

**UFRRJ**

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,  
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**TESE**

**Análise Microbiológica da Qualidade do Leite e  
Avaliação de Medidas de Prevenção e Controle da  
Mastite Bovina em Unidades Leiteiras no Rio  
Grande do Sul**

**Felipe Carlos Dubenczuk**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,  
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA QUALIDADE DO  
LEITE E AVALIAÇÃO DE MEDIDAS DE PREVENÇÃO E  
CONTROLE DA MASTITE BOVINA EM UNIDADES  
LEITEIRAS NO RIO GRANDE DO SUL**

**FELIPE CARLOS DUBENCZUK**

*Sob a Orientação da Professora*  
**Miliane Moreira Soares de Souza**

*e Co-orientação da Professora*  
**Shana de Mattos de Oliveira Coelho**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Área de Concentração Patobiologia Animal.

Seropédica, RJ  
Abril de 2019

D814a

Dubenczuk, Felipe Carlos , 1990-

Análise Microbiológica da Qualidade do Leite e Avaliação de Medidas de Prevenção e Controle da Mastite Bovina em Unidades Leiteiras no Rio Grande do Sul / Felipe Carlos Dubenczuk. - Seropédica, 2019.

70 f.: il.

Orientadora: Miliane Moreira Soares Souza.

Coorientadora: Shana de Mattos de Oliveira Coelho.

Tese (Doutorado). - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa De Pós-Graduação Em Ciência, Tecnologia E Inovação Em Agropecuária, 2019.

1. Mastite bovina. 2. Etiologia da mastite. 3. Controle e prevenção da mastite. I. Souza, Miliane Moreira Soares, 1970-, orient. II. Coelho, Shana de Mattos de Oliveira, 1980-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa De Pós Graduação Em Ciência, Tecnologia E Inovação Em Agropecuária. IV. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Tese, desde que citada a fonte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO  
EM AGROPECUÁRIA**

**FELIPE CARLOS DUBENCZUK**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, área de Concentração Patobiologia Animal

TESE APROVADA EM 05 / 04 /2019

---

Miliane Moreira Soares de Souza. Dr<sup>a</sup>. UFRRJ  
(Orientador)

---

César Augusto Da Ros. Dr. UFRRJ

---

João Batista Ribeiro Dr. EMBRAPA

---

José Carlos de Figueiredo Pantoja Dr. UNESP

---

Lidiane de Castro Soares. Dr<sup>a</sup>. UFRRJ

*“Se você acredita que o treinamento é caro,  
experimente a ignorância”*  
**DEREK BOK**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço pela vida e pela minha família que me fortalecem e me incentivam a seguir no melhor caminho sempre.

Aos meus pais, Valdemiro Luis Dubenczuk e Marli Teresinha Dubenczuk, por não medirem esforços em toda minha formação, pelos conselhos que levarei para sempre e pelo amor incondicional, obrigado.

À minha irmã Fernanda Dubenczuk que não mediu esforços para ajudar, pelo apoio em toda jornada, pelo companheirismo e dedicação, meu muito obrigado.

Aos meus Avós, pelo carinho e esforço que permitiu desempenhar toda a jornada acadêmica.

À minha noiva Lara Roesler, por ser essa pessoa maravilhosa. Obrigado pelo apoio, carinho e principalmente, compreensão.

À minha orientadora Miliane Moreira Soares de Souza, por acreditar no trabalho, estar sempre guiando os passos nessa jornada desde a iniciação científica e pelos ensinamentos que levarei para toda a vida.

À minha Co-orientadora Shana de Mattos de Oliveira Coelho, pelos ensinamentos, dedicação e incentivo.

À professora Irene da Silva Coelho, pelo carinho e competência, estando sempre disposta a ajudar.

À Dayanne Araújo de Melo, pelos ensinamentos, amizade e contribuição neste trabalho para que fosse concluído.

À Tatiani Abreu de Alencar pela contribuição, apoio e incentivo durante toda a iniciação científica.

Aos amigos e colegas de laboratório, Cássia Couta da Motta, Bruno Oliveira de Carvalho, Gabrielli Stefaninni Santiago, Greiciane França Bronzato de Almeida, Marcelo Santos de Oliva, Marisol Alvim Gomez, Naiara de Miranda Bento Rodrigues por tornarem a rotina de trabalho prazerosa e divertida. Obrigado pela amizade e colaboração.

Ao Lourivan Serafini, pela seriedade, comprometimento e por permitir a realização dos trabalhos nas propriedades.

Aos amigos Ademir Delazeri, Daniel Lisot, Lucas Scherer, Odir Dalla Riva e Sandro Martelli, pela amizade e profissionalismo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária (PPGCTIA-UFRRJ), pela oportunidade de aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos que tornou o doutorado, uma realidade.

## **BIOGRAFIA**

Felipe Carlos Dubenczuk, nascido em 25 de junho de 1990 em Erechim, Rio Grande do Sul. Filho de produtores rurais realizou o curso de técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Concórdia entre 2005 e 2007. Em agosto de 2010 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, diplomando-se em agosto de 2014. Durante toda a graduação, foi estagiário no Laboratório de Bacteriologia Veterinária e entre os anos de 2011 e 2014 foi bolsista de iniciação científica, realizando projetos de extensão e pesquisa na área de mastite bovina, sob orientação da professora Ph.D Miliane Moreira Soares de Souza. Em 2015, foi aprovado no processo seletivo do Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, nível doutorado, sob a orientação da professora Ph.D Miliane Moreira Soares de Souza.

## RESUMO

DUBENCZUK, Felipe Carlos. **Análise microbiológica da qualidade do leite e avaliação de medidas de prevenção e controle da mastite bovina em unidades leiteiras no Rio Grande do Sul.** 2019. 70f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

As constantes atualizações das Instruções Normativas IN-51, IN-62, IN-07, estendendo os prazos para seu efetivo cumprimento e flexibilizando os limites de qualidade exigidos mostram a insipiência da produção de leite de boa qualidade no Brasil. A mastite é um dos principais desafios encontrados nos rebanhos leiteiros, e entre as principais ferramentas utilizadas para o seu controle está a Contagem de Células Somáticas (CCS), um importante indicador de saúde da glândula mamária, relacionada com queda na quantidade e qualidade do leite produzido, redução na qualidade e rendimento dos derivados lácteos e diminuição da vida de prateleira dos produtos. Contagens acima de 200 mil células/mL de leite indicam mastite, em sua maioria causada por agentes infecciosos. O objetivo do presente trabalho foi aplicar um instrumento diagnóstico visando traçar o perfil da atividade leiteira em cada propriedade, avaliar as condições higiênico-sanitárias no processo de ordenha e a execução do programa dos 10 pontos de controle da mastite bovina, bem como avaliar a saúde da glândula mamária, através de análises de CCS e cultura bacteriana e identificar o perfil de resistência aos antimicrobianos dos agentes isolados. Foram avaliadas 14 propriedades, as quais receberam 135 visitas técnicas entre os anos de 2014 e 2018, resultando em 5.631 análises de CCS e 445 análises de cultura bacteriológica. Em 30,8% (137/445) das amostras não houve crescimento bacteriano. Foram obtidos 309 isolados e os agentes prevalentes foram *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus aureus*. A distribuição de *S. aureus* foi em 100% (14/14) das propriedades leiteiras e 65% das vacas que apresentaram este agente tiveram ao menos uma análise de CCS acima de um milhão. O perfil de resistência antimicrobiana nesta espécie foi superior a 30% para ampicilina, ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, neomicina, penicilina G e sulfametoxazol + trimetoprim. Para *Streptococcus* spp. observou-se resistência superior a 50% para eritromicina e sulfametoxazol + trimetoprim. A análise do instrumento diagnóstico revelou que 71% (10/14) dos produtores não conheciam as causas de mastite na propriedade, contabilizando apenas os prejuízos causados pela mastite clínica, com a drástica queda de produção. Além disso, o manejo de ordenha apresentava falhas em diferentes aspectos em todas as propriedades estudadas. Os resultados destacam o programa de 10 pontos como uma excelente ferramenta para diagnóstico, prevenção e controle da mastite bovina e reforça a necessidade de se conscientizar os produtores que um bom trabalho realizado “porteira adentro” permite melhores resultados zootécnicos com aumento de produtividade, melhoria na saúde animal e consequentemente melhor preço no produto final.

**Palavras chave:** Mastite bovina. Etiologia da mastite. Controle e prevenção da mastite.

## ABSTRACT

DUBENCZUK, Felipe Carlos. **Microbiological analysis of milk quality and evaluation of prevention and control measures of bovine mastitis in dairy units in Rio Grande do Sul.** 2019. 70f. Thesis (Doctorado in Science, Technology and Innovation in Agriculture). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019

The constant updating of the IN-51, IN-62, IN-07 Normative Instructions, extending the deadlines for its effective compliance and making more flexible the required cut off values show that good quality milk production in Brazil is no longer established. Mastitis is one of the main challenges in dairy herds, and among the main tools used for its control is the Somatic Cell Count (CCS), an important indicator of mammary gland health, related to a decrease in milk quantity and quality, reduction in the quality and yield of dairy products and shortening the shelf life of the products. Counts above 200,000 cells / mL of milk indicate mastitis, mostly caused by infectious agents. The aim of the present study was to apply a diagnostic tool to trace the profile of dairy activity in each farm, to evaluate the hygienic-sanitary conditions in the milking process and the execution of the program of the 10 control points of bovine mastitis, as well as to evaluate the health of the mammary gland through analyzes of CCS and bacterial culture and to identify the antimicrobial resistance profile of the isolated agents. We evaluated 14 properties, which received 135 technical visits, resulting in 5.631 CCS analyzes and 445 bacteriological culture analyzes. In 30.8% (137/445) of the samples there was no bacterial growth. A total of 309 isolates were obtained and the prevalent agents were *Streptococcus* spp. and *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* was distributed in 100% (14/14) of the dairy properties and 65% of the cows that host this agent had at least one CCS analysis above one million. The antimicrobial resistance profile in this species was higher than 30% for ampicillin, ciprofloxacin, erythromycin, gentamicin, neomycin, penicillin G and sulfamethoxazole + trimethoprim. For *Streptococcus* spp. resistance greater than 50% was observed for erythromycin and sulfamethoxazole + trimethoprim. The analysis of the diagnostic tool revealed that 71% (10/14) of the producers did not know the causes of mastitis in the property, accounting only for the damages caused by the clinical mastitis, with the drastic decrease of production, in addition, in different aspects in all the studied properties. These results highlight the implementation of the 10-point program as an excellent tool for diagnosis, prevention and control of bovine mastitis and reinforces the need to make producers aware that a good work done "indoors" allows better zootechnical results with increased productivity, improvement in animal health and consequently better price in the final product.

**Key words:** Bovine mastitis. Etiology of mastitis. Control and prevention of mastitis.

## RESUMEN AMPLIADO

DUBENCZUK, Felipe Carlos. **Análisis microbiológico de la calidad de la leche y evaluación de medidas de prevención y control de la mastitis bovina en unidades lecheras en Rio Grande Do Sul.** 2019. 70h. Tesis (Doctorado en Ciencia, Tecnología e Inovacion en Agropecuaria). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019

### 1. Introducción

La mastitis es uno de los principales desafíos que se encuentran en los rebaños lecheros de todo el mundo. El SCC es el indicador por el cual se evalúa la incidencia y prevalencia de mastitis en los rebaños. El control de la mastitis bovina en rebaños es una acción multifactorial. La producción de lácteos en Brasil es heterogénea con diversidad en los sistemas de producción. Por lo tanto, se necesitan estudios regionales para caracterizar la producción lechera y sus particularidades en una región determinada. El control de la mastitis ocurre a través de la implementación de prácticas apropiadas en el proceso de manejo de animales. Por lo tanto, aquellos involucrados en el proceso de ordeño juegan un papel clave en el control y la prevención de la mastitis. Sin embargo, implementar procesos adecuados es un desafío debido a los cambios en la rutina de la propiedad, los hábitos personales, sociales y económicos. El control de la mastitis es entendido por la mayoría de los productores como el uso de antimicrobianos únicamente. Sin embargo, el control efectivo se produce después de conocer el perfil epidemiológico de cada propiedad, identificar el origen de la enfermedad y establecer estrategias de prevención y control para cada grupo de microorganismos. Por lo tanto, el trabajo apunta a recopilar información sobre la producción y la calidad de la leche para comprender el contexto regional sobre la mastitis. Además, asesorar sobre el manejo de la calidad de la leche en las propiedades asociadas al estudio, a través de visitas técnicas y desarrollar estrategias para la prevención y control de la mastitis bovina.

### 2 Material y métodos

El estudio se realizó en 14 granjas en la región norte del estado de Rio Grande do Sul, Brasil. La recolección de datos, el cuestionario y las visitas técnicas se realizaron entre julio de 2014 y febrero de 2018, por el mismo investigador. Se evaluaron los siguientes aspectos en las granjas: los aspectos generales del manejo de la granja, el manejo del ordeño, la limpieza e higiene del equipo de ordeño, los aspectos socioeconómicos, el conocimiento de los productores sobre CCS y CBT, las medidas de prevención y control de mastitis y los desafíos de propiedad considerados por los propietarios. . Las muestras para el recuento de células somáticas fueron recolectadas mensualmente y evaluadas por SARLE-UPF, un laboratorio acreditado por la Red Brasileña de Laboratorios de Control de Calidad de la Leche (RBQL). Se realizaron cultivos microbiológicos y antibiograma en vacas con CCS de más de 200,000 células / ml, recogidos asépticamente y analizados por el investigador del Laboratorio de Bacteriología Veterinaria - UFRRJ. El asesoramiento técnico en las granjas proporcionó al agricultor información técnica sobre la calidad de la leche a través de reuniones, capacitación y seguimiento de rutina en las granjas.

### 3 Resultados y discusión

Las granjas presentaron diferencias estructurales de las granjas en los sistemas de producción, el tamaño del rebaño y la eficiencia productiva. La semiconfinación estuvo presente en el 71% (10/14) y el confinamiento en el 29% (4/14) de las propiedades. Los rebaños tenían, en promedio, 43 vacas lactantes por propiedad, rendimiento de 24,9 litros /

vaca / día, tanque CCS 559 células / ml. Se evaluaron un total de 5.631 muestras de recuento de células somáticas en 135 colecciones de las 14 propiedades. Farm B redujo el CCS de 879,000 células / ml a 257,000 células / ml en menos de 12 meses. La granja C redujo la prevalencia de mastitis del 61% (17/28) al 35% (10/28) después de 12 meses de trabajo. Farm F redujo el CCS de 1.1 millones a 232,000 células / ml después de 24 meses de asesoramiento. En la propiedad L hubo una reducción del 39% (16/41) al 15% (6/41) de la prevalencia de mastitis a los 16 meses. El SCC medio de animales con *S. aureus* fue de 1.106 millones de células / ml en 550 muestras durante el período de estudio. El 61% de las vacas con mastitis por *S. aureus* mantuvieron SCC por encima de 200,000 células / ml en 8 análisis consecutivos. Se recogieron 445 muestras de leche mastitic para análisis microbiológicos. En 30.8% (137/445) de las muestras no hubo crecimiento bacteriano. De las 308 muestras que mostraron crecimiento bacteriano, se identificaron 309 aislamientos. Entre los agentes bacterianos involucrados en la etiología de la mastitis: se aisló *Streptococcus* ambiental en 28.5% (88/309); *Staphylococcus aureus* también aislado en 28.5% (88/309); El estafilococo coagulasa negativo representó el 24,6% (76/309); Se aisló *Escherichia coli* al 7,1% (22/309); *S. agalactiae* aislado al 4.5% (14/309) y otros agentes correspondieron al 6.8% (21/309). Los antimicrobianos, utilizados de acuerdo con las necesidades de los productores, tenían un perfil de resistencia general superior al 30% de los aislamientos de ampicilina, ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, neomicina, penicilina G y sulfametoxazol + trimetoprima. De los cuestionarios, el 57% (8/14) de los productores consideran los factores ambientales como la razón principal de la serie de mastitis. Solo el 57% de los productores saben qué es la mastitis subclínica. Solo el 29% (4/14) de los productores hicieron notas de casos clínicos presentados sobre la propiedad y / o protocolos utilizados en cada caso de mastitis clínica. TCC 100% (14/14) relacionada con mala higiene. El 93% (13/14) de los productores están preocupados por las pérdidas que influye la TCC en el precio final de la leche, pero la misma pérdida en el precio de la leche se debe al alto CCS y los productores no relacionaron estas pérdidas. El 50% (7/14) de los productores consideran el precio de la leche como una barrera para el éxito en la actividad láctea. Los 10 puntos para el control de la mastitis bovina no se aplican por completo a ninguna propiedad, agravada por la falta de monitoreo de las actividades realizadas. Ningún productor considera que la razón de la dificultad en la actividad láctea pueda estar relacionada con la falta de información técnica. Las granjas no tenían un protocolo definido para el tratamiento de la mastitis clínica durante la lactancia.

#### 4 Conclusión

Los productores deben estar informados con las herramientas apropiadas para que puedan entender de manera clara y precisa. Los 10 puntos para el control de la mastitis son suficientes para el control de la mastitis. La indicación de las vacunas existentes utilizadas para la prevención de la mastitis bovina debe evitarse o hacerse más técnicamente clara para los productores. *S. aureus* es el principal agente microbiano relacionado con la mastitis bovina. Sin embargo, *S. agalactiae* debe ser el primer agente que se controla en la propiedad a través de la terapia *blitz* y, por lo tanto, debe poder erradicarse. La mastitis subclínica se descuida en las propiedades lácteas. Se requiere el uso consciente de los antimicrobianos para evitar la contaminación o la resistencia a los antimicrobianos. Los agricultores deben enfocarse "internamente", buscando conocimiento, mejorando los resultados zootécnicos, mejorando así la productividad, la salud animal y, en consecuencia, permitiendo que la actividad lechera se establezca y genere ganancias.

**Palabras llave:** Mastitis bovina. Etiología de la mastitis. Control y prevención de mastitis.

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág
<b>Figura 1</b>	Localização dos municípios onde se encontram as propriedades estudadas, no Rio Grande do Sul.	23
<b>Figura 2</b>	Estratégias no manejo nutricional baseado nos resultados de NUL e Proteína do Leite; NUL: Nitrogênio Ureico do Leite; CNF: Carboidratos não fibrosos; PDR: Proteína Digerível no Rúmen; PNDR: Proteína Não digerível no Rúmen; PB: Proteína Bruta.	26
<b>Figura 3</b>	Gráfico da Evolução da prevalência de vacas com CCS acima de 200 mil células/mL, entre julho de 2014 e outubro de 2016 na propriedade F.	35
<b>Figura 4</b>	Número de vacas com mastite crônica e de novos casos de mastite que afetam a CCS do rebanho.	36
<b>Figura 5</b>	Número de meses que a vaca infectada com <i>S. aureus</i> permaneceu com CCS superior a 200 mil células/mL, demonstrando a cronicidade da infecção.	37
<b>Figura 6</b>	Porcentagem de resistência aos antimicrobianos testados, diferenciado por espécies de bactérias.	39
<b>Figura 7</b>	Principais causas da mastite bovina nas propriedades consideradas pelos produtores durante a realização do questionário.	41
<b>Figura 8</b>	Relação das perdas econômicas consideradas pelos produtores aos casos de mastite na propriedade.	42
<b>Figura 9</b>	Impactos negativos, consideradas pelos produtores, nos casos de Alta Contagem Bacteriana Total do leite na propriedade.	44
<b>Figura 10</b>	Porcentagem dos ordenhadores que realizam os processos de ordenha corretamente.	46
<b>Figura 11</b>	Porcentagem dos produtores que realizam corretamente as medidas que compõem o processo de tratamento da mastite clínica.	47
<b>Figura 12</b>	Fatores que são considerados pelos produtores como entraves para sucesso na atividade leiteira.	48
<b>Figura 13</b>	Tratamento de mastite causada por <i>Streptococcus agalactiae</i> identificado através de cultura bacteriana e os resultados do tratamento avaliados através da Contagem de Células Somáticas. Em vacas com uma única colona não foi avaliado o tratamento.	51

## ÍNDICE DE TABELAS

	<b>Pág</b>
<b>Tabela 1</b> Zonas de inibição dos antimicrobianos avaliados	<b>29</b>
<b>Tabela 2</b> Características de produção das propriedades	<b>31</b>
<b>Tabela 3</b> Dados produtivos e de Contagem de Células Somáticas de cada propriedade, no início do estudo	<b>32</b>
<b>Tabela 4</b> Amostras de CCS realizadas em cada propriedade no decorrer do estudo	<b>32</b>
<b>Tabela 5</b> Relação dos microrganismos isolados de vacas com CCS superior a 200 mil células/mL e respectiva porcentagem e a relação do número de propriedades em que o agente foi identificado	<b>38</b>
<b>Tabela 6</b> Medidas preventivas contra a mastite indicadas pelos produtores, agrupadas por produtores que realizam algum tipo de vacinação para mastite bovina disponíveis no mercado e produtores que não utilizam desta ferramenta relacionada com as medidas de higiene.	<b>43</b>
<b>Tabela 7</b> Número de produtos comerciais existentes no mercado para tratamento intramamário de mastite durante o período em lactação e as bases antimicrobianas utilizadas e suas associações.	<b>49</b>
<b>Tabela 8</b> Número de produtos comerciais existentes no mercado para tratamento intramamário de mastite durante o período seco e as bases antimicrobianas utilizadas e suas associações.	<b>50</b>

