores em Relação à Qualidade de Alimentos e Hábitos de Compras. UNOPAR. **Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, 2011; 13(2);95-102.

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**, 83(11):2464-2472, 2000

QUINN, P.J; MARKEY, B.K; CARTER, M.E; DONNELLY, W.J; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

R. G. M. Olde Riekerink.; H. W. Barkema.; D. F. Kelton.; D. T. Scholl. Incidence Rate of Clinical Mastitis on Canadian Dairy Farms. **Journal Dairy Science**. 91: 1366 – 1377, 2008

S.M.A.M.A – Secretaria Municipal da Agricultura e Meio Ambiente de Dom Pedrito – RS, 2014

Santos, M.V. et al. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. **Journal of Dairy Science**, v. 86, Issue 8, p. 2491–2503, 2003,

SANTOS, L.L.; PEDROSO, T.F.F.; GUIRRO, E.; Perfil etiológico da Mastite Bovina na bacia leiteira de Santa Izabel do Oeste, Paraná. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia, v.11, n. 4, p.860-866, out./dez. 2010

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

SATU, P. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Vet. Res.** 34, pag. 565–578, 2003.DOI: 10.1051/vetres:2003026

SILVA, Thiago Farias. Correlação entre o crescimento bacteriano em placa com a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) de leite proveniente de vacas com mastite subclínica do norte e noroeste Fluminense. **Tese de mestrado**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes – 2007

Manual de métodos de análise Microbiológicas de Alimentos e água/ Neusely da Silva et al., J. 4. Ed. – São Paulo: livraria Varela, 2010

SILVA, M. A. P.; SANTOS, P. A.; SILVA, J. W.; LEÃO, K. M.; OLIVEIRA, A. N.; NICOLAU, E. S.. Variação da qualidade do leite cru refrigerado em função do período do ano e do tipo de ordenha. **Revista Instituto Adolfo Lutz** , v. 69, n. 1, 2010a.

SILVA, M. R.; SACANAVACCA, J.; GRANDA, T. K. V.; SEIXAS, F. A. V.; GRANDA, E. À.. Avaliação higiênicosanitária do leite produzido em Umuarama (Paraná). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 271-280, 2010b

SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C.; BRITO, M. A. V. P.; BASTOS, R. R. Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas do leite do

tanque em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, supl. 2, p.251-260, 2005

SOUZA, L.P.; HONORATO, L. A.; GÓMEZ; C. U.; CARDOSO, C. S.; HÖTZEL, M. J. Construção e uso de indicadores para avaliação do manejo da ordenha: uma proposta metodológica participativa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.5, p.911-917 mai., 2014.

SCHREINER, D. A.; RUEGG, P. L. Relationship Between Udder and Leg Hygiene Scores and Subclinical Mastitis. **Journal Dairy Science**. 86:3460-3465, 2003

TRONCO, Vania Maria. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 1997.

YAMAMURA et al. Fatores de risco associados à mastite bovina causada por *Protothecazopfi*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.3, p.755-760, 2008.

ZANETTE, E.; SCAPIN, D.; ROSSI, E.M. Suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de bovinos com suspeita de mastite. **Unoesc & Ciência** - ACBS, v.1, n.1, p.65-70, 201

APÊNDICE

FICHA DE AVALIAÇÃO

PROPRIEDADE

Nome da propriedade: _____

Localidade: _____

Município: _____

Tipo de rebanho: leite () Corte () Número total de animais: _____

Nº de animais em ordenha: _____ Raça: _____

Total de animais _____

Produção diária: _____

Sistema de Criação: () Extensiva () Confinada () Semi extensiva

FÁRMACOS USADOS PARA:

Sistema de Secagem das

vacas: _____

Secagem das

vacas: _____

Tratamentos de

mastite: _____

Vacinações: () teste de tuberculina () Brucelose () Reprodutivas

Vermifugação: () Semestral () Trimestral () Mensal

Sistema de ordenha: () manual () tarro ao pé () canalizado

SISTEMA DE HIGIENE DOS TETOS

() pré e pós dipping () pré dipping () pós dipping () nenhum ()

outro _____

Tempo de contato com o teto: _____ Concentração do

produto: _____

Secagem dos tetos: () uso de pano () papel toalha () nenhum () outro

Limpeza das teteiras () detergente alcalino () detergente ácido () somente
água quente () somente água fria ()

outros _____

Uso de caneca de fundo preto: () Sim () Não

Freqüência:

Uso do teste do CMT: () Sim () Não

Freqüência:

SALA DE ORDENHA

Chão: () cimento () chão batido () emborrachado () outros_____

Paredes: () cimento () azulejo () outros_____

Animais na sala de ordenha: () cachorro () gato () galinhas () outros_____

Aberturas: Janelas com telas () sim () não

Água de bebida: () açude () água de poço () água encanada

Suplementação: () feno () silagem () ração comercial

Suplementação no cocho () Sim () Não

Pré ordenha () Pós Ordenha ()

Local da Suplementação pós ordenha _____