## LISTA DE ABREVIACÕES

µg	Micrograma
AMC	Ágar MacConkey
AMH	Agar Müeller Hinton
BHI	Infuso de Cérebro e Coração
C	Celsius
CBT	Contagem bacterina Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMT	<i>California Mastitis Test</i>
CNF	Carboidratos Não Fibrosos
DEL	Dias em Lactação
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECN	Estafilococos coagulase-negativos
EMB	Ágar Eosina Azul de Metileno
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ESALQ	Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz
HÁ	Hectare
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL-8	Interleucina-8
IMViC	Indol, Vermelho de Metila, Voges-Proskauer, Citrato
IN	Instrução Normativa
KOH	Hidróxido de Potássio
L	Litro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mL	Mililitro
mm	Milímetro
N.A	Não avaliado
Nº	Número
NMC	<i>National Mastitis Council</i>
NUL	Nitrogênio Ureico do Leite
PB	Proteína Bruta
PDR	Proteína Degradável no Rúmen
PNDR	Proteína Não Degradável no Rúmen
PNQL	Programa Nacional de Qualidade do Leite
RBQL	Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite
RS	Rio Grande do Sul
<i>S. agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>S. uberis</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
SARLE	Serviço de análise de rebanhos Leiteiros
SCN	<i>Staphylococcus coagulase-negativos</i>
SIF	Serviço de Inspeção Federal

TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral- alfa
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UI	Unidades Internacionais
UPF	Universidade de Passo Fundo
VM	Vermelho de Metila
VP	Voges-Proskauer

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Situação da Pecuária Leiteira no Brasil .....	3
2.2 A Pecuária leiteira no Rio Grande do Sul.....	4
2.3 Legislação da Qualidade do Leite.....	6
2.4 Qualidade do Leite.....	7
2.5 Manejo de Ordenha.....	8
2.6 Mastite Bovina.....	9
2.7 Mastite Clínica.....	9
2.8 Mastite Subclínica .....	11
2.9 Mastite em Novilhas .....	12
2.10 Programas de Controle da Mastite Bovina .....	12
2.11 Etiologia da Mastite .....	14
2.11.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
2.11.2 <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos .....	15
2.11.3 <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	15
2.11.4 <i>Streptococcus</i> ambientais .....	16
2.11.5 Enterobactérias.....	16
2.12 Tratamento de Mastite e Resistência Antimicrobiana .....	17
2.13 Gestão dos Recursos Humanos na Atividade Leiteira.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
3.1 Área de Estudo.....	22
3.2 Seleção das Propriedades.....	22
3.3 Período de Estudo .....	23
3.4 Aplicação do Questionário e Avaliação de Fatores de Risco nas Propriedades .....	23
3.4.1 Aspectos gerais de manejo da fazenda.....	23
3.4.2 Manejo de ordenha.....	23
3.4.3 Limpeza e higiene de equipamentos de ordenha .....	24
3.4.4 Aspectos Socioeconômicos.....	24
3.4.5 Conhecimentos a respeito da CCS e CBT .....	24
3.4.6 Prevenção e controle de mastite.....	24
3.4.7 Entendimento dos desafios da propriedade.....	25
3.5 Coleta de Amostras para Contagem de Células Somáticas .....	25
3.6 Coleta de Amostras para Cultura Microbiológica .....	26
3.7 Análise Bacteriológica.....	26

3.7.1 Isolamento primário .....	26
3.7.2 <i>Staphylococcus</i> spp. ....	26
3.7.3 Enterobactérias.....	27
3.7.4 <i>Streptococcus</i> spp.....	27
3.8 Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana - Difusão em Disco .....	27
3.9 Assessoria Técnica nas Propriedades .....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Características dos Rebanhos .....	29
4.2 Caracterização das Amostras de Leite pela CCS.....	30
4.2.1 Caracterização das propriedades .....	31
4.3 Cultura microbiológica .....	36
4.4 Perfil de Resistência Antimicrobiana .....	37
4.5 Conhecimentos dos Produtores sobre Qualidade do Leite e Mastite Bovina.....	39
4.6 Avaliação Programa dos 10 Pontos para o Controle da Mastite Bovina.....	42
4.7 Sucesso na Atividade Leiteira .....	46
4.8 Antibioticoterapia no Tratamento da Mastite Bovina .....	46
4.9 Estratégias de Tratamento de Mastite nas Propriedades.....	48
5. CONCLUSÕES .....	50
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51
7. ANEXOS .....	67

## 1 INTRODUÇÃO

O leite é um dos seis produtos mais importantes do setor agropecuário brasileiro. No âmbito econômico o leite representa 16% do valor bruto da produção agropecuária. A cadeia produtiva do leite envolve diretamente 3,6 milhões de pessoas, sendo responsável por 40% dos empregos gerados no meio agropecuário (EMBRAPA, 2016).

Além da importância socioeconômica, o leite apresenta elevado valor nutricional com uma composição rica em vitaminas, minerais, gorduras, proteínas e carboidratos, sendo considerado um alimento fundamental para a nutrição humana (SALVADOR, et al., 2012).

Neste contexto, deve haver não apenas incremento quantitativo, mas qualitativo da produção de modo a atender o consumidor, que busca cada vez mais por produtos de qualidade elevada, livre de patógenos e com garantia das características nutricionais. Por este motivo, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, iniciou a regulamentação da produção leiteira no ano de 2002 através da Instrução Normativa 51, ajustada pela Instrução Normativa 62 de 2011, e desde 3 de maio de 2016, está em vigor a Instrução Normativa N° 7.

A mastite é um dos principais desafios encontrados nos rebanhos leiteiros no mundo, por acarretar perdas econômicas aos produtores, relacionadas aos tratamentos, redução da produção e qualidade do leite e possível descarte de animais. No Canadá, somente no ano de 2013, 20% das vacas foram abatidas involuntariamente, devido a problemas com mastite clínica ou por alta Contagem de Células Somáticas (CCS) (MARTIN, et al., 2018). No Brasil, cerca de 49% dos rebanhos monitorados em 2012 apresentaram CCS de tanque acima de 400.000 células/mL, indicando uma alta prevalência de mastite (CASSOLI, 2012).

A CCS é o indicador pelo qual se avalia a incidência e prevalência de mastite nos rebanhos. O controle da mastite bovina nos rebanhos é uma ação multifatorial que necessita, para gerar resultados eficientes, além do incentivo financeiro, de mecanismos que modifiquem a atitude e o comportamento das pessoas relacionadas ao manejo preventivo. Esses mecanismos podem ser trabalhados através de programas de treinamentos, oficinas, campanhas de comunicação em massa e reforçar a pressão social, através de efetivas punições, penalizações econômicas para produtos fora do padrão, melhorando a percepção do produtor frente à importância da mastite. (CASSOLI, 2012; ESGUERRA, 2014).

Uma forma de incentivar os produtores a melhorar a qualidade do leite vendido aos laticínios foi a bonificação no pagamento pela qualidade, que inclui além dos parâmetros composicionais e microbiológicos. Essa ferramenta foi eficaz para a redução da CBT, porém não houve efeito para a CCS (ESGUERRA, 2014).

A produção leiteira no Brasil é heterogênea devido à diversidade socioeconômica, cultural e climática, que caracteriza a produção leiteira de cada região. Há grande diversidade nos sistemas de produção de leite nas diferentes propriedades, principalmente relacionadas à nutrição dos rebanhos e a qualidade do leite (SOUZA, et al., 2009). Portanto, estudos regionais para caracterizar a produção leiteira e suas particularidades em uma determinada região são necessários (JUNG, et al., 2017).

O mecanismo eficaz para o controle da mastite ocorre através da implementação de práticas adequadas no processo de manejo dos animais. Assim, as pessoas envolvidas no processo de ordenha desempenham fundamental importância para o controle e prevenção da mastite. No entanto, a implementação de processos distintos é um desafio, devido à mudança na rotina da propriedade, hábitos pessoais, sociais e econômicos (MACHADO, 2017).

O controle da mastite é entendido pela maioria dos produtores como apenas a utilização de antimicrobianos, utilizado na maioria das propriedades de forma indiscriminada,

possivelmente aumentando a resistência antimicrobiana. Conhecer o perfil epidemiológico envolvido na etiologia da mastite em cada propriedade permite melhorar o monitoramento da mastite, identificar a origem da doença e estabelecer estratégias de controle e tratamento adequados para cada grupo de microrganismos.

Portanto, este estudo busca caracterizar as fazendas leiteiras baseadas na saúde da glândula mamária, através de análises de CCS e cultura bacteriana, além de identificar o perfil de resistência aos antimicrobianos. Através de instrumentos diagnósticos, conhecer a realidade de cada propriedade sobre a atividade leiteira, avaliar as condições higiênico-sanitárias no processo de ordenha e avaliar a execução do programa dos 10 pontos de controle da mastite bovina.

Como subsídio para a realização do presente estudo foram desenvolvidas, durante a Iniciação Científica na graduação em Medicina Veterinária, diferentes atividades em projetos de pesquisa e extensão em propriedades leiteiras da região Sul-Fluminense, realizando levantamento de dados através de questionários, visitas técnicas e análises de leite.

Foram visitadas 11 propriedades leiteiras entre os anos de 2013 e 2014, com aplicação de questionários aos produtores, realização de testes para identificação da mastite (CMT e/ou CCS) e análise laboratorial de cultura microbiológica e antibiograma dos animais previamente identificados com mastite.

Após as análises laboratoriais e diagnóstico das propriedades, as fazendas receberam a assistência técnica para auxiliar na melhoria do manejo de controle e prevenção da mastite, através de estabelecimento de manejo adequado dos animais e protocolos de tratamento terapêuticos.

Após a graduação e o ingresso no PPGCTIA, foi visualizada a necessidade de conhecimento da realidade da qualidade do leite produzido no sul do País, devido diferenças culturais e a produção leiteira ser baseada na agricultura familiar, vislumbrando também maior possibilidade de inserção profissional na área e contribuição com os produtores regionais.

Diante desse cenário, o trabalho visa coletar informações da produção leiteira com a finalidade de entender o contexto regional sobre a mastite. Além disso, em caráter extensionista, assessorar na gestão da qualidade do leite nas propriedades parceiras do estudo, através de visitas técnicas e elaborar junto aos produtores, estratégias de prevenção e controle da mastite bovina.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Situação da Pecuária Leiteira no Brasil

No ano de 2017, a produção mundial de leite de vaca foi de 501 bilhões de litros. Considerando somente o volume de leite fiscalizado no país, o Brasil é o quinto maior produtor de leite, com produção de 23,55 bilhões de litros, representando 4,3% da produção mundial (USDA, 2017).

Segundo dados da produção pecuária dos municípios, elaborada pelo IBGE, a produção de leite em 2016 foi de 33,62 bilhões de litros. Apenas 23,17 bilhões de litros, correspondendo a 69% do leite produzido, apresentaram algum tipo de inspeção sanitária, estando aptos para comercialização dentro do mercado formal. Cerca de 10,45 bilhões de litros foram produzidos e comercializados no mercado informal, principalmente em pequenos municípios do país e através de produtos, como queijo, que são fabricados artesanalmente nas propriedades, sem nenhum tipo de controle e fiscalização sanitária (IBGE, 2016).

Em 2017, foram captados 24,12 bilhões de litros através de laticínios que possuem algum tipo de inspeção sanitária, seja federal, estadual ou municipal. O volume registrado neste ano foi 2,6% menor que em 2014, quando foram captados 24,75 bilhões de litros, porém 4,1% maior quando comparado ao ano de 2016 (IBGE, 2018).

A balança comercial de lácteos no ano de 2017 apresentou saldo negativo de 1,14 bilhões de litros equivalentes em leite. Entretanto, tal saldo foi 30,8% inferior quando comparado a 2016 que teve déficit de 1,64 bilhões de litros. A redução observada de 32% no volume de leite importado no ano de 2017 ocorreu devido ao aumento da produção nacional, baixa demanda pelos consumidores brasileiros, preços internos baixos e aumento em 16,6% no preço dos produtos lácteos importados. O principal produto lácteo importado foi o leite em pó, correspondendo a 60% do volume total importado no ano de 2017 com 103,4 mil toneladas. Os principais países que vendem produtos lácteos para o Brasil são a Argentina e Uruguai, representando 46,5% e 41,8% do volume anual, respectivamente. Já as exportações tiveram redução de 29,4% nesse mesmo ano, grande parte devido à queda em 81% dos embarques de leite em pó para a Venezuela, uma vez que este já foi o principal comprador de lácteos do Brasil. A variação do câmbio com a valorização do real frente ao dólar também influenciou negativamente as exportações. O principal produto vendido foi o leite condensado e os principais destinos foram: Arábia Saudita, com 10,9% do volume total, Estados Unidos, 8,7% e Venezuela, representado 8,2% do volume total de exportação. As perspectivas para o setor lácteo em relação à exportação estão baseadas em abertura de novos mercados na América Latina, África e Sudeste Asiático (RIBEIRO, et al., 2018).

A captação de leite no Brasil ocorre principalmente por grandes laticínios, que possuem Serviço de Inspeção Federal (SIF), representado 92% de todo leite captado. Dos 2016 laticínios com inspeção no Brasil, apenas 270 (13,4%) apresentam captação superior a 50 mil litros de leite/dia, no entanto, são responsáveis por 83,6% do volume de leite captado no ano (IBGE, 2018).

A produção de leite no Brasil apresenta sazonalidade, devido ao frio e falta de chuva no inverno. Em geral, o segundo trimestre de cada ano apresenta a menor quantidade de leite captado pelos laticínios, enquanto o quarto trimestre apresenta a maior. Conseqüentemente, os preços pagos aos produtores seguem a lei da oferta e da procura. O período de maior remuneração está concentrado no segundo trimestre. Já no terceiro trimestre ocorre a redução dos preços pagos aos produtores. O quarto trimestre é marcado pelos baixos preços praticados na aquisição do leite dos produtores pelos laticínios (RIBEIRO, et al., 2018).

## 2.2 A Pecuária leiteira no Rio Grande do Sul

O leite é produzido no Rio Grande do Sul desde a ocupação do território, no entanto, só se tornou uma atividade importante após a imigração, principalmente de alemães e italianos, a partir de 1872. Entre os anos de 1872 e 1890 a população gaúcha dobrou, passando de 447.000 para 897.000 habitantes (PASCOAL, et al., 2011). A imigração ocorreu principalmente nas regiões antes desabitadas ao norte do Estado, e consolidou a agricultura, tornando-o autossuficiente na produção de alimentos como o arroz, feijão, milho, e incluindo produtos lácteos como o queijo e manteiga. Com o aumento populacional surgiram vilas e o início das indústrias, e o leite começou a ganhar importância econômica, com sinais de organização da atividade a partir do ano de 1936, em pequenas propriedades no noroeste do Estado (FONSECA, 1980; MEDEIROS, et al., 2015).

O fim da política de preços tabelados na década de 1990 e a abertura comercial do leite permitiu o ingresso de muitas empresas do setor no País. Essa mudança acarretou maior competitividade no setor, forçando tanto produtores quanto as indústrias lácteas a se especializarem para competir com as recém-chegadas multinacionais (MARION FILHO, et al., 2011; ZILLI, et al., 2015).

A produção de leite no País aumentou 307%, de 8,2 bilhões para 33,6 bilhões de litros/ano, entre os anos de 1976 e 2016. Enquanto isso, no mesmo período, o Rio Grande do Sul apresentou aumento de 475%, com produção de 802 milhões para 4,6 bilhões de litros/ano (IBGE, 2016).

O Noroeste Gaúcho é a principal região produtora de leite no Estado, responsável por 58,2% da produção. Os fatores que motivam a grande concentração nesta região são: solo fértil, pastagem, disponibilidade de água, grande concentração de produtores familiares com consequente disponibilidade de mão de obra familiar, clima temperado e rodovias em bom estado. Este cenário motivou a instalação das grandes indústrias lácteas na região, fortaleceu o setor e motivou o crescimento da produção estadual, liderado pela região noroeste (GOMES, 2008; PASCOAL, et al., 2011; FRIZZO, 2011).

As indústrias incentivaram os produtores a aumentar a produtividade/vaca e escala de produção, com a finalidade de reduzir os custos de produção. Os laticínios influenciaram na compra de ordenhadeira mecânica e resfriadores de expansão, para atingir melhores resultados em produtividade e qualidade do leite. No entanto, este processo levou a exclusão de pequenos produtores que não apresentavam produção mínima para viabilizar os investimentos necessários (BREITENCACH, 2008; MARION FILHO, et al., 2015).

O aumento de produtividade alcançado atesta que os produtores do Estado estão se especializando na atividade. Em 1990, apenas 3,32% dos municípios gaúchos apresentavam média de produtividade acima de 2000 litros/vaca/ano. Já em 2010, 51,72% dos municípios apresentavam média de produtividade acima de 2000 litros. Estes resultados demonstram que os produtores estão mais empenhados na atividade do leite, com rebanhos de melhor padrão genético, melhor manejo e correta alimentação do rebanho leiteiro, quando comparado à década de 1990 (MARION FILHO, et al., 2016). No ano de 2017, o Rio Grande do Sul foi o segundo maior estado em captação de leite no ano de 2017, participando com 14,8% do total captado no Brasil, ficando atrás somente de Minas Gerais que captou 24,8% (IBGE, 2018).

Nesse ano, a produção de leite foi realizada em 173.706 propriedades, no entanto somente em 65.202 propriedades o leite era utilizado para algum tipo de comércio, como venda para agroindústrias, cooperativas ou laticínios, considerados, portanto, como produtores de leite. A produção de leite no Rio Grande do Sul é realizada predominantemente em pequenas propriedades, com média de 19,1 há/ propriedade (EMATER-RS, 2017), e a produção média foi 173 litros/dia/propriedade. Em 24.632 (37,8%) propriedades, a produção de leite foi inferior a 100 litros/dia. Em 28.739 (44,1%) propriedades leiteiras, a produção foi

entre 101 e 300 litros/dia. 11.831 (18,1%) propriedades apresentam produção em escala maior de 500 litros diários. Apenas 1.188 propriedades, correspondentes a 1,8% dos produtores do Estado, apresentam escala de produção diária acima de 1.000 litros. Com esses dados é possível afirmar que um dos entraves da pecuária leiteira no estado é a baixa escala de produção, dificultando a inserção favorável da maioria dos produtores no mercado lácteo (EMATER-RS, 2017).

Outro fator que preocupa o setor leiteiro é a existência de 11.339 produtores que comercializam leites crus ou derivados lácteos produzidos de forma caseira, sem qualquer fiscalização sanitária. Esse grupo de produtores representa 14,8% dos produtores do Estado, não havendo qualquer controle sobre a qualidade dos produtos que são comercializados, como controle de resíduos químicos ou anormalidades decorrentes do processamento do leite, tornando este produto um risco direto à saúde dos consumidores (EMATER-RS, 2017).

O rebanho de vacas em produção de leite para fins comerciais no ano de 2017 foi estimado em 1.309.259 animais. A média foi de 16,47 vacas/produtor que vendem o leite formal. Já os produtores que comercializaram de forma informal, apresentaram média de 5,5 vacas/produtor (EMATER-RS, 2017).

A produtividade média de leite no Brasil foi de 1709 litros/vaca/ano em 2016, apresentando crescimento de 4,2% em relação a 2015. A região sul apresentou os maiores índices de produtividade, com destaque para o Rio Grande do Sul com média de 3.157 litros/vaca/ano, índice de 84,72% a mais que a média nacional (IBGE, 2016). Já em 2017, a produtividade foi de 3.844 litros/vaca/ano (EMATER-RS, 2017).

A produção exclusivamente a pasto é o principal sistema de produção de leite no Estado, englobando cerca 95,6% das propriedades. O sistema de semi-confinamento, onde os animais recebem complementação de dieta no cocho e tem acesso à pastagem em algum momento do dia, engloba 3,3% das propriedades. Já o sistema de confinamento está restrito a somente 696 propriedades gaúchas, correspondendo a 1,1% das propriedades leiteiras (EMATER-RS, 2017).

Em relação à ordenha, 43.136 propriedades apresentam um local adequado para realizar a mesma de forma higiênica, mas apenas 24.089 propriedades apresentam sala de ordenha com fosso ou rampa para facilitar o trabalho do ordenhador. A maioria dos produtores, em torno de 51.600, ainda dispõe da ordenhadeira do tipo balde ao pé, e destes, apenas 16.335 apresentam transferidor de leite. A ordenha canalizada está presente em 11.124 propriedades (17,1%), porém o Estado ainda possui 2.478 propriedades (3,8%) que realizam a ordenha de forma manual (EMATER-RS, 2017).

O sistema de resfriamento representa grande avanço na produção de leite com baixa contagem bacteriana, o que tem sido incentivado ou exigido pelos laticínios. Neste sentido, 57.067 propriedade (87,5%) apresentam resfriadores de expansão direta, que apresenta melhor funcionamento, quando comparado aos sistemas anteriores utilizados para esta finalidade (EMATER-RS, 2017).

Por outro lado, a higienização dos equipamentos de ordenha e resfriador é ineficiente em 49,1% das propriedades, uma vez que em somente 33.179 apresentam água aquecida para realizar os procedimentos de limpeza, e a água quente é fundamental para correta higienização dos equipamentos com uso dos detergentes comerciais disponíveis aos produtores (EMATER-RS, 2017).

Em relação à aquisição de leite no Estado, há 57 postos de resfriamento com inspeção sanitária e 225 indústrias para o processamento do leite. Destas, 153 apresentam inspeção municipal, 37 estadual e 35 federal. O Rio Grande do Sul apresenta capacidade de industrialização de 18.713.833 litros de leite/dia, no entanto, a produção diária média comercializada está em 11.309.937 litros. Ou seja, a indústria apresenta ociosidade de 39,6% (EMATER-RS, 2017).

Em entrevista, produtores do noroeste do Estado relataram dificuldades em realizar medidas de controle da mastite na rotina das propriedades. Apenas 34,29% dos produtores realizavam pré-dipping e 62,86% utilizavam o pós-dipping. No processo de secagem, 71,43% dos produtores realizam a secagem em momento adequado e realizam tratamento com antimicrobiano intramamário para vacas no período seco no momento da secagem. Além disso, apenas 31,43% dos produtores realizam linha de ordenha para evitar a transmissão de mastite contagiosa (PORTELLA, et al., 2014).

A ordenhadeira, principal equipamento da fazenda leiteira, recebe manutenção adequada, com avaliação e regulagem do funcionamento e vácuo em apenas 40% das propriedades. Além disso, as teteiras tem período de validade específico e devem ser trocadas periodicamente, no entanto, em 11,43% das propriedades essa prática não é realizada (PORTELLA, et al., 2014).

De acordo com os produtores, a deficiência de mão de obra das propriedades (44,4%), a insatisfação com o valor recebido da indústria (42,2%) e a ausência de descendentes ou desinteresse na atividade (38,5%) são as principais dificuldades enfrentadas na cadeia produtiva do leite. Outros problemas significativos apresentados pelos produtores foram: baixa escala de produção (28%), deficiência na qualidade do leite (25,9%) e dificuldades em atender as exigências impostas pela indústria (21%) (EMATER-RS, 2017).

### **2.3 Legislação da Qualidade do Leite**

Em 1998, foi criado um grupo de trabalho, através da portaria nº 166 de 5 de maio de 1998, composto pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), secretarias governamentais ligadas ao setor, juntamente com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), para avaliar o setor leiteiro e propor medidas para tornar a produção leiteira uma atividade competitiva (MILINSKI, et al., 2010).

Para atingir os objetivos foi criado o Programa Nacional de Qualidade do Leite (PNQL) pelo MAPA. Dentre as atividades, foi criada a Instrução Normativa nº 51 (IN 51), publicada em 18 de setembro de 2002 (BRASIL, 2002). A IN 51 foi o maior avanço que o setor leiteiro recebeu, estabelecendo parâmetros legais para produção, identidade e a adoção de novos critérios mínimos de qualidade do leite, incluindo contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), controle de resíduos, teor mínimo de proteína e gordura, e controle da temperatura após ordenha (DÜRR, 2004).

Para os produtores estarem de acordo com a legislação, era necessário ter maior atenção na produção leiteira no quesito de qualidade, principalmente com a redução da CCS, CBT e atender a temperatura máxima tolerada para manter o leite resfriado. Os limites estabelecidos para CCS e CBT não foram atingidos pela maior parte dos produtores dentro dos prazos estipulados na IN 51, resultando em sua revisão e publicação da IN 62 em 29 de dezembro de 2011 (CALLEFE, et al., 2015).

A IN-62 teve como objetivo avançar na melhoria da qualidade do leite, com mudança na identificação dos leites comercializados, regulamentação da produção, e principalmente na qualidade da matéria prima, coleta e transporte. Além disso, foram determinados novos parâmetros para CCS e CBT estipulando prazos escalonados para as regiões do país. Até o ano de 2016, estava vigente a contagem de 500.000 células/mL de leite e 300.000 UFC/ mL de leite (BRASIL, 2011).

Em 3 de maio de 2016 foi publicada a Instrução Normativa Nº 7, que alterou novamente os prazos para cumprimento da legislação e os limites de CBT e CCS determinados pela IN-62. Os índices máximos de 100 mil UFC/ml (CBT) e 400 mil células/mL (CCS) entraram em vigor a partir de 01 de julho de 2018, nas regiões Sul, Sudeste

e Centro-Oeste. Nas regiões Norte e Nordeste os mesmos limites entrarão em vigor a partir de 01 de julho de 2019 (BRASIL, 2016).

No dia 26 de novembro de 2018, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento publicou a Instrução Normativa N° 76, que entrará em vigor 180 dias após sua publicação. A IN 76 alterou a temperatura de recebimento de leite na plataforma que reduziu de 10°C para 7°. Quanto à qualidade microbiológica, a CBT máxima ficou estabelecida em 300.000 ufc/mL e a CCS em, no máximo, 500.000 células/mL.

## 2.4 Qualidade do Leite

A qualidade do leite pode ser avaliada em relação à composição nutricional, sanitária e higiene do processo de ordenha. Em relação a infecções intramamárias, a CCS é utilizada em âmbito mundial nos principais países de produção leiteira (COSTA, et al., 2017).

O Brasil inseriu limites de CCS próximo aos índices da União Europeia, Nova Zelândia, Austrália e Canadá que preconizam como limite máximo legal 400.000 células somáticas/mL, enquanto os Estados Unidos apresentam limite máximo de 750.000 cél./mL (USDA, 2016). Produzir leite de qualidade está relacionado com a necessidade do cumprimento legal das Instruções Normativas IN-62 e IN-07 que apresentam os requisitos mínimos que o leite deve apresentar para atender as exigências impostas pelos laticínios, e pelos consumidores (MARTIN, 2011).

O leite de qualidade deve apresentar, como características sensoriais, ausência de neutralizantes de acidez e reconstituintes de densidade. Além disso, deve atender as exigências físico-químicas, microbiológicas, de CCS e resíduos químicos (BRASIL, 2011; BRASIL, 2016). A produção de leite com qualidade no Brasil ainda é muito frágil, explicado pela revogação da IN-51 e publicação da IN-62, onde o principal objetivo foi à alteração dos prazos para os produtores se adequarem frente à CCS e CBT a partir de 2016 e novamente alterado pela IN-07, com a mesma finalidade.

Para que o leite e seus derivados cheguem com qualidade aos consumidores, é necessário colocar o produtor de leite como peça fundamental, pois os processos de beneficiamento do leite não melhoram a qualidade do leite *in natura*, estes somente conservam a qualidade inicial da matéria prima durante o processamento (BRASIL, 2011; WANDERLEY, et al., 2015; BRASIL, 2016).

Dados publicados pela Clínica do Leite (ESALQ/Piracicaba), comparando a qualidade do leite de produtores que participam de um programa de pagamento por qualidade e outros que não participam, mostraram redução significativa na CBT quando há pagamento por qualidade. Ao analisar a CCS, 55% dos produtores que não recebem por qualidade e 49% dos produtores que recebem por qualidade estariam fora dos padrões da IN-62. Além disso, não houve melhoria nos índices de CCS entre os cinco anos de análises, compreendido pelos anos de 2008 a 2012, para ambos os grupos de produtores avaliados. Isso demonstra que o pagamento por qualidade não é o único fator para a melhoria nos índices de qualidade do leite (CASSOLI, 2012; ESGUERRA, et al., 2018).

O aumento da CCS em animais de produção de leite está relacionado diretamente com redução no volume e da qualidade do leite, ocasionando redução na qualidade e rendimento industrial dos derivados lácteos fabricados (VIDAL-MARTINS, et al., 2013; COELHO, et al., 2014). A presença de alta CCS afeta a composição do leite e o tempo de vida de prateleira dos derivados, causando prejuízos significativos para a indústria (RADOSTITS, et al., 2007; AKERSTEDT, et al., 2012; KULKAMI, et al., 2013; MURPHY, et al., 2016).

Os fatores como idade da vaca, estágio de lactação, estação do ano podem influenciar os índices de CCS, no entanto os valores não devem ultrapassar 200.000 células/mL. Portanto, CCS acima de 200.000 células/mL é indicativo de inflamação em pelo menos um

quarto mamário (DOHOO, et al., 1991; AKERS, et al., 2011; DUFOUR, et al., 2013; RUEGG, et al., 2013). Desta forma, a CCS é o índice que melhor avalia a qualidade do leite, determinando prejuízos aos produtores e a indústria processadora, além de impor restrições à comercialização do produto e derivados no mercado internacional (ARCURI, et al., 2006; VIDAL-MARTINS, et al., 2013; USDA, 2016), uma vez que é a medida padrão validada internacionalmente para determinar a qualidade do leite (LANGONI, et al., 2011; RUEGG, et al., 2013).

## **2.5 Manejo de Ordenha**

A ordenha é considerada um dos processos mais importantes para obtenção de leite de qualidade, sendo necessário o comprometimento do produtor e dos ordenhadores para realizar a mesma de forma rápida, eficiente e adotando medidas que evitem danos à saúde animal e contaminação do produto (LANGONI, 2013).

Existe correlação direta entre quantidade de microrganismos na pele dos tetos e a taxa de novas infecções intramamárias. Assim, adotar correto manejo de higiene do úbere, com eliminação dos primeiros jatos, pré-dipping, secagem dos tetos e pós-dipping, é fundamental para reduzir a carga microbiana e evitar novos casos de mastite, principalmente nas diferentes estações do ano, que podem apresentar situações desafiadoras para o controle desta afecção (ZUCALI, et al., 2011; MANZI, et al., 2012).

As fazendas leiteiras devem assegurar que o leite ordenhado foi originado de animais saudáveis, livre de contaminantes (resíduos de medicamentos, desinfetantes) e dentro dos parâmetros socioambientais. Para isso, são necessárias boas práticas de produção que incluem: propiciar saúde aos animais; ter higiene na ordenha; promover a adequada alimentação aos animais; promover atividades para favorecer o bem-estar animal e produzir de forma sustentável, com o mínimo de agressão ao ambiente (FAO, 2004; LANGE, et al., 2017; BRASIL, 2011).

É fundamental durante a ordenha o deslocamento dos animais de forma tranquila, sem agressões, evitando estressar os mesmos. Já na sala de ordenha, é necessário realizar a correta preparação do úbere das vacas. Nessa etapa é necessário que todas as vacas sejam ordenhadas com os tetos limpos e secos. Assim, é necessária a utilização de uma solução desinfetante (pré-dipping) e secagem dos tetos com papel toalha descartável. Além disso, é recomendado a eliminação dos 3 primeiros jatos de leite para realizar o teste da caneca de fundo preto para identificar a mastite clínica (SANTOS, 2007; LANGONI, 2013).

Após a correta preparação dos úberes, são colocadas as teteiras para a ordenha. Uma correta rotina de ordenha reduz consideravelmente o risco de mastite e a contaminação do leite. Assim, deve-se evitar a entrada excessiva de ar nas teteiras no momento de acoplar o conjunto, evitar a sobre-ordenha com ordenhas muito lentas e/ou prolongadas, e retirar as teteiras ao final da ordenha com cuidado (GONÇALVES, et al., 2017; SANTOS, 2007).

A ordenha das vacas deve ser realizada com rotina consistente e ser ágil. Em trabalho na Nova Zelândia com vacas cruzadas, no pico de lactação, demonstrou em ordenhas com extratores automáticos que é possível acelerar o processo, sem afetar a quantidade e a qualidade do leite ordenhado (EDWARDS, et al., 2013).

Após a retirada do conjunto de ordenha é necessária a imediata desinfecção dos tetos (pós-dipping) para reduzir infecções, cobrindo todo o teto que esteve em contato com a teteira, evitando assim, a ocorrência de novas infecções por microrganismos contagiosos (LANGONI, 2013; GONÇALVES, et al., 2017)

O equipamento de ordenha entra em contato direto com o teto de vacas, por essa razão é necessário que apresente boas condições de manutenção, correta instalação e uso adequado.

Além disso, é fundamental a correta limpeza e higienização com detergentes para este fim, com tempo e temperatura adequadas (MEIN, 2012; CARVALHO, et al., 2013).

Valores elevados na CBT estão relacionados com falhas no pré-dipping, ausência do teste da caneca de fundo preto e secagem dos tetos, ou seja, a CBT reflete a higiene durante a ordenha nas propriedades (SANTOS, 2012; LANGONI, 2013; CALLEFE, et al., 2015).

Além desses procedimentos, são necessários os cuidados de higiene no ambiente das vacas, na sala de ordenha, dos equipamentos e também do ordenhador. Após a ordenha, deve-se armazenar o leite em resfriador previamente higienizado a uma temperatura inferior a 4 °C em até 3 horas após a ordenha (SANTOS, 2007; BRASIL, 2011; LANGONI, 2013).

## **2.6 Mastite Bovina**

A palavra mastite se origina do grego "mastos", glândula mamária, e do sufixo "ite", inflamação, e significa processo inflamatório da glândula mamária. O termo mamite tem origem do latim "mamae" (glândula mamária) e mantém o mesmo significado. Portanto ambas as terminologias podem ser usadas para designar a inflamação da glândula mamária (PINHEIRO, et al., 2016).

A mastite bovina é uma inflamação nas glândulas mamárias, causada por alterações fisiológicas e/ou metabólicas, traumas e alergias e, frequentemente pela infecção de agentes microbiológicos, principalmente bactérias (NAWROTEK, et al., 2011). É considerada predominantemente uma doença infecciosa, sendo a afecção de maior prevalência em vacas leiteiras, acarretando enormes prejuízos para as fazendas e para a indústria (IDF, 2011; RUEGG, et al., 2013).

A infecção intramamária deve ser confirmada corretamente através da identificação microbiológica, no entanto, ela comumente é diagnosticada indiretamente pela CCS superior a 200 células/mL de leite (DOHOO, et al., 2011).

A medida que os microrganismos conseguem ultrapassar as barreiras físicas dos tetos e se multiplicam no interior do úbere, metabólitos deste crescimento ativam a resposta imune no hospedeiro, sendo as células somáticas as que desempenham importante papel na resposta imune frente aos diversos agentes microbianos, com o intuito de neutralizar as toxinas e proteger o tecido secretor da glândula mamária (FAGUNDES, et al., 2012; GOLI, et al., 2012; BEZMAN, et al., 2015).

Os leucócitos são as principais células do mecanismo de monitoramento, sendo que no leite de glândulas mamárias sadias são encontrados aproximadamente 60% de macrófagos, 15% de neutrófilos e 25% de linfócitos. Na presença de infecção, os macrófagos liberam IL-8 e TNF- $\alpha$ , que resulta no recrutamento de neutrófilos do sangue para o leite. Para ocorrer a migração dos neutrófilos é necessário o aumento da permeabilidade das células epiteliais que podem representar cerca de 90% das células somáticas. As outras células presentes no leite, como macrófagos, linfócitos e células epiteliais de descamação permanecem inalterados (JIA-ZHONG, et al., 2010; BHUTTO, et al., 2012).

Após a infecção intramamária, ocorrerá a resposta inflamatória podendo ser na forma clínica ou subclínica em que ambas as apresentações devem apresentar métodos de diagnósticos e monitoramento válidos, dentro do protocolo de controle da mastite na fazenda (RUEGG, et al., 2013).

## **2.7 Mastite Clínica**

A mastite clínica é a forma mais facilmente detectada nas fazendas. A análise ocorre através do teste Tamis que consiste em avaliar as características do leite dos três primeiros jatos, coletados antes da inserção das teteiras, em uma caneca telada de fundo escuro (RADOSTITS, et al., 2007; LANGONI, 2013; MOTTA, 2015). Na mastite clínica, o leite

poderá ser aguado ou mais viscoso que o normal, com presença de pus, sangue, coágulos ou grumos. Em casos mais graves, também pode se verificar alterações no úbere com sinais de inflamação, como rubor, edema e endurecimento do úbere. Em casos severos, pode ter sinais sistêmicos como febre, desidratação, fraqueza e inapetência (ROYSTER, et al., 2015).

A mastite clínica pode ser classificada conforme os sinais clínicos apresentados em nível de quartos mamários e sistêmicos. Os casos de mastite clínica são classificados em subaguda, aguda, hiperaguda e crônica (BRASIL, 2012; PINHEIRO, et al., 2016).

A evolução subaguda apresenta sinais de leve inflamação e vermelhidão, com pouca sensibilidade e aumento de temperatura. Já o leite pode apresentar pequenos coágulos, grumos ou estar aquoso, além de uma possível redução da produção de leite. Já os sinais sistêmicos não são alterados (PHYLPOT, et al., 2002; BRASIL, 2012; CALLEFE, et al., 2015)

A forma aguda apresenta inflamação, vermelhidão e endurecimento do quarto mamário afetado. O quarto mamário fica sensível, o leite é purulento, leite com aparência de soro, aquoso ou com presença de sangue. A redução da produção de leite pode ser grande e súbita. Além disso, há alteração dos sinais sistêmicos como aumento da temperatura retal, inapetência, prostração, redução na ruminação, desidratação e depressão (BRASIL, 2012).

A forma hiperaguda é mais rara de ocorrer, no entanto, o desenvolvimento é muito rápido, com os sinais mamários e sistêmicos iguais aos da forma aguda, além de choque, fibrose do úbere, septicemia e extremidades frias (BRASIL, 2012).

A evolução crônica é resultante da ausência de cura dos casos clínicos ou evolução de uma infecção subclínica negligenciada. Nos sinais mamários observa-se desenvolvimento de tecido conjuntivo fibroso e deformação na aparência do quarto afetado. O leite apresenta grumos de forma intermitente e redução da produção do leite, não ocorrendo alteração sistêmica (BRASIL, 2012).

A classificação da mastite clínica é embasada na gravidade do quadro em leve, moderada e grave, também podendo ser classificada em grau 1, 2 e 3, respectivamente. Nos casos leves a mastite apresenta somente alteração visual do leite, sem apresentar alterações no úbere ou sinais sistêmicos. Cerca de 60 a 90% dos casos clínicos são leves (ROBERSON, 2012). Nos casos moderados há alteração no leite, como descrito nos casos leves, acrescentando sinais alterados do úbere, como inchaço e vermelhidão. Cerca de 10 a 30% dos casos de mastite clínica são moderados (LAGO, et al., 2010; ROBERSON, 2012). Já mastite clínica é classificada como grave quando apresenta alteração do leite, o úbere inchado na maioria dos casos e ou mais sintomas sistêmicos, como desidratação, redução da ruminação, aumento da temperatura retal, taquicardia, taquipnéia, apatia, inapetência, prostração. Nos casos graves é recomendado o tratamento imediato da mastite e coleta de material para cultura microbiológica (ROBERSON, 2012).

A mastite clínica é uma das doenças mais frequentes em rebanhos leiteiros em todo o mundo, com incidência média entre 13 e 40% das vacas em lactação/ano em diferentes países (JAMALI, et al., 2018).

Os prejuízos causados pela mastite clínica estão relacionados com perdas de leite, perda na qualidade do produto, custos com tratamentos e perda precoce de animais (CHA, et al., 2013; JAMALI, et al., 2018). É a doença com maior utilização de antimicrobianos na produção leiteira, sendo na maioria dos casos sem controle, aumentando o impacto sobre a emergência de resistência antimicrobiana (SAINI, et al., 2012).

A mastite clínica é causada principalmente por bactérias, e os perfis etiológicos das bactérias causadoras de mastite podem ter grande variação de acordo com o manejo das vacas e do ambiente. Um estudo realizado em Wisconsin, EUA em 2014, avaliou 747 casos de mastite clínica, onde os agentes patogênicos isolados com maior frequência foram *Escherichia coli* em 22,6% (168/745), *Streptococcus* ambientais em 12,7% (95/745) e *Klebsiella* spp. em 9% (67/745) (OLIVEIRA, et al., 2014). Outro estudo sobre identificação

microbiológica de mastite clínica realizado nos EUA avaliou 165 casos, e *Escherichia coli* foi observada em 51% (84/165) das amostras e *Streptococcus* ambientais em 8% (13/165) (ROBERSON, 2008).

No Brasil, recentemente, dois estudos avaliaram a etiologia da mastite clínica. O primeiro estudo avaliou amostras de 18 rebanhos leiteiros da região Sudeste, durante 5 anos, identificando um total de 2.905 casos de mastite clínica. Destas amostras, 41% (1.191/2.905) não apresentaram crescimento bacteriano, 19% (552/2.905) identificadas no grupo de coliformes, 12% (349/2.905) de estreptococos ambientais, 9% (265/2.905) de estafilococos coagulase-negativos (ECN), 4% (116/2.905) de *Streptococcus agalactiae* e 15% (436/2905) de outros agentes bacterianos (OLIVEIRA, et al., 2015). O segundo estudo avaliou 1.292 casos de mastite clínica. Não houve crescimento bacteriano em 53% (685/1.292) das amostras e os microrganismos prevalentes foram os *Streptococcus* ambientais 12,4% (160/1.292), *Streptococcus agalactiae* 10.5% (136/1/292), *Staphylococcus* coagulase-negativos 6.0% (78/1.292) e *Escherichia coli* 4.2% (54/1.292) (TOMAZZI, et al., 2015).

## 2.8 Mastite Subclínica

A identificação de vacas com mastite subclínica apresenta maior dificuldade devido à ausência de sinais clínicos, necessitando de análises do leite para avaliar animais mastíticos. A maioria dos testes disponíveis é embasada em métodos indiretos, onde mensuram a resposta das células somáticas relacionadas à resposta inflamatória na glândula mamária. Os mais comuns na rotina das fazendas são o *California Mastitis Test* (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) (RODRIGUES, 2008; LANGONI, 2013; GUARÍN, et al., 2017).

A CCS individual de vacas leiteiras é um teste de baixo investimento que apresenta resultados precisos para o monitoramento da mastite subclínica (LANGONI, 2013; GUARÍN, et al., 2017).

No Brasil, existem estudos que demonstram a prevalência de mastite em diversas regiões: Em 44 rebanhos de Minas Gerais a prevalência foi de 55,4% (CUNHA, et al., 2015); no Rio Grande do Sul, em 16 rebanhos a prevalência foi de 53% (ZIECH, et al., 2013).

Em um amplo estudo recente realizado por Busanello et. al. (2017) entre os anos de 2011 e 2015 em 517 rebanhos leiteiros, foi verificado a prevalência de 46,4% de mastite subclínica, (CCS > 200.000 células/mL). A incidência de mastite foi de 18% para intervalos médios de 30,5 dias. Este trabalho realizado com rebanhos no Brasil demonstra que praticamente metade dos rebanhos apresenta infecção intramamária e a incidência está acima dos níveis aceitáveis para obter leite de qualidade (BUSANELLO, et al., 2017). Os índices máximos recomendados para países desenvolvidos são de 15% de prevalência e 8% de incidência (RUEGG, et al., 2013).

Na mastite subclínica não há alterações visíveis nas características do leite ou do úbere, no entanto, é de grande importância epidemiológica por ser transmitida de forma silenciosa pelo rebanho. Além disso, a mastite subclínica pode se tornar crônica, mesmo permanecendo indefinidamente em uma fase subclínica, e periodicamente alterna entre a forma clínica e subclínica (BRASIL, 2012).

Assim como a mastite clínica, a subclínica também é uma das principais doenças que acometem vacas leiteiras, causando prejuízos significativos nas fazendas leiteiras, principalmente pela redução na produção de leite nas vacas afetadas (ZAFALON, 2007; GONÇALVES, et al., 2018). Além disso, fatores relacionados à qualidade do leite são afetados, como a composição química do leite e aumento da CCS (DIAS, 2007). Portanto, a mastite subclínica, possivelmente gera maior prejuízo econômico nas propriedades quando comparado com a mastite clínica, por não ser diagnosticada previamente e tomadas as devidas providências para o seu controle (MARTINS, et al., 2010).

Para a identificação, o teste mais conhecido para diagnóstico de mastite subclínica a campo é o *California Mastitis Test* (CMT) e atualmente, a CCS é um método que está sendo amplamente utilizado, por ser um teste quantitativo para avaliar a qualidade do leite e a presença de mastite subclínica, com maior precisão. No entanto é necessário enviar as amostras para laboratórios especializados (GONÇALVES, et al., 2016).

O limite máximo da CCS para considerar um animal com glândula mamária saudável é 200.000 células/mL, sendo que valores maiores, já indicam que o animal apresenta infecção intramamária em pelo menos um quarto mamário (BORNE, et al., 2011; LANGONI, 2013; RUEGG, et al., 2013; RUEGG, 2017)

## 2.9 Mastite em Novilhas

Além das vacas em lactação, a mastite pode estar presente em novilhas nas primeiras semanas pós-parto, afetando a saúde, bem estar e comprometendo o desempenho produtivo (NAQVI, et al., 2018). Novilhas podem apresentar mastite, clínica ou subclínica, meses antes do parto. No entanto, como não são ordenhadas, seus úberes e tetos não são inspecionados, o que acarreta uma elevada incidência de novilhas parindo com infecção intramamária (VLIEGHER, et al., 2012).

O monitoramento da mastite bovina em novilhas está abaixo do desejado. Geralmente as fazendas não realizam nenhuma forma de profilaxia, não avaliam a incidência de mastite no pós-parto desses animais e tampouco determinam os patógenos relacionados com as infecções intramamárias desta categoria (NAQVI, et al., 2018).

É estimado que ao menos 15% das primíparas iniciam a lactação com mastite, o que pode ser aferido pela primeira análise de CCS que deve ser realizado entre 10 e 35 dias pós-parto. É provável que primíparas com CCS no primeiro teste superior a 150 mil cél/mL apresentem mastite subclínica, necessitando de uma investigação para diagnosticar possíveis casos de infecções intramamárias (NMC, 2014).

Em recente estudo, a combinação do uso de selantes, vacinas e antimicrobianos, foram eficazes para a redução das infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus coagulase-negativos* e para a redução da CCS, quando comparado ao grupo que não recebeu nenhum tratamento nos meses antes do parto (NAQVI, et al., 2018).

## 2.10 Programas de Controle da Mastite Bovina

Os primeiros estudos que serviram como base para as principais medidas de controle contra mastite causada por *Staphylococcus aureus* foram publicados nos anos de 1960 no Reino Unido. Nesses estudos foram estabelecidos padrões para o controle da mastite contagiosa em rebanhos leiteiros (DAVIDSON, 1961; WILSON, et al., 1961; NEAVE, et al., 1969; NEAVE, et al., 1966; DODD, et al., 1969).

Com base nestes trabalhos, foi criado o programa de 5 pontos para o controle da mastite, recomendado pelo *National Mastitis Council* (NMC) por muitos anos com resultados satisfatórios. A implementação desse programa foi eficiente na redução da prevalência de mastite causada por *Staphylococcus aureus* em rebanhos leiteiros (NMC, 2006).

O Programa dos 5 Pontos abrange fatores relacionados ao controle dos agentes contagiosos causadores de mastite, principalmente *Staphylococcus aureus*. As práticas que foram consideradas fundamentais são as seguintes: 1) utilização correta de equipamentos de ordenha e em bom funcionamento; 2) adequado manejo da ordenha com ênfase na desinfecção dos tetos pós-ordenha (pós-dipping); 3) tratamento imediato de todos os casos de mastite clínica; 4) terapia antimicrobiana em todas as vacas secas e, 5) descarte de vacas com mastite crônica (LARANJA, et al., 1994).

O primeiro estudo sobre a validação desse programa no Brasil demonstrou correlação positiva entre a adoção do programa e a redução da incidência e prevalência da mastite. Além disso, foi observada a importância que os produtores dão ao uso de antibioticoterapia para controle da mastite.

No entanto, foi verificada a baixa aplicação de práticas de manejo e higiene ou até mesmo o desconhecimento dessas medidas preventivas para a manutenção de baixos índices de mastite (LARANJA, et al., 1994; ALENCAR, et al., 2014).

As fazendas que adotaram as práticas contidas neste programa reduziram a prevalência de agentes contagiosos na etiologia da mastite. Assim, o NMC identificou a necessidade de ampliar o programa para também controlar a mastite ambiental com processos eficazes, estabelecendo então o programa dos 10 pontos para controle da mastite bovina que consistia das seguintes práticas: 1) estabelecer metas para saúde do úbere; 2) proporcionar o ambiente limpo, seco e confortável; 3) utilizar produtos adequados e comprovados para ordenha; 4) manutenção e uso adequado do equipamento de ordenha; 5) possuir bons registros sobre a mastite; 6) gestão adequada de casos de mastite clínica durante a lactação; 7) manejo adequado das vacas em período seco; 8) manutenção da biossegurança para agentes contagiosos e descarte de vacas infectadas cronicamente; 9) utilizar ferramentas para monitoramento eficaz do estado de saúde do úbere e, 10) revisão periódica de todo processo do programa de controle de mastite (NMC, 2006).

O sucesso no controle da mastite bovina está vinculado com a aplicação completa e corretamente do programa de 10 pontos de controle da mastite. A implementação parcial ou falha em pelo menos um dos pontos pode levar a falhas no controle principalmente em infecções causadas por *Staphylococcus aureus* (BARKEMA, et al., 2006).

Os primeiros programas de controle de mastite elaborados pelo *National Mastitis Council* não incluíam medidas específicas para o controle e prevenção em novilhas. Porém, estudos demonstram a eficácia de uma série de medidas para controle da mastite em novilhas como o uso de vacinas, selante de tetos, antimicrobianos e a combinação dessas medidas, além das medidas usadas para vacas em lactação que podem ser transferidas para esta categoria animal (VLIEGHER, et al., 2012; NAQVI, et al., 2018).

Em 2014, o *National Mastitis Council* publicou o programa de 10 pontos para prevenir e controlar a mastite de novilhas. O programa destaca o conjunto de intervenções que são fundamentais em novilhas de qualquer fazenda leiteira, que são:

- a. Melhorar o manejo geral da saúde do úbere no nível da propriedade;
- b. Evitar a mamada cruzada em bezerros e rebanho jovem;
- c. Implementar um sistema de controle de moscas efetivo e eficiente;
- d. Manter as novilhas em um ambiente limpo e higiênico e separado das multíparas;
- e. Evitar qualquer deficiência nutricional, principalmente monitorar os níveis de vitamina E, selênio, zinco, cobre e vitamina A;
- f. Minimizar o risco de balanço energético negativo no periparto;
- g. Reduzir a incidência de edema no úbere;
- h. Minimizar o estresse em torno do parto e a incidência de distocia e doença periparto;
- i. Considerar o uso de selantes de teto, onde há um alto risco de mastite ambiental no periparto;
- j. Usar antimicrobiano intramamário no pré-parto em novilhas quando for monitorado por um veterinário, após identificar os patógenos envolvidos na etiologia das infecções intramamárias e a realização de antibiograma; realizar testes de controle de resíduos antes do carregamento do leite e parar com o uso de antimicrobiano à medida que surge novas estratégias para o controle e prevenção da mastite em novilhas (NMC, 2014).

## 2.11 Etiologia da Mastite

No Brasil os principais agentes bacterianos envolvidos na etiologia da mastite são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* causando principalmente mastite subclínica (LANGONI, 2013; PINHEIRO, et al., 2016). Países que adotaram as boas práticas de ordenha e correta aplicação do programa dos 5 pontos para o controle da mastite, observaram um declínio considerável dos principais agentes contagiosos nos rebanhos, como *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*.

A partir do controle de infecções com os principais agentes contagiosos, *Staphylococcus* coagulase-positivos, *Corynebacterium bovis*, considerados microrganismos contagiosos secundários, e os grupos de microrganismos ambientais, como *Streptococcus* ambientais e coliformes tornam-se importantes na etiologia da mastite na pecuária leiteira (LANGONI, 2013).

Portanto, as propriedades que apresentaram controle para mastite contagiosa, necessitaram atenção maior ao controle da mastite causada por *Staphylococcus* coagulase-negativos, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e com menor incidência, por outras enterobactérias, como *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp. e *Serratia* spp. (LANGONI, 2013; ROYSTER, et al., 2015).

A correta identificação do agente responsável pela mastite é fundamental para as decisões do produtor, auxiliando na escolha do tratamento, e nas medidas de prevenção e controle, como segregação ou descarte dos animais. Essas decisões devem estar relacionadas com análises econômicas (descarte de leite, recebimento de pagamento por qualidade, valor do animal, preço do leite), risco de transmissão para o rebanho e bem-estar animal. *Staphylococcus* coagulase-negativos apresentam menor aumento na CCS quando comparada a outras espécies como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. e *Escherichia coli*, que acarretam em alta CCS, maior redução do volume de leite e maior influência na qualidade do leite (BEZMAN, et al., 2015).

### 2.11.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* é considerado um importante patógeno da mastite bovina no mundo, presente na maioria dos países e identificado em 50 a 100% das fazendas leiteiras. (ROYSTER, et al., 2015; RUEGG, 2017). *S. aureus* se destaca na etiologia da mastite por ser o principal agente contagioso apresentando alta patogenicidade. Além disso, o tratamento antimicrobiano apresenta baixa eficácia, devido à localização de muitas bactérias no interior de neutrófilos, macrófagos e células epiteliais, elevada resistência aos antimicrobianos, alto conteúdo inflamatório e formação de granulomas e fibrose, dificultado a distribuição e ação dos fármacos antimicrobianos no interior da glândula mamária (ANDREWS, et al., 2008) (ROY, et al., 2009).

Animais infectados com *S. aureus* são reservatórios e são as principais fontes de infecção para animais sadios (ARTURSSON et al., 2016). Essa bactéria é facilmente encontrada na superfície dos tetos das vacas sadias, no entanto, a presença de tecido queratinizado do esfíncter do teto e rachaduras que resultam em feridas ou lesões propicia o desenvolvimento deste agente e favorece a infecção da glândula mamária (BRASIL, 2012).

A transmissão deste patógeno ocorre principalmente de uma vaca infectada para uma vaca sadia durante a ordenha. As mãos dos ordenhadores, materiais de uso comum aos animais, como panos utilizados para secagem dos tetos e as teteiras podem deter microrganismos, incluindo *S. aureus*, que pode contaminar uma vaca sadia durante os procedimentos de ordenha (ROY, et al., 2009; ALENCAR, et al., 2014).

### 2.11.2 *Staphylococcus coagulase-negativos*

As espécies que compõe este grupo são consideradas patógenos de baixa patogenicidade, pois dificilmente causam mastite clínica e o efeito sobre a CCS é menor, quando comparado com *S. aureus*. As espécies *Staphylococcus xylosum*, *S. chromogenes*, *S. simulans* podem apresentar efeito maior na CCS que a maioria das espécies de *Staphylococcus coagulase-negativos* (SCN) descritas na etiologia da mastite (SUPRÉ, et al., 2011). Além disso, estas espécies estão entre as prevalentes em infecções intramamárias causadas por SCN (PIESSENS, et al., 2011; FREY, et al., 2013; MELO, et al., 2018).

Por causar uma inflamação intramamária limitada e a heterogeneidade das espécies classificadas como SCN, a identificação da espécie é negligenciada nas análises microbiológicas de rotina, realizando a identificação somente como SCN devido à dificuldade de identificação em nível de espécie, pela complexidade e quantidade de testes a serem realizados. No entanto em pesquisas para identificar as espécies de SCN que causam mastite, foram identificadas mais de 15 espécies dentre elas, *Staphylococcus chromogenes* foi prevalente em todos os estudos, representando mais de 70% dos isolados SCN (PIESSENS, et al., 2011; TOMAZI, et al., 2015; MELO, et al., 2018).

Em muitos países, SCN são predominantes na etiologia da mastite (PIESSENS, et al., 2011). Estudo realizado na Finlândia, com o objetivo de avaliar os fatores de risco para os principais patógenos da mastite, demonstrou que SCN é o patógeno prevalente em infecções intramamárias, correspondendo a 45%, quando comparado aos 6 principais patógenos (SCN, *S. aureus*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis* e *E. coli*). Estes patógenos foram responsáveis por mais de 90% dos casos de infecção intramamária (TAPONEM, et al., 2016).

Diferente de *S. aureus*, SCN não apresenta correlação entre o sistema de ordenha e infecção intramamária. Também não há correlação com o sistema de alojamento das vacas, demonstrando que estes microrganismos habitam comumente o canal e a pele dos tetos (SAMPIMON, et al., 2009; PIEPERS, et al., 2011; PIESSENS, et al., 2011).

A incidência de SCN aumenta conforme o número de lactações das vacas. Além disso, pesquisadores associam este tipo de mastite com fazendas de alta produção de leite (TAPONEM, et al., 2016).

### 2.11.3 *Streptococcus agalactiae*

O grupo dos estreptococos apresentam diferentes espécies e estas apresentam diferentes graus de importância na etiologia da mastite. *S. agalactiae* é classificado como cocos Gram-positivo, beta-hemolítico e catalase-negativo (ZANARDI, et al., 2014).

Trata-se de um patógeno contagioso, seu ambiente obrigatório é a glândula mamária com limitado desenvolvimento no exterior do úbere. Outras espécies de *Streptococcus* como *S. dysgalactiae*, *S. uberis* são agentes que compõe a microbiota ambiental de criação dos bovinos, classificados como estreptococos ambientais (SALINA, et al., 2017).

Na maioria dos casos ocorre mastite subclínica, mas também se manifesta na forma clínica. Vacas acometidas por este agente infeccioso podem ter CCS superiores a 10 milhões/mL. A CBT também apresenta elevação, podendo em alguns quartos mamários acometidos, ter até 100 mil UFC/mL, sendo um fator que contribui para a facilidade de identificação dos animais acometidos por meio de cultura bacteriana (EDMONDSON, 2011; SALINA, et al., 2017).

Um estudo realizado na Colômbia em 2011 demonstrou as alterações no leite do tanque de fazendas com cultura positiva para *S. agalactiae* comparado com fazendas com cultura negativa para esta espécie. A CCS do tanque foi 70% maior nos rebanhos positivos e a CBT foi praticamente o dobro, quando comparado com as fazendas com resultados negativos (KEEFE, et al., 2011).

Neste sentido, a cultura bacteriana do tanque de leite é válida, por conter grande número de *S. agalactiae* no leite. Esse método é útil para classificar se há presença ou não deste agente bacteriano no rebanho. No entanto para confirmar se realmente este é o principal agente microbiano envolvido na etiologia da mastite, é necessário realizar cultura microbiológica de vacas, individualmente (EDMONDSON, 2011).

A identificação de *S. agalactiae* deve ser precisa em todo o rebanho, para possibilitar o controle eficiente. Neste caso, a *blitz terapia* é um método possível de tratamento para a erradicação de *S. agalactiae*. (EDMONDSON, 2011; BRITTEN, 2012).

#### 2.11.4 *Streptococcus* ambientais

*Streptococcus* ambientais causam mastite tanto no período de lactação quanto no período seco, devido à presença destes patógenos em todo o ambiente bovino (SALINA, et al., 2017). Embora a principal fonte de infecção seja de origem ambiental, na falha de higiene e manejo de ordenha pode ocorrer transmissão deste grupo de microrganismos de outro quarto infectado (ABUREEMA, et al., 2014).

*S. uberis* e *S. dysgalactiae* são os agentes prevalentes em propriedades que controlaram mastite contagiosa, tornando-se, juntamente com as enterobactérias, os principais patógenos na etiologia deste tipo de mastite.

#### 2.11.5 Enterobactérias

A mastite por coliformes não apresentava ênfase nas pesquisas até a década de 1970. No entanto, em 1979, o *National Mastitis Council* apresentou o artigo intitulado “Coliform mastites - A review” publicado pelo *Journal Mastitis Council*. Este artigo apresentou a patogênese, epidemiologia, fatores de risco, e recomendações de controle destes microrganismos. Assim, foi sinalizada a importância destes agentes oportunistas na etiologia da mastite (NMC, 1979; RUEGG, 2017).

Na mastite causada por microrganismos desta família, *E. coli* é a espécie de maior importância, responsável por aproximadamente 49% dos casos, seguido por *Klebsiella* spp. com 35% dos casos (HOGAN, et al., 2012). Há também casos de mastite por *Enterobacter* e raramente surgem casos de mastite por espécies de *Citrobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* e *Proteus*.

A mastite por enterobactérias ocorre com maior frequência no início da lactação, e quando ocorre no período seco, ocorre nas duas primeiras semanas após a secagem. Portanto, a mastite por coliformes ocorre no período periparto, momento em que a vaca apresenta os maiores desafios produtivos e está associado com o período com declínio da imunidade das vacas (HOGAN, et al., 2012). Um trabalho realizado com 741 vacas de 50 grandes rebanhos leiteiros em Wisconsin nos Estados Unidos encontrou prevalência de 22,5% de *Escherichia coli* (OLIVEIRA, et al., 2013), sendo a principal espécie envolvida na mastite ambiental e em casos de mastite clínica aguda.

*Klebsiella* spp. também apresenta importância significativa na etiologia da mastite. Estudo realizado no Oeste do Canadá entre 2003 e 2005, demonstrou que *Klebsiella* spp. era o quinto principal patógeno mais frequentemente isolado em rebanhos leiteiros (OLDE RIEKERINK, et al., 2008). Mastites clínicas que apresentam *Klebsiella* spp. como agente etiológico são mais graves que causadas por outras enterobactérias, causando maiores perdas econômicas, devido a maior redução da produção de leite e maiores índices de descarte e mortalidade de animais (MUNOZ, et al., 2007).

O material utilizado para a confecção das camas para vacas em lactação é importante quando se trata de infecções por *Klebsiella* spp. Esses microrganismos crescem bem em camas orgânicas, como maravalha e serragem de madeira. Além disso, este microrganismo

está presente nas fezes das vacas de forma intermitente, tanto em animais com mastite quanto em animais saudáveis (MUNOZ, et al., 2007). Portanto, a principal forma de controle é através da utilização de camas com materiais inorgânicos como a areia, e boas medidas de gerenciamento dessas camas, com o objetivo de reduzir a contaminação por fezes (HOGAN, et al., 2003; KRISTULA, et al., 2005; MUNOZ, et al., 2006).

Além das características apresentadas, a *Klebsiella* spp. é considerado patógeno ambiental, porém, pode se comportar como contagioso em alguns casos de mastite (KANEVSKY-MULLARKY, et al., 2014).

Mastites por espécies de *Serratia* são mais leves que por *E. coli*, no entanto, há maior probabilidade de tornar infecções crônicas e persistir por diversas lactações (HOGAN, et al., 2012). *Serratia* spp. geralmente apresenta crescimento crônico e é praticamente refratário aos tratamentos com antimicrobianos. Em um estudo, apresentou somente 16,7% de cura bacteriológica (PINZÓN-SÁNCHEZ, et al., 2011). Assim como *E. coli* e *Klebsiella* spp, *Serratia* spp. também se desenvolvem em fezes, cama orgânica e podem se desenvolver na água contaminada utilizada no sistema de limpeza de equipamentos e ordenhadeira (BRITTEN, 2012) e na lavagem do úbere na pré-ordenha (HOGAN, et al., 2012).

## 2.12 Tratamento de Mastite e Resistência Antimicrobiana

A mastite é a doença com maior demanda de uso de antimicrobianos na bovinocultura leiteira. Neste sentido, é necessário que os produtores e profissionais ligados à área realizem as práticas seletivas e criteriosas ao utilizar antimicrobianos (POL, et al., 2007; ROYSTER, et al., 2015). A realização de uma terapia para controle de mastite deve ser baseada em fatores biológicos e econômicos (PINZÓN-SÁNCHEZ, et al., 2011).

Dentro dos fatores biológicos, as características da vaca são muito importantes, como idade ou número de lactações, dias em lactação, CCS e histórico de mastite. Além disso, fatores relacionados aos patógenos, influenciam no sucesso do tratamento, pela virulência e pela e suscetibilidade a antimicrobianos (ROYSTER, et al., 2015).

Embora o teste de sensibilidade antimicrobiana apresente importância para a escolha da terapia, na mastite há pouca evidência da correlação entre os testes *in vitro* frente aos resultados apresentados nos tratamentos das vacas, que podem ocorrer devidos os valores de concentração inibitória mínima *in vitro* ser diferente da concentração inibitória mínima para a glândula mamária. Além disso, os antimicrobianos podem apresentar alterações no mecanismo de ação no leite em relação aos avaliados nos tecidos e também, podem ocorrer variações nas taxas de difusão dos fármacos na glândula mamária (HOE, et al., 2005).

Desta forma a identificação da espécie envolvida na mastite apresenta maior relevância, quanto à suscetibilidade ao antimicrobiano, pois fatores de virulência, toxinas produzidas, grau de invasão tecidual e imunossupressão agregam muito valor para as decisões sobre as escolhas dos tratamentos (ROYSTER, et al., 2015).

O sistema de cultura microbiana na fazenda está aumentando, obtendo resultados importantes para tomadas de decisões após 18 a 24 horas da incubação e com baixo custo. A cultura consiste em utilizar meios seletivos para grupos de microrganismos, que ao visualizar o crescimento auxiliam na correta decisão do tratamento.

A maioria das fazendas utiliza a separação em Gram-negativos e Gram-positivos (ROYSTER, et al., 2015). As mastites causadas por Gram-negativos, na maioria dos casos, não recebem antibioticoterapia por apresentarem uma alta taxa de cura espontânea. Já para Gram-positivos há a necessidade de tratamento (SANDGREN, et al., 2008)

Algumas fazendas optam em separar os Gram-positivos em *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp. o que possibilita a utilização de protocolos com melhores resultados nos tratamentos (ROYSTER, et al., 2015). Além disso, a cultura possibilita identificar os casos de

mastite com ausência de crescimento microbiano, no qual não justifica o uso de antimicrobianos, que representa de 10% a 40% dos casos de mastite clínica (OLDE RIEKERINK, et al., 2008).

No Estados Unidos, os antimicrobianos intramamários aprovados para tratamento de mastite são restritos, contando apenas com sete bases farmacológicas: amoxicilina; cloxacilina; associação de hetacilina com ampicilina; cefapirina; pirlimicina e ceftiofur. Estudos demonstram que a maioria das drogas disponíveis para o tratamento da mastite apresenta maior efetividade contra Gram-positivos, com exceção do ceftiofur, que apresenta o espectro aumentado contra Gram-negativos. Assim, não é recomendado o tratamento de infecções mamárias causadas por bactérias Gram-negativo (PINZÓN-SÁNCHEZ, et al., 2011; ROYSTER, et al., 2015).

A infusão intramamária durante a lactação apresenta taxa de cura inferior quando comparada com a infusão dos antimicrobianos para tratamento na secagem. A infusão no período seco apresenta as vantagens de não haver a ordenha, que elimina o antimicrobiano da glândula mamária, nestes casos a dose do antimicrobiano é maior e a ação do antimicrobiano apresenta efeito prolongado. Assim, a cura microbiológica é aumentada, além de promover um efeito preventivo de novas infecções durante o período seco, por haver a ação prolongada do fármaco.

Outro fator importante do tratamento no período seco é a eliminação do risco de contaminação do tanque de leite com o leite das vacas em tratamento (ROYSTER, et al., 2015). Avaliar a eficiência dos tratamentos utilizados nas fazendas comerciais é difícil e limitante, pois os registros de uso de antimicrobianos em fazendas leiteiras são restritos em grande parte aos produtores. Na Pensilvânia, apenas 30% dos produtores apresentavam algum registro sobre os tratamentos antimicrobianos. No estudo de Pol e Ruegg (2007), apenas 15% dos produtores apresentavam histórico de uso de antimicrobianos, dificultando as avaliações de efetividade dos tratamentos nas fazendas (POL, et al., 2007).

Estudos demonstram que o patógeno, a cronicidade da infecção e o estado imunológico da vaca apresentam maior relevância para o sucesso do tratamento que a escolha do fármaco antimicrobiano (HOE, et al., 2005; APPARAO, et al., 2009; KASRAVI, et al., 2010; PINZÓN-SÁNCHEZ, et al., 2011).

*S. dysgalactiae* apresenta prevalência variada entre rebanhos, assim como a resistência antimicrobiana. Na China, Zhang (2018) verificou apenas 2,3% dos isolados sensíveis a todos os antimicrobianos testados e 4,5% foram resistentes a pelo menos 1 antimicrobiano e 93,1% dos isolados apresentaram resistência para 2 ou mais antimicrobianos testados.

Dos antimicrobianos frequentemente utilizados no controle da mastite, os isolados foram resistentes à sulfonamida (83%), estreptomicina (58%) e norfloxacin (18,2%). Além disso, 34,1% dos isolados foram resistentes a cefalosporinas de primeira geração (cefalexina) e 13,6% para cefalosporinas de terceira geração (ceftriaxona) (ZHANG, et al., 2018).

Melo e colaboradores (2018) avaliaram a resistência antimicrobiana em isolados de SCN oriundos de vacas com mastite. A resistência a antimicrobianos para este grupo de microrganismos foi de 25,5% para penicilina, 9,6% para oxacilina, e 6,2% para cefoxitina. Não houve resistência no estudo para cefalotina e amoxicilina + clavulanato e imipenem (MELO, et al., 2018).

O tratamento para *S. aureus* deve ser avaliado com cautela. Uma revisão de estudos avaliou a cura microbiológica em vacas com mastite durante a lactação após uso de antibioticoterapia. A cura microbiológica durante a lactação foi inferior a 50% das vacas tratadas, demonstrando baixa eficiência no uso deste tratamento. Há recomendação de uso de terapia prolongada (5 a 8 dias) para controle de *S. aureus* por apresentar melhores taxas de cura, no entanto, não há a mesma recomendação para a associação de antibioticoterapia parenteral com a intramamária (ROY, et al., 2012).

*S. aureus* apresenta alta capacidade de apresentar resistência aos antimicrobianos, principalmente aos  $\beta$ -lactâmicos. Os mecanismos de resistência ocorrem por dois mecanismos: O mecanismo mais facilmente diagnosticado é através da produção de  $\beta$ -lactamases, devido a expressão do gene *blaZ*. Já o segundo mecanismo ocorre através da proteína de ligação à penicilina alterada (PBP2a), modulado pelo gene *mecA* em menor número de isolados. No entanto, o gene *mecA* é responsável pela resistência a qualquer antimicrobiano  $\beta$ -lactâmico, dificultando o tratamento das infecções, pois os  $\beta$ -lactâmicos são os principais fármacos para a o controle de *S. aureus* (SOUZA, et al., 2016).

O tratamento indicado para *S. agalactiae* é a “blitz” terapia, ou terapia de ataque. Esta ferramenta somente deve ser utilizada na fazenda após o correto manejo de ordenha, e consiste na identificação de *S. agalactiae* de todo o rebanho e posteriormente, tratando todos os animais positivos com antimicrobianos. Animais que não responderam ao primeiro tratamento devem ser retratados ou descartados. Esse é o único agente etiológico que se recomenda o tratamento durante o período de lactação, devido apresentar taxas de cura acima de 90% (EDMONDSON, 2011). Um estudo recente realizou tratamento intramamário de quartos mamários infectados com *S. agalactiae* na forma de mastite subclínica, apresentando cura em 82,4% com a combinação de 200mg de cloxacilina e 75mg de ampicilina, demonstrando eficácia no tratamento durante a lactação (REYES, et al., 2015).

A decisão da realização da “blitz” terapia quando baseada pela decisão econômica, que considera o leite que será descartado devido à presença de antimicrobianos e o custo do tratamento. Em contrapartida, o tratamento possibilita reduzir a penalização da indústria pela alta CCS, aumento de sólidos, aumento na produtividade e consequentemente, aumento do preço pago pela indústria, relacionado com a qualidade do leite. Portanto, a “blitz” terapia é favorável economicamente, além de ter a possibilidade de erradicar *S. agalactiae* e este deixar de ser um agente causador de mastite na propriedade. (EDMONDSON, 2011).

### **2.13 Gestão dos Recursos Humanos na Atividade Leiteira**

A produção de leite apresenta extrema importância ao agronegócio brasileiro, tanto pela representação econômica como pela geração de empregos. Para o leite chegar à mesa dos consumidores exigem diversas atividades que são desempenhadas dia após dia, sem interrupções, que forma uma cadeia de colaboradores, desde fornecedores, colaboradores das fazendas e empresas de beneficiamento e logística dos produtos (MACHADO, 2017).

Ao longo dos anos, os setores agropecuários evoluíram para produzir alimentos de qualidade e competitivos. Porém no setor leiteiro há muitos produtores que não conseguiram acompanhar o processo de modernização das fazendas, que hoje vemos como uma empresa agropecuária, a qual, além de todas as tarefas diárias, necessita de uma atividade de gestão.

No entanto, é nítido o medo que os produtores demonstram ou negligenciam sobre a gestão das propriedades. A carência da gestão na atividade induz muitos produtores a tomarem decisões equivocadas, levando a crise de muitas fazendas leiteiras, tanto pela deficiência econômica, quando pela dificuldade em realizar as tarefas diárias corretamente (MACHADO, 2017).

Em 2005, o Brasil iniciou o pagamento do leite por qualidade por um grande número de laticínios, para incentivar a produção de leite de qualidade, a partir da inclusão da CCS (ESGUERRA, et al., 2018). No entanto, houve poucos avanços na melhoria da qualidade do leite, pois são diversas as variáveis responsáveis pela qualidade (NIELSEN, 2009). Assim, a CCS do tanque depende da etiologia da mastite, sistema de ordenha adotado (equipamentos, instalações e a rotina de ordenha) e fatores relacionados aos animais (idade, DEL, Quartos mamários afetados) (PAULIN-CURLEE, 2007).

As diferenças no manejo do rebanho tem relação direta com as variações de CCS nos rebanhos, no mundo todo. As diferenças de manejo estão relacionadas com a personalidade, atitudes, crenças, valores intencões, habilidades e conhecimentos de manejo do rebanho (VALEEVA, et al., 2007). Jansen e colaboradores (2009) agruparam estas características pessoais como “fator humano”, onde a CCS pode ser influenciada ao alterar a imunidade da vaca, atribuída pela gestão inadequada da fazenda (JANSEN, et al., 2009).

A avaliação realizada por Esguerra e colaboradores (2018), em rebanhos brasileiros, demonstrou que a CCS do tanque pode estar relacionada com as pessoas que estão ligadas a ordenha. Fazendas que apresentavam baixa CCS tinham indicadores melhores em relação a atitudes positivas dos ordenhadores, que geram comportamentos necessários para promover correto trabalho com o intuito de redução da CCS (ESGUERRA, et al., 2018).

O mesmo estudo demonstra que o correto manejo de ordenha deve ser o foco para manter o rebanho com baixa CCS. Os ordenhadores devem apresentar conhecimento de todo o processo de ordenha, através de treinamentos, com o intuito de desenvolver as atitudes e os comportamentos positivos das pessoas (ESGUERRA, et al., 2018).

A CCS é um desafio para produtores no mundo todo. Para ter bom resultado no controle de CCS é fundamental o trabalho baseado em três conhecimentos: 1) o conhecimento técnico, saber quais processos e ferramentas são necessárias para o controle; 2) gerencial, ter como objetivo o foco nesse resultado, organizando o fluxo de trabalho para esta demanda; e 3) conhecimento sobre as pessoas, pois são elas responsáveis pela execução todas as demandas necessárias para atingir os objetivos (MACHADO, 2017).

O controle da mastite, assim como o sucesso da atividade depende de um trabalho em conjunto, onde todas as pessoas ligadas à atividade trabalhem engajadas em torno dos objetivos. Os comportamentos e hábitos dos proprietários determinam o funcionamento da propriedade. Assim, a propriedade é o reflexo do proprietário, que determina o sucesso ou fracasso do negócio (FREITAS, et al., 2017; MACHADO, 2017).

Machado (2017) adaptou as características que os proprietários deveriam apresentar, após avaliar outras empresas de sucesso que não estavam ligadas ao setor agropecuário. As principais características foram: comprometimento com o negócio; foco no cliente; respeito pelos empregados, empoderamento das pessoas (sentimento de dono); simplicidade e transparência sobre os assuntos do negócio.

Portanto, os líderes são fundamentais para o bom engajamento dos colaboradores com os objetivos da fazenda. É necessário entender o comportamento das pessoas para que as atividades necessárias para bons resultados aconteçam. O comportamento humano é baseado na combinação de motivação e barreiras, que irão definir a realização ou não de uma atividade (FOGG, 2003).

A motivação pode ser intrínseca, quando a própria atividade recompensa, quando a atividade é agradável de executar, permite aprender algo novo e desenvolver novas habilidades e também quando é desafiadora. Já a motivação extrínseca ocorre através de recompensas como salário, bonificações financeiras, viagens e elogios (FREITAS, et al., 2017; MACHADO, 2017).

Por outro lado, existem as barreiras que dificultam a realização de uma atividade. Quanto menor forem as barreiras, maiores serão as chances de realizar a tarefa. No entanto, na atividade leiteira existem diversas barreiras, dentre elas, as mais comuns são: falta de condições adequadas de trabalho, ferramentas inadequadas, carga de trabalho excessivo, falta de treinamento ou capacitação dos colaboradores, ambiente de trabalho desorganizado, ausência de rotina de trabalho nos processos, comunicação ineficiente entre os líderes com os colaboradores e, falta de saúde física e mental dos envolvidos da atividade (FREITAS, et al., 2017; MACHADO, 2017).

Para realizar as atividades é necessário que os colaboradores lembrem as atividades que precisam ser executadas, sem ter um fiscal ao seu lado. Esse processo foi denominado de gatilho e são criados a partir de uma rotina. Assim, estabelecer a rotina de trabalho é fundamental para que as atividades sejam realizadas corretamente (FOGG, 2003).

A maioria das fazendas busca aumentar a motivação dos colaboradores. No entanto, é o mecanismo mais difícil. A redução das barreiras e a criação de gatilhos são as ferramentas mais fáceis de implementar, resultando em colaboradores com melhor comportamento e engajados com as atividades. Além disso, esses dois fatores ajustados não desmotivam os funcionários que estão motivados (FOGG, 2003; MACHADO, 2017).

Esguerra (2014) sugere que o produtor disponha aos ordenhadores de meios adequados para seu trabalho, pois apresenta impacto direto no comportamento do ordenhador. O segundo fator importante é modificar a atitude do ordenhador, que deve ser realizada com investimentos de capacitação e atendimento das necessidades de estima e auto realização.

A melhor gestão do rebanho está correlacionada com baixa CCS. Assim, almejar o gerenciamento da fazenda permite aos proprietários melhorar o comportamento na atividade, além de motivar os ordenhadores a desenvolver as atitudes corretas em relação à ordenha, influenciada positivamente quando os recursos necessários são fornecidos pela administração (FREITAS, et al., 2017; ESGUERRA, et al., 2018).

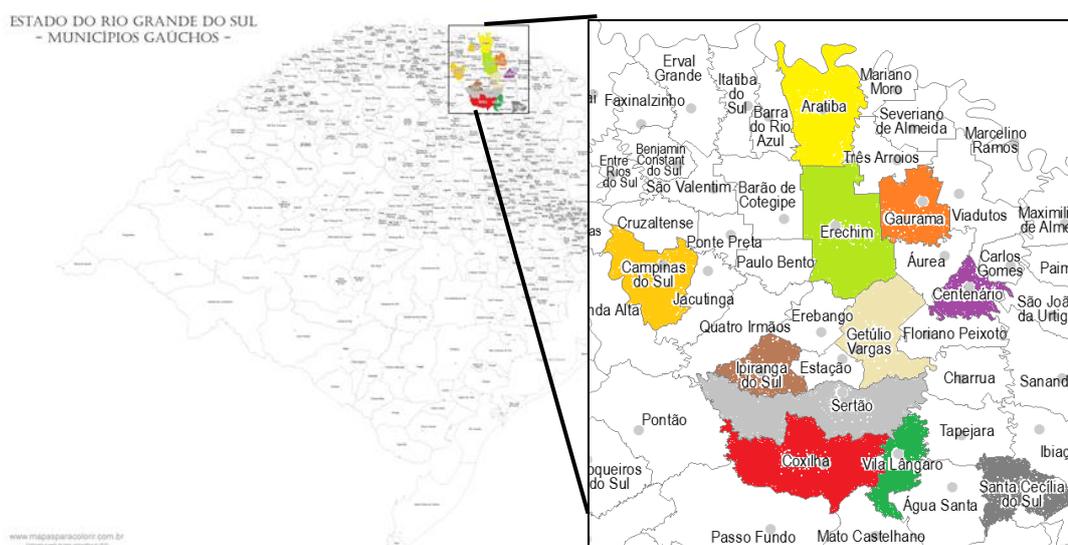
### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de Estudo

A área de estudo pertence a grande bacia hidrográfica do Rio Uruguai. Devido às características distintas das regiões no decorrer do percurso, foi dividida em 13 bacias hidrográficas, sendo quatro no estado de Santa Catarina e nove no Rio Grande do Sul.

A região de estudo foi a Bacia do Alto Uruguai Gaúcho, localizada na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul (

Figura 1), com altitude variando entre 500 e 700 metros, e relevo predominante de planícies.



**Figura 1:** Localização dos municípios onde se encontram as propriedades estudadas, no Rio Grande do Sul.

#### 3.2 Seleção das Propriedades

Foram incluídas 14 propriedades no estudo baseado no histórico de alta CCS no tanque, disponibilidade dos produtores para reuniões, permissão para coleta de amostras de leite e acompanhamento das rotinas de trabalho durante o período de estudo.

Todas as propriedades realizavam a comercialização do leite com o mesmo laticínio. As propriedades foram pré-selecionadas pela equipe técnica do entreposto de resfriamento de leite, que assistiam os produtores. Os técnicos realizaram a pré-seleção das propriedades que apresentaram interesse para receber as visitas.

Após a pré-seleção, foram realizadas visitas às propriedades, nas quais foi realizada a apresentação do projeto de trabalho, explicando as necessidades do mesmo e os benefícios para os produtores envolvidos. Não foi estabelecido como critério das propriedades o tamanho da mesma nem o número de animais ou escala de produção.

As propriedades estavam localizadas nos municípios de Aratiba (1), Centenário (1), Erechim (2), Gaurama (2), Getúlio Vargas (4), Ipiranga do Sul (1), Santa Cecília do Sul (1), Sertão (1) e Vila Lângaro (1). Todas as propriedades eram assistidas por veterinários, ou técnicos que auxiliavam os produtores nas áreas de nutrição, sanidade, reprodução e clínica veterinária.

### **3.3 Período de Estudo**

As visitas técnicas e as coletas de leite para a Contagem de Células Somáticas foram realizadas entre Julho de 2014 a Fevereiro de 2018, com coletas de acordo com a demanda e/ou dificuldades dos produtores em realizar as coletas.

As coletas de leite para a realização de cultura bacteriana e antibiograma foram realizadas no segundo semestre de 2015.

As visitas técnicas de acompanhamento da atividade foram realizadas durante todo o período de coletas de leite para CCS. Nestas visitas eram entregues os resultados de CCS e realizava-se o auxílio na interpretação dos resultados, logo, a partir do diagnóstico eram propostas medidas de controle.

### **3.4 Aplicação do Questionário e Avaliação de Fatores de Risco nas Propriedades**

O questionário utilizado para a coleta de dados foi aplicado pelo mesmo pesquisador em todas as propriedades visitadas (Anexo 1). As questões que buscavam avaliar o conhecimento dos produtores sobre a atividade leiteira, estavam dispostas em questões de respostas abertas, com o pesquisador esclarecendo as possíveis dúvidas e transcrevendo as informações para o questionário.

O preenchimento do questionário foi realizado através de entrevista com o produtor e através de observações realizadas durante as visitas as propriedades.

As variáveis que estavam relacionadas com os processos da atividade eram avaliadas através de respostas afirmativas, quando a atividade era realizada corretamente, ou negativas, quando a atividade era realizada incorretamente, ou de forma parcial, ou não era realizada.

As variáveis abordadas foram relacionadas ao manejo das fazendas, manejo de ordenha, aspectos socioeconômicos, conhecimento dos produtores sobre qualidade do leite e perspectivas e dificuldades da atividade leiteira.

#### **3.4.1 Aspectos gerais de manejo da fazenda**

As variáveis gerais que caracterizam a propriedade leiteira foram abordadas para conhecer o perfil das propriedades estudadas, tais como:

- Contagem de Células Somáticas (CCS);
- Contagem Bacteriana Total (CBT);
- Tamanho do rebanho;
- Índices produtivos;
- Sistema de produção;
- Características de cada local de alimentação e descanso;
- Tipos de cama utilizados (em sistemas confinados);
- Condições de sombreamento, umidade e terreno, para animais em pastagens;
- Importância da atividade leiteira dentro da propriedade em geral, quando comparado à outra atividade da propriedade, como a produção de soja, milho, culturas de trigo, cevada.

#### **3.4.2 Manejo de ordenha**

No manejo de ordenha foi aplicado checklist sobre a máquina de ordenha, número de ordenhas realizadas por dia, quem eram as pessoas envolvidas nessa atividade e a rotina de ordenha utilizada. Quanto aos ordenhadores, foi avaliado o comportamento, procedimentos adotados na higiene dos úberes e o manejo com as vacas durante a ordenha.

Na rotina de ordenha, foi verificada a realização da sanitização do sistema de ordenha, limpeza dos tetos, retirada dos três primeiros jatos de leite, uso da caneca de fundo preto, uso

de solução pré-dipping, uso de papel toalha individual por teto, aplicação de pós-dipping e eficiência de refrigeração do leite.

### **3.4.3 Limpeza e higiene de equipamentos de ordenha**

A limpeza e higienização dos equipamentos de ordenha foram avaliadas no momento inicial da ordenha com o processo de sanitização dos equipamentos pré-ordenha e acompanhado no final da ordenha com a lavagem de todo o sistema. Foi acompanhado o processo de limpeza, desde o enxague, limpeza com detergente alcalino, enxague pós-alcalino e limpeza com detergente ácido. Assim, foram verificados os passos seguintes, temperatura da água em cada procedimento, tempo de circulação de água no sistema, concentração do produto de acordo com cada empresa.

Além dessas informações, foram obtidos dados de presença de filme orgânico nos pontos comumente encontrados quando não ocorre a correta limpeza do sistema, como teteiras, unidade final do leite, saída do tanque de expansão e copo coletor. Além disso, foi coletado informações sobre a periodicidade de trocas das teteiras.

### **3.4.4 Aspectos Socioeconômicos**

Visando compreender o nível de conhecimento das pessoas envolvidas na atividade pecuária foram levantados dados de escolaridade das pessoas responsáveis pelo gerenciamento da atividade, conhecimento da renda da atividade, além da observação de determinados aspectos para identificar qual a atividade produtiva era a principal na propriedade e qual importância do leite para o produtor.

Além disso, foram identificadas todas as pessoas envolvidas na atividade, desde mão de obra familiar, funcionários, técnicos envolvidos (veterinário, agrônomo, zootecnista) e foi identificado também o tempo que o produtor está envolvido na atividade leiteira.

### **3.4.5 Conhecimentos a respeito da CCS e CBT**

Durante a primeira visita, o produtor respondeu as questões abertas relacionadas a Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total (CBT). Foi avaliado o conhecimento do produtor quanto à mastite, seus prejuízos e as possíveis causas de ocorrência na propriedade.

Além disso, foram elaboradas questões sobre a definição da mastite subclínica, das siglas CCS, CBT e suas implicações na qualidade do leite, além de identificar o conhecimento sobre mecanismos para prevenir alta CCS e CBT. E finalmente, foi questionado sobre os limites legais de CCS e CBT, considerando a Instrução Normativa nº62 de 2011.

### **3.4.6 Prevenção e controle de mastite**

Em relação à mastite clínica, foram abordados assuntos sobre anotações dos casos clínicos, seus tratamentos e resultados obtidos, e quais protocolos eram utilizados nos tratamentos. Na secagem dos animais, foi verificado se era realizada a terapia da vaca seca.

Já na prevenção da mastite em geral, foram abordados as formas de realização do monitoramento da mastite, como o teste da caneca de fundo preto, *California Mastitis Test* (CMT), Contagem de Células Somáticas (CCS) individuais, e cultura bacteriana de leite de animais mastíticos. Além disso, buscaram-se informações sobre descarte de animais com mastite, incidência de mastite, e utilização de vacinas comerciais para mastite.

### 3.4.7 Entendimento dos desafios da propriedade

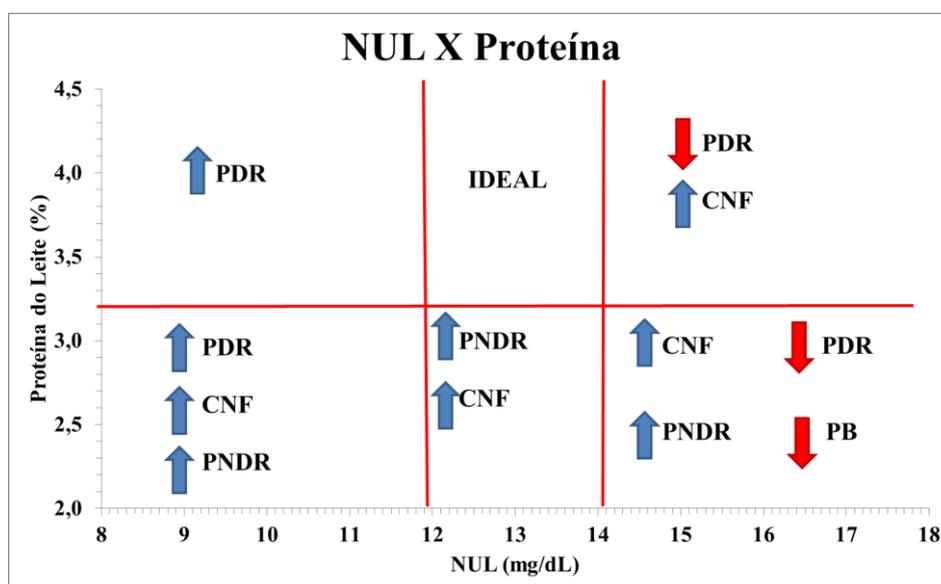
A atividade leiteira apresenta diversas dificuldades, como eventos climáticos que podem reduzir a produção e qualidade de alimentos, alta dependência de mão de obra e necessidades de compreender diversos assuntos, desde atividades agrícolas, à pecuária e econômica. Assim, foram abordados esses assuntos para complementar as informações sobre a produção de leite.

### 3.5 Coleta de Amostras para Contagem de Células Somáticas

Em cada visita técnica, pelo menos uma das ordenhas do dia foi acompanhada. Durante o processo de ordenha foi avaliado o manejo de ordenha, além da realização de coletas de amostras individuais em todas as vacas em lactação.

O leite da ordenha completa era coletado nos medidores de leite Waikato MK-V 30kg (nas propriedades que não apresentava medidores de leite eletrônicos) e ao término da ordenha, o leite era agitado por no mínimo 10 segundos e uma alíquota era transferida para os frascos plásticos apropriados, contendo o conservante Bronopol, para enviar ao laboratório SARLE/UPF credenciado pela Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL), para a realização da CCS por citometria de fluxo.

As amostras permaneciam refrigeradas durante o período da coleta até envio ao laboratório, por período máximo de 5 dias, para serem analisadas sempre com período inferior a 7 dias, contados a partir da coleta. Além dos resultados de CCS, foram obtidos valores individuais da composição do leite de vaca, como: valores de gordura, proteína total, lactose e sólidos totais como resultado padrão. Em propriedades que havia interesse, foi adicionada a avaliação do nitrogênio ureico do leite (NUL), com a finalidade de avaliar a dieta do rebanho. O NUL associado com os dados de proteína total do leite auxilia nos ajustes das dietas de vacas leiteiras, conforme apresentado na Figura 2.



**Figura 2:** Estratégias no manejo nutricional baseado nos resultados de NUL e Proteína do Leite; NUL: Nitrogênio Ureico do Leite; CNF: Carboidratos não fibrosos; PDR: Proteína Digerível no Rúmen; PNDR: Proteína Não digerível no Rúmen; PB: Proteína Bruta.

### 3.6 Coleta de Amostras para Cultura Microbiológica

Com o resultado de CCS individual, foram classificadas vacas com mastite quando o CCS da vaca foi superior a 200.000 células/mL de leite. Nestes animais, foi realizado o teste *California Mastitis Test* (CMT) para complementar o resultado de CCS, com o objetivo de identificar quais quartos mamários estavam acometidos, para coletar amostras e realizar a cultura microbiológica somente dos quartos com CMT positivos. Em vacas que o CMT dos quatro quartos foi negativo, a amostra recebeu uma alíquota de todos os quartos mamários, amostragem em “pool”.

Para a coleta microbiológica, foi realizado pré-dipping, conforme a rotina de ordenha da propriedade, assegurando o desprezo dos três primeiros jatos, aplicação de solução antisséptica por tempo mínimo de 30 segundos para prosseguir com a secagem com papel toalha. Após foi realizado o CMT e a antisepsia dos tetos com algodão embebido em álcool 70%, iniciando pelos tetos distantes e terminando pelos tetos próximos, garantindo a correta antisepsia da ponta dos tetos. Foram utilizadas luvas descartáveis com periódica higienização e trocas quando necessário.

A coleta foi realizada por ordenha manual de cada vaca, iniciando pelos tetos próximos e finalizando pelos tetos distantes, mantendo inclinado o frasco estéril. As amostras foram mantidas refrigeradas em caixas isotérmicas com gelo reciclável sendo mantidas congeladas até a realização das análises no Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

### 3.7 Análise Bacteriológica

#### 3.7.1 Isolamento primário

As amostras de leite foram mantidas em estufa a 37°C por 6 horas para promover o descongelamento das amostras. Após foi realizado isolamento em placas contendo Ágar Columbia Base (Kasvi®) adicionado 5% de sangue de Carneiro e incubada a 37°C por até 48 horas em aerobiose. Após 24 horas de incubação, era feita a leitura da placa, caso houvesse crescimento, era realizada a caracterização presuntiva da morfologia das colônias. Caso contrário, as placas eram retornadas à estufa por mais 24 horas. Posteriormente, era realizada a coloração de Gram e os testes de KOH (3%) e catalase. De acordo com as características dos isolados, estes foram processados por metodologias adequadas para cada grupo de microrganismo identificado (KONEMAN et al., 2012).

#### 3.7.2 *Staphylococcus* spp.

Na identificação presuntiva de *Staphylococcus* spp. foram observados cocos Gram-positivos, KOH (3%) negativos e catalase-positivos. Esses isolados foram semeados em placas de Agar Manitol Vermelho de Fenol (Kasvi®), mantido a 37°C durante 24 horas. Este meio de cultura é seletivo para *Staphylococcus* spp. pelo fato de ter concentração de 7,5% de cloreto de sódio, que impede o crescimento de outras espécies bacterianas. Além disso, a fermentação do manitol é indicada pela presença do indicador vermelho de fenol, diferenciando as espécies fermentadoras das não fermentadoras.

Em seguida foi realizada a prova da coagulase em tubo com a finalidade de classificar em *Staphylococcus* coagulase-negativos e *Staphylococcus* coagulase-positivos. O teste de coagulase foi realizado com a utilização de 0,2mL de plasma de coelho (Laborclin®) e 0,2 mL do isolado cultivado em caldo BHI (Infuso de Cérebro e Coração) (Kasvi®) e incubadas por 6 horas a 37°C, posteriormente realizado a leitura para avaliação da formação ou não de um coágulo. As amostras coagulase-negativas permaneciam em temperatura ambiente por 18 horas para verificar a produção lenta de coagulase. *Staphylococcus* coagulase negativa foram

submetidos à prova da bacitracina 0,04UI para diferenciação de *Micrococcus* spp., sendo os *Micrococcus* spp. sensíveis neste teste (halo  $\geq 10$ mm).

Para identificar as espécies de *Staphylococcus* coagulase-positivos foram realizadas a prova de Voges-Proskauer (VP) e avaliação da fermentação do Manitol.

### 3.7.3 Enterobactérias

Após a identificação primária, os bastonetes Gram-negativos, KOH (3%) positivos e catalase-positivos, foram repicados em meios seletivos para enterobactérias, Ágar MacConkey (MC)(Kasvi®) e Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB)(Kasvi®).

Além das características de crescimento nos meios seletivos, foram realizadas as provas bioquímicas necessárias para a diferenciação das espécies. Os testes bioquímicos utilizados foram: IMViC (produção de indol, produção de ácidos a partir da glicose (VM), produção de acetoína a partir da glicose através da via do butilenoglicol (VP), e utilização do citrato) e provas complementares: motilidade em tubo, produção de H<sub>2</sub>S, fermentação de glicose, lactose e produção de gás no Ágar Kligler (KONEMAN et. al., 2012).

### 3.7.4 *Streptococcus* spp.

*Streptococcus* spp. no ágar sangue se apresentam como colônias pequenas, transparentes ou brancas e na identificação primária são observados cocos Gram positivos, podendo ser visualizados no microscópio óptico em forma de cadeia, KOH (3%) negativo e catalase-negativo.

O teste de CAMP e o padrão de hemólise foram realizados para diferenciar *S. agalactiae* dos demais *Streptococcus* spp. considerados ambientais.

## 3.8 Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana - Difusão em Disco

Para a realização dos testes de suscetibilidade, três a quatro colônias bacterianas com mesmas características morfológicas foram suspensas em caldo Mueller Hinton (Kasvi®), e incubadas por 2 a 6 horas, até atingir a concentração de 0,5 da escala de Mc Farland, equivalente a  $1,5 \times 10^6$  células/mL. As amostras que ultrapassaram a concentração foram ajustadas na escala com a diluição de caldo Mueller Hinton. Em período inferior a 15 minutos, um *swab* estéril foi imerso no caldo, retirado o excesso nas paredes dos tubos e distribuídos por toda a placa de Agar Mueller Hinton (AMH) (CLSI VET, 2013).

Após a absorção do caldo da superfície da placa, os discos impregnados com os antimicrobianos foram colocados sobre a superfície da placa e as mesmas foram incubadas a 35°C por 18 horas. Em seguida as placas foram examinadas e os diâmetros das zonas de inibição foram mensurados (CLSI VET, 2013).

A escolha dos antimicrobianos a serem testados foi realizada de acordo com os fármacos de maior uso nas propriedades para controle da mastite. As zonas de inibição dos fármacos testados estão listadas na tabela 1.

**Tabela 1:** Zonas de inibição dos antimicrobianos avaliados (CLSI, 2013)

Antimicrobianos	Zonas de inibição (mm)		
	Resistente	Intermediário	Sensível
Amoxicilina + Ácido Clavulânico (30µg)	≤ 19	-	≥ 20
Neomicina (30µg)	≤ 12	13-16	≥ 17
Enrofloxacina (10µg)	≤ 14	15-17	≥ 18
Sulfametoxazol + trimetoprim (25µg)	≤ 10	11-15	≥ 16
Cefoxitina (30µg)	≤ 21	-	≥ 22
Oxacilina (1µg)	≤ 10	11-12	≥ 13
Ampicilina (10µg)	≤ 28	-	≥ 29
Penicilina (10UI)	≤ 28	-	≥ 29
Cefalexina (30 µg)	≤ 14	15-17	≥ 18
Eritromicina (15 µg)	≤ 13	14-22	≥ 23
Ciprofloxacina (5µg)	≤ 15	16-20	≥ 21
Gentamicina (10µg)	≤ 12	13-14	≥ 15

### 3.9 Assessoria Técnica nas Propriedades

Após realizar o questionário, observar a propriedade em seus aspectos macroscópicos, e avaliar os resultados das análises do leite, foi possível realizar visitas às propriedades com informações técnicas ao produtor sobre a qualidade da atividade leiteira executada em cada propriedade.

O retorno foi realizado com base nos relatórios das análises de CCS do laboratório da RBQL (Rede Brasileira de Qualidade do Leite), análises microbiológicas e nas observações do manejo, considerando o programa de 10 pontos de controle da mastite realizado pelo *National Mastitis Council*.

Foram realizados treinamentos com os ordenhadores para o correto manejo de ordenha, do ambiente, para promover o bem-estar animal e realizar a correta limpeza e higienização dos equipamentos de ordenha. Durante as visitas de coleta de amostras e acompanhamento da rotina de ordenha, os produtores e funcionários foram informados sobre os assuntos relacionados à qualidade do leite, nutrição do rebanho, sanidade e manejo, sob a forma de conversa informal ou através de relatórios.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Características dos Rebanhos

As diferenças estruturais das fazendas, dos sistemas de produção, tamanho do rebanho e eficiência produtiva foram importantes para a compreensão do manejo de cada propriedade. Neste contexto, foram avaliadas as características das propriedades e correlacionadas com os resultados obtidos da CCS.

As propriedades A e N apresentavam produção no sistema semi-confinado até o início do acompanhamento do estudo e migraram para o confinamento no sistema *free-stall* e *Compost Barn*, respectivamente. Os produtores C, J e L apresentavam o *free-stall* como o sistema de produção de leite. Os demais produtores em estudo tinham as vacas semi-confinadas, conforme apresentado na Tabela 2, com inserção de pastagem na dieta dos animais em diferentes proporções, sendo a maior parte da dieta fornecida em instalações próprias e em seguida, os animais eram mantidos em áreas de pastagens, onde também eram as áreas de descanso.

O sistema de semiconfinamento estava presente em 71% (10/14) e o de confinamento em 29% (4/14) das propriedades do estudo, demonstrando a relevância do semiconfinamento, corroborando com o levantamento da EMATER-RS que identificou 2.175 propriedades no sistema semi-confinado e 696 propriedades no confinamento (EMATER-RS, 2017).

Os produtores A, B, C, F e K consideram a agricultura (soja, milho, trigo) como atividade principal na propriedade e a atividade leiteira é secundária. Já para os demais produtores, o leite é a principal atividade econômica da propriedade.

No momento da coleta dos dados de rebanho, na visita realizada em agosto de 2015, o produtor F apresentava menor número de vacas em lactação, com 22 vacas. Já o produtor I apresentava 100 vacas em lactação, apresentando o maior rebanho leiteiro do estudo. Entre os 14 produtores, a média foi de 43 vacas em lactação por propriedade. O menor volume de leite produzido por dia foi no produtor (G) com 490 litros/dia e o maior produtor (I), com 2.450 litros/dia, conforme apresentado na

**Tabela 2:** Características de produção das propriedades.

Produtor	Qual a principal atividade da propriedade	Sistema de produção	Área da propriedade		Área para produção de leite	
			(ha)	(ha)	(ha)	%
A	Agricultura	Semi-confinado	100	27	27%	
B	Agricultura	Semi-confinado	83	24	29%	
C	Agricultura	Confinado	200	25	13%	
D	Leite	Semi-confinado	75	20	27%	
E	Leite	Semi-confinado	30	15	50%	
F	Agricultura	Semi-confinado	18	9	50%	
G	Leite	Semi-confinado	12,5	12,5	100%	
H	Leite	Semi-confinado	16	16	100%	
I	Leite	Semi-confinado	120	45	38%	
J	Leite	Confinado	14	14	100%	
K	Agricultura	Semi-confinado	50	15	30%	
L	Leite	Confinado	13	13	100%	
M	Leite	Semi-confinado	40	15	38%	
N	Leite	Confinado	60	30	50%	

**Tabela 3:** Dados produtivos e de Contagem de Células Somáticas de cada propriedade, no início do estudo.

Propriedade	Vacas em Lactação	Produção diária	Média/vaca/ dia	CCS do tanque
A	40	800	20,0	678
B	47	1069	22,7	879
C	28	836	29,9	497
D	42	902	21,5	538
E	36	1172	32,6	368
F	22	525	23,9	641
G	25	490	19,6	726
H	26	728	28,0	631
I	100	2450	24,5	342
J	44	1066	24,2	576
K	33	850	25,8	650
L	29	794	27,4	164
M	48	1200	25,0	426
N	75	1800	24,0	778
<b>Média</b>	<b>42,5</b>	<b>1049</b>	<b>24,9</b>	<b>564</b>
<b>Mediana</b>	<b>38</b>	<b>876</b>	<b>24,4</b>	<b>604</b>

Os dados contidos na tabela 3 refletem a realidade das propriedades no início do estudo, uma vez que estes dados são dinâmicos dentro de uma fazenda leiteira. O número de animais variava conforme animais secos em relação aos animais em lactação, taxa de descarte e reposição. Já a produção de cada propriedade variava de acordo com o DEL (dias em lactação) médio do rebanho, associado aos alimentos disponibilizados aos animais e fatores climáticos e de manejo também influenciam, assim como a sanidade.

#### 4.2 Caracterização das Amostras de Leite pela CCS

No total foram avaliados 5.631 resultados de Contagem de Células Somáticas entre julho de 2014 e fevereiro de 2018 nas 14 fazendas avaliadas durante as visitas aos produtores, como demonstrado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Amostras de CCS realizadas em cada propriedade no decorrer do estudo.

Produtor	Ano de Coleta de CCS (Nº de amostras)				Total de amostras de CCS	Nº de coletas
	2014	2015	2016	2017-2018		
A	N.A	95	197	137	429	11
B	N.A	169	158	N.A	327	9
C	N.A	132	171	N.A	303	9
D	N.A	157	123	N.A	280	7
E	N.A	103	159	N.A	262	7
F	84	142	199	N.A	425	18
G	N.A	77	N.A	N.A	77	3
H	N.A	69	N.A	N.A	69	3
I	N.A	572	690	N.A	1262	12
J	N.A	130	N.A	N.A	130	3
K	N.A	65	30	N.A	95	3
L	274	302	333	336	1245	37
M	N.A	100	N.A	N.A	100	2
N	239	388	N.A	N.A	627	11
<b>Total</b>	<b>597</b>	<b>2501</b>	<b>2060</b>	<b>473</b>	<b>5631</b>	<b>135</b>

N.A\*: Não avaliado.

Na fazenda M foram realizadas somente duas coletas para CCS, uma vez que a propriedade realizava coleta para a contagem as células somáticas nas duas ordenhas do dia (aproximadamente 50% do frasco em cada ordenha), não sendo viável a visita em duas ordenhas, além de não ter o mesmo método observado nas demais propriedades.

Nas fazendas G e H, J e K foram realizadas somente 3 coletas. A fazenda G alegou não ter tempo no período para realizar o trabalho. A fazenda H apresentava dificuldades de agendamento das visitas. A J trocou de laticínio e considerou desnecessário o trabalho. Já a fazenda K apresentou falta de estrutura e manejo que inviabilizou a coleta de amostras, inclusive com danos ao equipamento de coleta de leite.

Os produtores B, C, D, E e I receberam 7 a 12 visitas para coleta de leite para CCS em 2015 e 2016. O produtor A recebeu 11 visitas de 2015 a 2018, no F foram 18 visitas de 2014 a 2016, no L foram 37 coletas entre 2014 e 2018 e o produtor N foram 11 visitas entre 2014 e 2015.

#### **4.2.1 Caracterização das propriedades**

As propriedades G, H, J, K e M, não apresentaram período suficiente de estudo para comparar a evolução da CCS, por motivos já mencionados acima.

##### **4.2.1.1 Fazenda A**

A fazenda A apresentou prevalência de mastite em 56% do rebanho, na primeira coleta de amostras para CCS e prosseguiu com aumento dos valores nos meses seguintes, atingindo o índice de 86% na quarta coleta, após cinco meses. Nesse período entraram em lactação 6 vacas sadias e 26 vacas com mastite. Além disso, saíram 7 vacas sadias do rebanho e 16 vacas que apresentavam mastite. Essa diferença de entrada e saída de animais sadios e com mastite aumentou a prevalência no rebanho. Além disso, neste período, foi observada uma incidência média mensal de 10,5% e taxa de cura de 12% no primeiro mês, e nos meses seguintes não foi observada cura em nenhum animal.

A entrada no lote de lactação de vacas que estavam no período seco, nulíparas e ingresso de novos animais na fazenda sem medidas de avaliação da saúde da glândula mamária, acarretou elevação na CCS, e posteriormente através da cultura bacteriana foi identificada a presença de *S. aureus* em 1 animal mastítico.

Corroborando um estudo realizado em 126 propriedades familiares no sudoeste paranaense em 2013, que demonstrou que a maioria dos produtores não conheciam as medidas de biossegurança necessárias na atividade leiteira (SACHET, et al., 2013), foi observado que na fazenda A não houve interesse na prevenção da mastite, pois já havia um senso comum de que a mastite é uma doença impossível de controlar. O foco inicial era a produção de leite a um custo mínimo. A dieta era basicamente pasto, silagem de milho e quantidade mínima de ração, sem critério, tanto para a formulação quanto para o fornecimento. Assim, o manejo das vacas para a ordenha era realizado de forma agressiva, causando estresse aos animais. Na preparação dos animais para a ordenha era utilizada água sob pressão para limpeza dos tetos, deixando tanto os tetos quanto o úbere molhado. A secagem era realizada com toalhas de uso comum para todas as vacas em lactação. Após a secagem era aplicado o desinfetante pré-ordenha, mas com secagem após intervalo inferior a 30 segundos. O processo de ordenha apresentava sobre-ordenha na maioria dos animais, sendo que em algumas vacas era exercida pressão sobre o conjunto de ordenha para retirar o leite residual. Após a retirada da ordenha era aplicado o pós-dipping com menos de 1 segundo por teto e somente com cobertura de 1/3 do teto.

No processo de secagem no final da lactação, a fazenda não realizava nenhum processo de tratamento ou prevenção de mastite com bisnaga vaca seca. Era somente cessado a ordenha e os animais eram alocados em um piquete de vaca seca, com sombra, água, restrita pastagem e também presença de barro.

#### **4.2.1.2 Fazenda B**

A propriedade B apresentava os maiores desafios no controle da mastite, entretanto, o produtor era consciente a respeito de sua importância devido às significativas perdas econômicas geradas e também pela dificuldade de realizar o manejo de vacas em tratamento e vacas com mastite clínica. O produtor utilizou as ferramentas adequadas já descritas no livro “Sucesso no leite” que incluem identificação clara do problema, ter foco ao realizar as tarefas, estar treinado para realizar as atividades e engajamento das pessoas relacionadas ao trabalho (MACHADO, 2017).

Em agosto de 2015, a CCS do rebanho foi 879 mil células/mL e demonstrava a grave situação frente à mastite. Em fevereiro de 2016, como resultado da implementação do trabalho conjunto com o produtor e ordenhadores, o resultado foi 257 mil células/mL. Vacas positivas para *S. agalactiae* foram submetidas a *blitz terapia* e para *S. aureus* foi elaborado plano de descarte das vacas (MENDONÇA, et al., 2018). Vacas com *S. aureus* que tinham potencial produtivo (1ª ou 2ª lactação; 1 ou 2 quartos comprometidos, ou vacas prenhes) foram segregadas e secas precocemente, realizando tratamento na secagem.

Porém, este produtor necessitou contratar novos ordenhadores após a saída da primeira equipe treinada. Estes não tinham conhecimento de ordenha e manejo correto de vacas leiteiras. Este fato fez com que a CCS do rebanho aumentasse para os mesmos patamares iniciais, acima de 600 mil células/mL. A dificuldade de manter as pessoas engajadas no processo é um dos principais desafios enfrentados na pecuária leiteira. Este engajamento está diretamente relacionado com a motivação, e para que as empregados permaneçam motivados, suas necessidades básicas (salário recebido, horário de trabalho, condições de moradia, assistência médica), devem ser atendidas (MACHADO, 2017).

O trabalho em propriedade com alto desafio de mastite foi eficaz com as medidas de manejo baseados nos 10 pontos de controle da mastite. No entanto, o trabalho deve ser consistente e rotineiro, uma vez que a falha do manejo em qualquer ponto ou período faz com que todo o trabalho perca eficiência. A falta de mão-de-obra obrigou o produtor a abandonar a atividade leiteira em 2017, uma vez que esta atividade era secundária na propriedade.

#### **4.2.1.3 Fazenda C**

Na propriedade C, a CCS apresentou melhorias no final do estudo. Em agosto de 2015 61% (17/28) das vacas apresentavam CCS acima de 200 mil células/mL, enquanto nas últimas duas coletas, realizadas em julho e dezembro de 2016 foram apenas 33% e 35% das vacas com CCS superior a 200 mil células/mL, respectivamente. Sugere-se que este resultado ocorreu devido à padronização da rotina de ordenha e implementação de linha de ordenha, com a ordenha em primeiro momento de vacas com CCS abaixo de 200 mil células/mL, seguido de vacas com CCS acima de 200 mil células/mL e no final, vacas com mastite clínica e vacas em período de tratamento ou na fase de carência de antimicrobianos.

#### **4.2.1.4 Fazendas D e E**

Nas propriedades D e E, mesmo após a identificação dos ajustes necessários no manejo, a atividade continuou sendo realizada de forma incorreta, e conseqüentemente, não houve melhorias em relação aos valores da CCS. Dentre os principais problemas

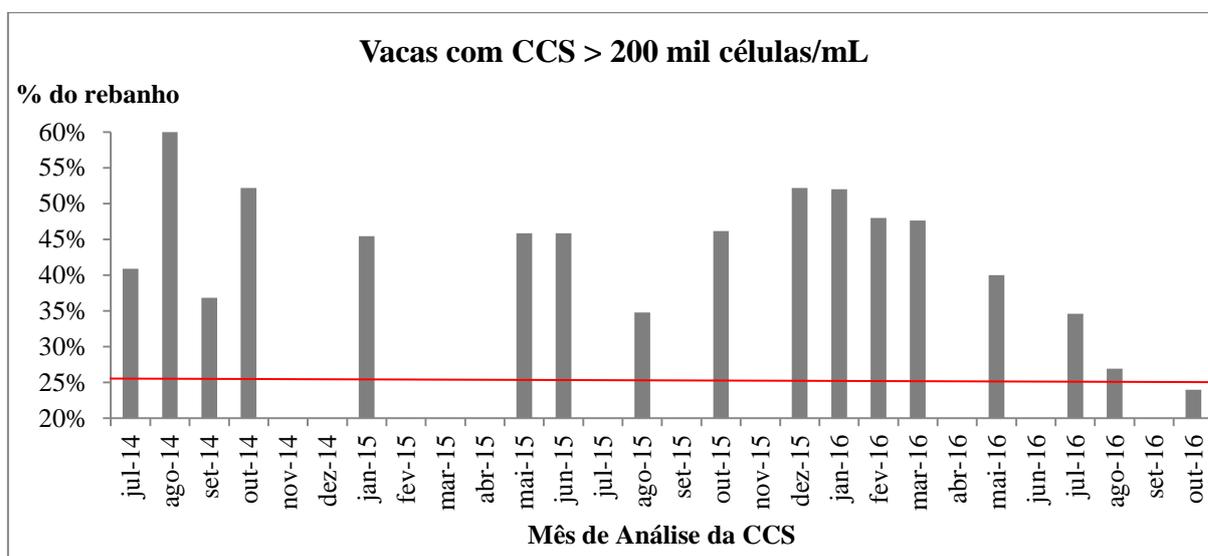
diagnosticados estão: a sobre-ordenha em todas as vacas em ambas as propriedades; pressão manual sobre o conjunto de teteiras na propriedade D; falta de infraestrutura para acesso e descanso dos animais na propriedade contribuindo para a sujidade dos tetos e dificultando o pré-dipping no momento da ordenha.

#### 4.2.1.5 Fazenda F

A propriedade F já recebia assessoria desde o ano de 2014 com contribuições frente ao controle da mastite. Neste período foi melhorado o manejo nos pontos críticos enfrentados pela propriedade no controle da mastite, diagnóstico microbiológico e CCS de vacas individualmente.

As orientações técnicas transmitidas aos produtores durante as visitas contribuíram para a melhoria no manejo e na qualidade do leite. O conhecimento transmitido com clareza sobre a importância de cada processo para o controle da mastite é fundamental, principalmente para as propriedades familiares que não apresentam condições de uma assistência técnica particular (JAMAS, et al., 2018).

A propriedade F, portanto, realizou de forma efetiva o manejo correto de ordenha, incluindo a correta linha de ordenha dos animais, tratamento de mastites clínicas e protocolo terapêutico na secagem. No entanto, não houve descarte de animais com mastite crônica por longo período, mesmo a CCS do rebanho oscilando de 400 mil a 1,1 milhões de células somáticas/mL de leite. No segundo semestre de 2016, além do manejo correto, o produtor realizou o descarte de animais cronicamente infectados por *S. aureus* e o resultado de CCS nos meses de outubro e novembro de 2016 foram de 270 e 232 mil células/mL, respectivamente, conforme mostra a Figura 3.



**Figura 3:** Gráfico da evolução da prevalência de vacas com CCS acima de 200 mil células/mL, entre julho de 2014 e outubro de 2016 na propriedade F.

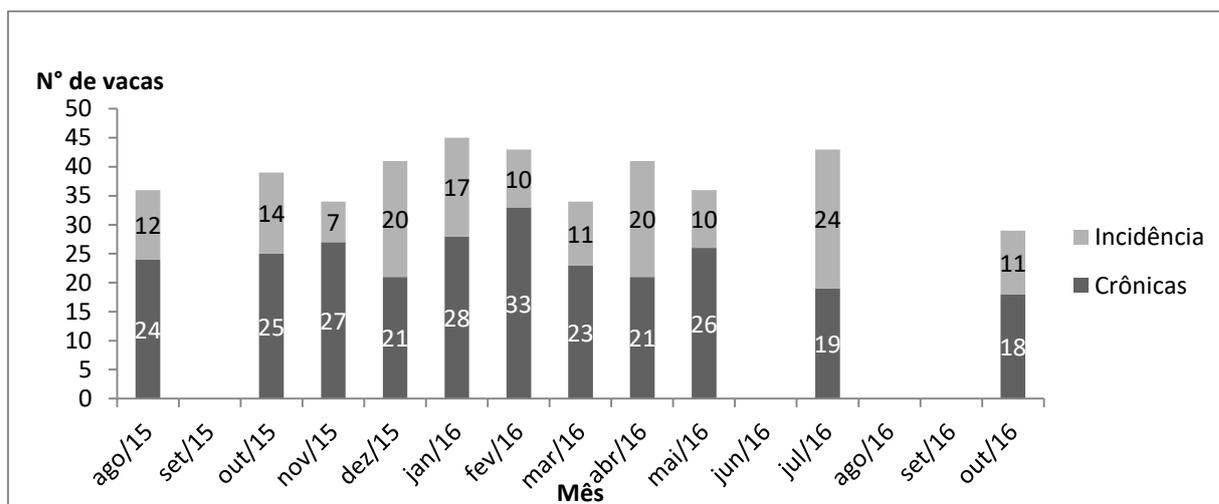
Estes resultados reforçam a necessidade de uma atenção geral aos diferentes aspectos relacionados à produção leiteira, e execução de um conjunto de medidas, neste caso em especial o descarte de animais crônicos, a fim de se manter a qualidade leiteira do rebanho. Nesta propriedade, a execução correta dos processos de manejo permitiu reduzir a prevalência de mastite para 24%.

#### 4.2.1.6 Fazenda I

A propriedade I não apresentava resistência quanto ao descarte de animais. Durante o período de estudo, entre julho de 2015 e outubro de 2016, o produtor descartou próximo a 30% das vacas em lactação. Tal descarte se deu por diversos fatores, sendo a falha na concepção e claudicação, os principais motivos de seleção. Vacas com mastite clínica sem resposta aos tratamentos também eram descartadas, entretanto esse fator não era primário na seleção de animais para descarte. A renovação do rebanho era realizada com novilhas da própria recria.

Embora a mastite não fosse o principal motivo de descarte de animais, das 47 vacas retiradas do rebanho, 32 vacas apresentaram CCS acima de 200mil durante a lactação, no momento do descarte. Apenas 15 vacas foram descartadas sem apresentar valores de CCS altos durante a lactação.

O descarte de animais com mastite crônica é uma ferramenta importante para o controle da mastite bovina, no entanto, deve ser conciliada com as outras ferramentas descritas no programa dos 10 pontos de controle da mastite, como a linha de ordenha, para o controle de mastite contagiosa (NMC, 2006; LANGONI, 2013). A CCS do rebanho permaneceu acima de 300 mil células/mL durante todo período de estudo, assim como a prevalência de mastite oscilou entre 27 e 48%, devido à alta incidência de mastite conforme mostra a Figura 4.



**Figura 4:** Número de vacas com mastite crônica e de novos casos de mastite que afetam a CCS do rebanho

#### 4.2.1.7 Fazenda L

Na propriedade L foi onde ocorreu o maior período de acompanhamento do trabalho, entre o período de março de 2014 e fevereiro de 2018. No início do monitoramento da mastite nesta propriedade, 39% das vacas apresentavam mastite. Em junho de 2015, apenas 15% das vacas apresentavam mastite. Este fato pode ter ocorrido devido ao correto manejo de ordenha, incluindo a linha de ordenha e descarte de animais com infecção crônica por *S. aureus*. No segundo semestre de 2015, as vacas em lactação foram confinadas no sistema *free-stall*, modificando o manejo dos animais. No entanto, a falta de mão de obra e a falta de preocupação com o manejo das camas, favoreceram a incidência de mastite, com prevalência acima de 50% das vacas em lactação no ano de 2017, caracterizada por mastite ambiental ocasionada principalmente por *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* coagulase-negativos.

Com os animais confinados, a preocupação do produtor foi a realização de lotes relacionados com a produtividade, negligenciando a linha de ordenha em relação à mastite. O

agrupamento nutricional de vacas leiteiras é uma opção na formação de lotes que torna os rebanhos mais eficazes na conversão alimentar devido a dieta estar mais próxima à exigência nutricional de cada animal. Este fato permite o melhor desempenho do grupo de animais com maior potencial produtivo e maior economia para animais de menor produtividade, possibilitando melhores resultados zootécnicos e econômicos (PEREIRA, 2013; LIMA, et al., 2017)

#### 4.2.1.8 Fazenda N

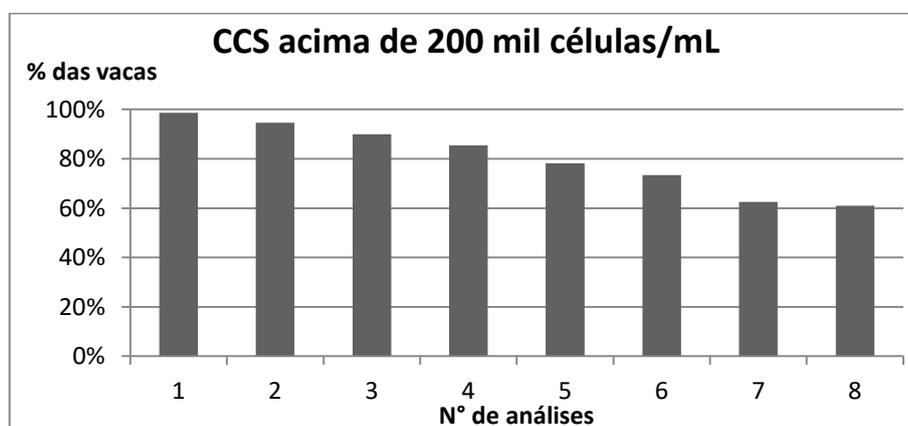
Na propriedade N, o acompanhamento da CCS foi realizado no período de setembro de 2014 a agosto de 2015, com diagnóstico das vacas crônicas, identificação dos agentes envolvidos na etiologia da mastite e apresentação das modificações necessárias para a melhoria nos índices de qualidade do leite. No entanto, nenhuma mudança foi realizada até agosto de 2015, apenas o sistema de produção, que passou a ser no sistema *Compost Barn*.

#### 4.2.1.9 A Contagem de células somáticas mensal de vacas infectadas com *Staphylococcus aureus*

Ao avaliar a CCS de vacas com mastite por *S. aureus* foram observados valores de 189 mil células/mL a 8,881 milhões de células/mL. Foi observado ainda que 65% das vacas positivas para *S. aureus* apresentaram pelo menos uma análise com CCS acima de 1 milhão. A CCS média dos animais com *S. aureus* foi de 1,106 milhões células/mL em 550 amostras no período de estudo.

*S. aureus* é um dos principais patógenos envolvidos na etiologia da mastite, principalmente nos casos de mastite subclínica e crônica. Isto se deve aos vários fatores de virulência e resistência aos antimicrobianos (ROSSI, et al., 2016). *S. aureus* podem produzir mais de 30 fatores de virulência, que favorece para a instalação e manutenção da infecção (MARQUES, 2016). Dentre os fatores de virulência, a produção de biofilmes por *S. aureus* apresentam grande importância clínica, pois este fator impede a ação de antimicrobianos e a defesa imune do hospedeiro, favorecendo a adesão e colonização da superfície do epitélio (COELHO, et al., 2011), além de favorecer a adesão destes agentes e de outros nas tubulações, borrachas e demais materiais que compõe os equipamentos de ordenha.

No presente estudo, 61% das vacas com mastite por *S. aureus* mantiveram CCS acima de 200 mil células/mL em 8 análises, conforme a Figura 5. Este fato é explicado pelos fatores de virulência que possibilitam a manutenção da infecção, principalmente pela formação de biofilme, restringindo as ações antimicrobianas e imunológicas (COELHO, et al., 2011).



**Figura 5:** Número de amostragem em que as vacas infectadas com *S. aureus* permaneceram com CCS superior a 200 mil células/mL, demonstrando a cronicidade da infecção.

### 4.3 Cultura microbiológica

Após identificar as vacas com mastite, foram coletadas 445 amostras de leite mastítico, sem utilização prévia de antimicrobianos, nos últimos 15 dias. Em 30,8% (137/445) das amostras não houve crescimento bacteriano em Ágar Sangue após 48 horas de incubação a 37°C. Das 308 amostras que apresentaram crescimento bacteriano foram identificados 309 isolados.

Dentre os agentes bacterianos envolvidos na etiologia da mastite: *Streptococcus* ambientais foi isolado em 28,5% (88/309); *Staphylococcus aureus* também isolado em 28,5% (88/309); *Staphylococcus* coagulase-negativos representou 24,6% (76/309); *Escherichia coli* foi isolada em 7,1% (22/309); *S. agalactiae* isolado em 4,5% (14/309) e outros agentes corresponderam 6,8% (21/309), conforme apresentado na tabela 5.

A prevalência de *S. aureus* pode ser maior que o valor detectado, uma vez que foi realizada uma única análise microbiológica por vaca com CCS elevada. Estudos demonstram que a presença de *S. aureus* é subestimada em comparação com outros agentes bacterianos, quando considerada uma única amostragem, o que acaba diminuindo a sensibilidade do teste (MENDONÇA, et al., 2016).

**Tabela 5:** Relação dos microrganismos isolados de vacas com CCS superior a 200 mil células/mL e respectiva porcentagem e a relação do número de propriedades em que o agente foi identificado.

Microrganismos identificados	Isolados		Propriedades diagnosticadas	
	Nº	%	Nº	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	88	28,5%	14	100%
<i>Streptococcus</i> spp	88	28,5%	12	86%
SCN	76	24,6%	14	100%
<i>Escherichia coli</i>	22	7,1%	5	36%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	14	4,5%	3	21%
<i>Serratia marcescens</i>	10	3,2%	5	36%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	1,3%	3	21%
<i>Corynebacterium</i> spp	3	1,0%	3	21%
<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	0,6%	1	7%
<i>Pseudomonas</i> spp	1	0,3%	1	7%
<i>Shigella</i> spp	1	0,3%	1	7%
<b>Total</b>	<b>309</b>	<b>100,0%</b>	<b>14</b>	<b>-</b>

A espécie prevalente de maior impacto na etiologia da mastite foi *S. aureus*, diagnosticado nas 14 propriedades, sendo o principal agente infeccioso nas propriedades A, D, E, F, G, H e K, já nas propriedades L e M foram observados um percentual de 29% e 25% dos agentes etiológicos identificados, respectivamente. Apenas nas propriedades B (11%), C (8%) e I (2%) foi observada baixa prevalência frente aos demais agentes identificados. Os *Staphylococcus* coagulase-negativos foi isolado em 100% (14/14) das propriedades, sendo prevalente nas propriedades D, E, J, K e L, não sendo observado na propriedade F.

O grupo de *Streptococcus* spp. envolvidos em mastites ambientais foi identificado em 86% (12/14) das propriedades, e apresentou o mesmo número de isolados de *S. aureus*. As propriedades A, B, C, G, I e M apresentaram prevalência desses agentes. Este grupo engloba todas as espécies de *Streptococcus* spp. isoladas a partir do leite, com exceção do *Streptococcus agalactiae*, envolvido em quadros de mastite contagiosa. O *S. agalactiae* foi

diagnosticado em três propriedades sendo 13% dos isolados na propriedade B, 15% na D e 10% na propriedade I.

Espécies de enterobactérias foram diagnosticadas em 64% (9/14) das propriedades, com prevalência entre 8 e 25%. Na propriedade A foi diagnosticado *Escherichia coli*, nas propriedades B e D houve presença de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, na C, H e M foram identificados *Serratia marcescens*, na propriedade I foi diagnosticado *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Shigella* spp. Já na Propriedade J foram identificados *Serratia marcescens* e *Enterobacter sakazakii* e na propriedade L foram identificados isolados de *Escherichia coli* e *Serratia marcescens*.

Foi observado também um isolado de *Pseudomonas* spp. na propriedade H, além de um isolado de *Corynebacterium* spp. nas propriedades B, C, e I.

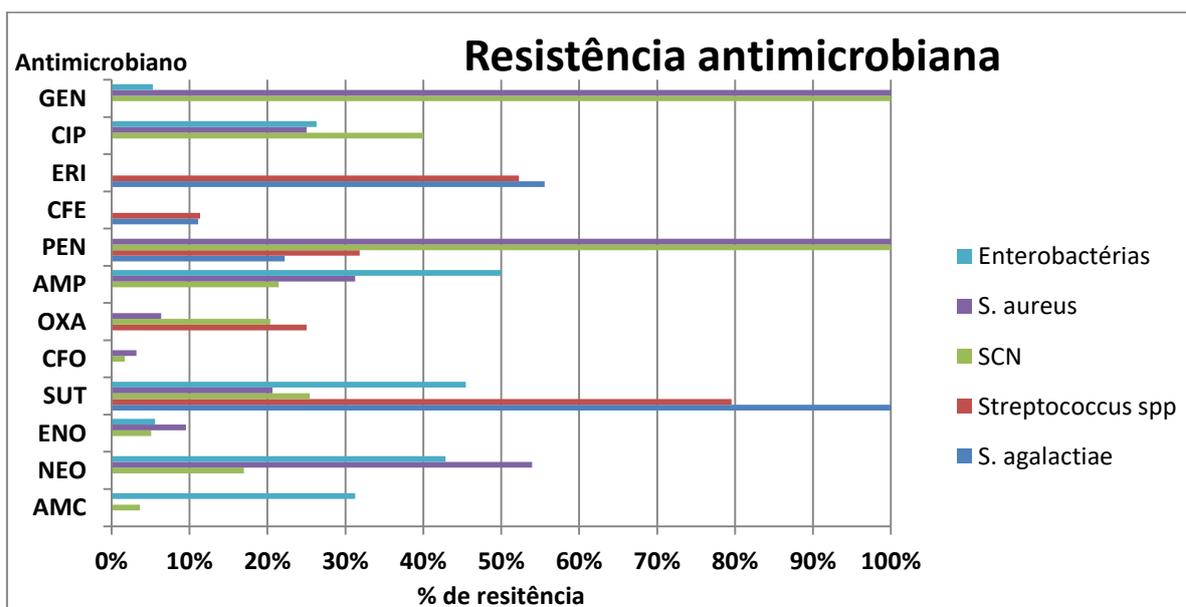
#### 4.4 Perfil de Resistência Antimicrobiana

Os antimicrobianos, utilizados de acordo com a necessidade dos produtores, apresentaram um perfil geral de resistência acima de 30% dos isolados para ampicilina, ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, neomicina, penicilina G e sulfametoxazol + trimetoprim.

Os estreptococos apresentaram resistência acima de 50% para eritromicina e sulfametoxazol + trimetoprim. A sensibilidade foi baixa para oxacilina e cefalexina, conforme figura 7.

Todos isolados de SCN e *S. aureus* testados para penicilina G e gentamicina foram resistentes. SCN também apresentou resistência elevada para ciprofloxacina. Além disso, *S. aureus* demonstrou significativa resistência aos antimicrobianos ampicilina, ciprofloxacina, neomicina e sulfametoxazol + trimetoprim, demonstrados na figura 7.

Já as enterobactérias apresentaram resistência acima de 25% dos isolados para os antimicrobianos: amoxicilina + ácido clavulânico, ampicilina, ciprofloxacina, neomicina e sulfametoxazol + trimetoprim.



**Figura 6:** Porcentagem de resistência aos antimicrobianos testados, diferenciado por espécies de bactérias.

Na propriedade A, foram avaliados cinco isolados de *S. aureus*, dois apresentaram resistência para enrofloxacina e três foram resistentes para neomicina e sulfametoxazol +

trimetoprim. Esses antimicrobianos são de uso comum para vacas em lactação devido ao baixo custo por tratamento intramuscular, como é o caso da enrofloxacina e a neomicina para tratamento intramamário. Já a associação de sulfametoxazol + trimetoprim é comercializada para os produtores com o intuito de reduzir o tempo para a cura de infecções por ter indicação de uso intravenoso, sendo utilizado principalmente em casos clínicos durante a lactação, devido ao baixo período de carência, correspondente a uma ordenha ou um dia.

Na propriedade B, dos quatro isolados de *S. aureus*, dois apresentaram resistência apenas para neomicina. Dos seis isolados de *S. agalactiae*, todos apresentaram resistência para sulfametoxazol + trimetoprim, e três apresentaram resistência para eritromicina, com destaque para um isolado que apresentou resistência para os antimicrobianos acima citados e também à penicilina G e cefalexina. Os *Streptococcus* ambientais apresentaram resistência para sulfametoxazol + trimetoprim (11/13) e para eritromicina (6/13) e penicilina G (5/13).

Na propriedade C, *Streptococcus* spp., com exceção de *S. agalactiae*, apresentou resistência em 100% dos isolados para sulfametoxazol + trimetoprim, 80% para eritromicina e 60% para penicilina G e oxacilina. Além disso, 50% dos SCN foram resistentes para sulfametoxazol + trimetoprim.

Na propriedade D, 50% de *S. aureus* apresentou resistência para neomicina. *Streptococcus* spp foram resistentes para sulfametoxazol + trimetoprim e eritromicina. Já na propriedade E, os SCN apresentaram resistência para enrofloxacina 67% (2/3) e sulfametoxazol + trimetoprim 67% (2/3). *S. aureus* apresentou resistência de 33% (1/3) para neomicina, enrofloxacina e sulfametoxazol + trimetoprim. Já os *Streptococcus* spp apresentaram resistência para sulfametoxazol + trimetoprim e eritromicina.

Na propriedade G, os isolados de *S. aureus* apresentaram resistência para neomicina (50% dos isolados). Já *Streptococcus* spp. apresentou resistência para sulfametoxazol + trimetoprim e eritromicina, com destaque para um isolado que apresentou resistência a todos antimicrobianos testados (sulfametoxazol + trimetoprim, oxacilina, penicilina G, cefalexina e eritromicina). Na propriedade H, apenas um isolado de *S. aureus* apresentou resistência aos antimicrobianos utilizados, a saber, neomicina e cefoxitina. Todos outros isolados apresentaram sensibilidade.

Na propriedade I, que possui o maior rebanho dentro do escopo do projeto, foi detectada a maior prevalência de resistência em SCN, onde 50% foi resistente à oxacilina e 100% à penicilina G e gentamicina. Todos os isolados de *S. agalactiae* foram resistentes a sulfametoxazol + trimetoprim e eritromicina. Os *Streptococcus* spp. apresentaram resistência de 57% para sulfametoxazol + trimetoprim, 43% para oxacilina e penicilina G e eritromicina.

Na propriedade J, *S. aureus* também apresentou resistência em 50% dos isolados. Além disso, um isolado de *Enterobacter* spp. apresentou resistência para enrofloxacina, sulfametoxazol + trimetoprim, ciprofloxacina e gentamicina. Já os isolados de *Serratia marcescens* foram resistentes para amoxicilina + ácido clavulânico, neomicina e oxacilina.

Na propriedade K, os isolados de *S. aureus* apresentaram os maiores perfis de resistência, onde 75% dos isolados foram resistentes à neomicina, 50% à sulfametoxazol + trimetoprim e 25% à enrofloxacina.

Na propriedade L, monitorada por maior período comparado as outras propriedades do estudo, foi possível realizar um maior número de análises de cultura microbiana e antibiograma. Dos isolados de *E. coli* identificados, 25% (2/8) foram resistentes para amoxicilina + ácido clavulânico, 87% (7/8) à sulfametoxazol + trimetoprim e 100% (8/8) resistentes à ampicilina. Para isolados de SCN, houve resistência de 86% (6/7) à oxacilina, 100% (7/7) à penicilina G e 86% (6/7) à gentamicina. Além disso, os dois isolados de *S. aureus* foram resistentes à oxacilina, penicilina G e gentamicina, sendo que um isolado foi resistente também para sulfametoxazol + trimetoprim, cefoxitina e ciprofloxacina. Isolados de *Serratia marcescens* foram 100% (2/2) resistentes à sulfametoxazol + trimetoprim e à

ampicilina, 50% (1/2) de resistência à amoxicilina + ácido clavulânico e 50% (1/2) de resistência à enrofloxacina.

Na propriedade N, *Staphylococcus* spp. apresentou maior resistência à neomicina, com 43% para SCN e 71% de *S. aureus* resistentes. Além disso, *S. aureus* foram resistentes à sulfametoxazol+ trimetoprim (24%) e à ampicilina (67%). Já *Streptococcus* spp apresentaram 100% de resistência à sulfametoxazol+ trimetoprim, sendo um isolado também resistente à oxacilina, penicilina G, cefalexina e eritromicina.

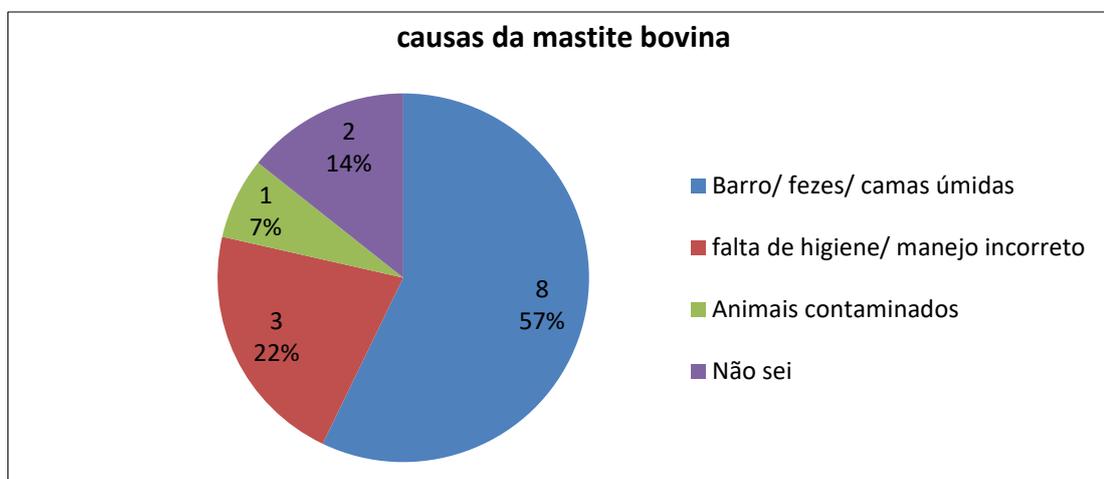
A distribuição das espécies bacterianas e o respectivo perfil de resistência variaram de acordo com o manejo e as políticas de controle adotadas em cada propriedade. Cabe enfatizar junto aos produtores a necessidade da realização da cultura e antibiograma das amostras de leite, uma vez que esta é uma análise simples e barata e que gera resultados importantes para a tomada de decisões frente aos desafios (EDMONDSON, 2011). Uma vez que a identificação do agente envolvido permite ações de controle direcionadas que podem variar desde descarte do animal, segregação ou tipo de tratamento. A escolha de antimicrobianos de forma empírica gera gastos desnecessários com antimicrobianos inadequados, não resolução dos casos, disseminação no plantel, acarretando diminuição de produção e qualidade (BRITTEN, 2012).

O uso consciente de antimicrobianos na produção animal tem impacto positivo direto não apenas para a atividade leiteira, mas também para a saúde ambiental, uma vez que boa parte do leite de vacas em tratamento é descartada no ambiente, mas principalmente a saúde humana, devido a presença de resíduos destes fármacos no produto final (BEYENE 2016).

#### 4.5 Conhecimentos dos Produtores sobre Qualidade do Leite e Mastite Bovina

A partir dos questionários realizados nas 14 propriedades leiteiras, foi avaliado o conhecimento dos produtores em relação aos conceitos e manejos da manutenção da qualidade do leite, controle e prevenção da mastite bovina. Em relação ao conceito da mastite bovina, 86% (12/14) dos produtores responderam relacionando mastite bovina com uma inflamação causada por bactérias na glândula mamária. Já os 14% (2/14) que não sabiam o que era mastite, afirmaram ser algo que causa prejuízo na propriedade.

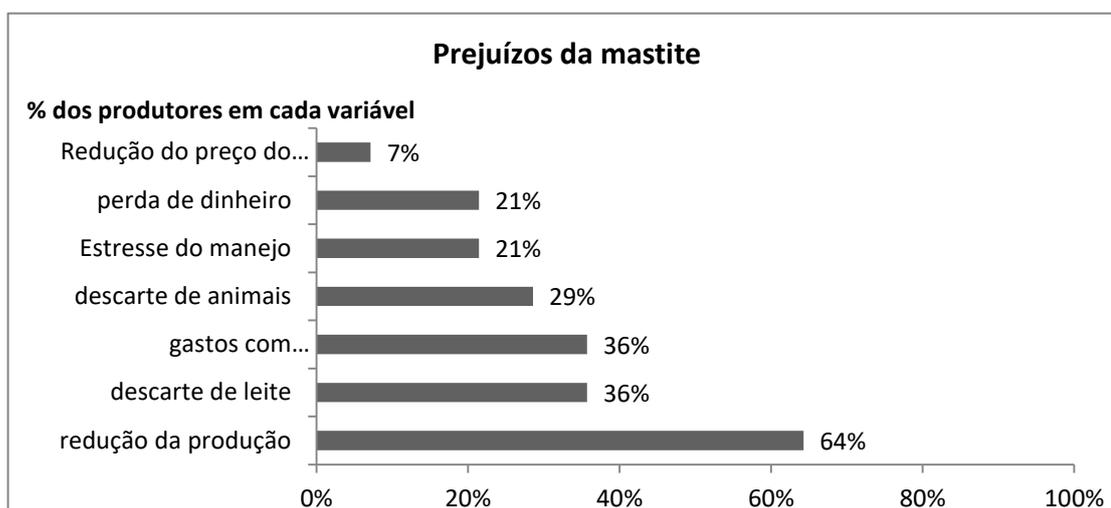
Quanto a causa da mastite bovina, 7% dos produtores (1/14) associam com a presença de animais contaminados ou infectados, 14% (2/14) não sabem os motivos, 22% (3/14) consideram a falta de higiene ou manejo incorreto como fatores principais e 57% (8/14) dos produtores consideram os fatores ambientais, como barro, fezes e camas úmidas, o maior motivo da casuística de mastite em suas propriedades. A figura 8 mostra as principais causas da mastite bovina de acordo com o ponto de vista dos produtores.



**Figura 7:** Principais causas da mastite bovina nas propriedades consideradas pelos produtores

A mastite causa diversos prejuízos no setor leiteiro, desde afetar o bem-estar dos animais, gasto com antimicrobianos e terapias de suporte, redução na produção de leite, descarte precoce de animais e do leite de animais com mastite clínica e em tratamento. Além disso, programas de pagamento por qualidade do leite levam em consideração as alterações pela mastite influenciando negativamente na bonificação recebida (CASSOLI, 2012; CALLEFE, et al., 2015). Uma das principais causas da redução da produção é a mastite subclínica, uma vez que é negligenciada pela maioria dos produtores. A redução da produção pode chegar a 29%, dependendo do agente bacteriano e da CCS por mL de leite (SILVA, et al., 2017).

Outro ponto importante no estudo foi conhecer as variáveis negativas consideradas importantes causas para a ocorrência de mastite nas propriedades. Apenas um produtor relacionou a ocorrência de mastite subclínica com o aumento da CCS e conseqüentemente com a redução do preço pago pela indústria. Outros 13 produtores relacionaram as perdas apenas a casos clínicos da mastite, quando há drástica redução na produção de leite, descarte de leite e de animais, gastos com tratamentos e preocupação dos ordenhadores no manejo de ordenha, como demonstrado no Figura 8.



**Figura 8:** Relação das perdas econômicas citadas pelos produtores aos casos de mastite.

A identificação da mastite subclínica é tão importante quanto à mastite clínica, devido sua prevalência nos rebanhos, e por acarretar redução da produção das vacas acometidas e principalmente por ser fonte de infecção no rebanho (BUSANELLO, et al., 2017; GONÇALVES, et al., 2018). A mastite subclínica é entendida corretamente apenas por 57% dos produtores. As grandes perdas econômicas apresentadas pela mastite subclínica ocorrem de forma silenciosa no rebanho, devido principalmente, a ausência de conhecimento dos produtores desta forma de mastite e o retardo na identificação das vacas acometidas, acarretando a perdas econômicas e aumento da fonte de infecção no rebanho (MARTINS, et al., 2010).

O controle da mastite deve ter o foco principal na área de prevenção, sendo auxiliado com medidas de tratamentos. Assim, foram realizadas perguntas com o intuito de determinar as principais atividades realizadas pelos produtores para a prevenção desta enfermidade.

A propriedade A enfatizou a impossibilidade de prevenir a mastite, devido a sua elevada ocorrência na propriedade. Entretanto, o que se pode observar foram práticas de ordenha deficitárias, manejo nutricional débil e ambiente precário. Além disso, o diagnóstico de mastite subclínica não é realizado. Nesta propriedade, a ordenha na propriedade é realizada de modo alternado pelos dois casais de proprietários. O manejo não é padronizado, sendo

diferente a cada dia, e as vacas são ordenhadas em horários distintos. Há evidências de negligência e desconhecimento em todo o processo, desde a condução dos animais para a sala de ordenha, até a ordenha propriamente dita. Os produtos utilizados na limpeza dos equipamentos de ordenha e resfriador não eram utilizados adequadamente e na máquina de ordenha não apresentava manutenção. Também não era feita avaliação da dieta e correto balanceamento quanto às exigências nutricionais. Além disso, o ambiente apresenta grandes áreas de acesso com lama ou pedregulhos, agravando problemas relacionados a locomoção das vacas.

Quanto à identificação de mastite subclínica através do CMT ou CCS, as análises não eram realizadas nas propriedades A e B. As demais propriedades relataram a utilização do CMT, no entanto, ao acompanhar a execução do teste foi identificado falhas na interpretação dos resultados, uma vez que somente era considerado mastite, a gelatinização nos graus 2 e 3, ignorando o grau 1. A CCS individual das vacas era utilizada somente nas propriedades F, I, L, M e N. No entanto, os resultados recebidos não influenciavam na tomada de providências no manejo do rebanho.

As propriedades D, G, I e M utilizam a vacinação do rebanho como forma preventiva, já as demais não utilizavam essa ferramenta.

As propriedades D, G e M consideraram apenas a vacina, homeopatia ou tratamento alternativo como medidas preventivas para o controle da mastite, não avaliando o manejo de ordenha, manejo do ambiente para garantir a sanidade da glândula mamária como ferramentas importantes na prevenção. Somente a propriedade I, considerou que além da vacina, existem diversas variáveis envolvidas para a prevenção da mastite.

Por outro lado, nas propriedades que não há utilização da vacina, os produtores citaram mais variáveis relacionadas com a prevenção da mastite, principalmente higiene na ordenha, pré e pós-dipping, correto manejo do ambiente, segregação de vacas com mastite e descarte de vacas que não apresentam resposta a terapias antimicrobianas.

A tabela 6 dispõe as medidas preventivas utilizadas pelos produtores, divididas em dois grupos com vacina e sem vacina.

**Tabela 6:** Medidas preventivas contra a mastite indicadas pelos produtores, agrupadas por produtores que realizam algum tipo de vacinação para mastite bovina disponíveis no mercado e produtores que não utilizam desta ferramenta relacionada com as medidas de higiene.

Medidas para prevenção da Mastite	Propriedades	
	Com Vacina	Sem Vacina
"Não tem como"	-	A
Higiene na ordenha	-	B, F, H, N
Homeopatia/ tratamento alternativo	G, I, M	J
Manejo do ambiente	I	B, E, J, L
Manter as vacas em pé após a ordenha	-	N
Pós-dipping	I	E, L, N
Pré-dipping	I	C, E, L, N
Segregar e/ou descartar vacas	I	B, F, H, L
Tratamento na secagem	I	K
Vacina	D, G, I, M	-

**Legenda:** (-) Não houve resposta nessa medida preventiva para os produtores do grupo.

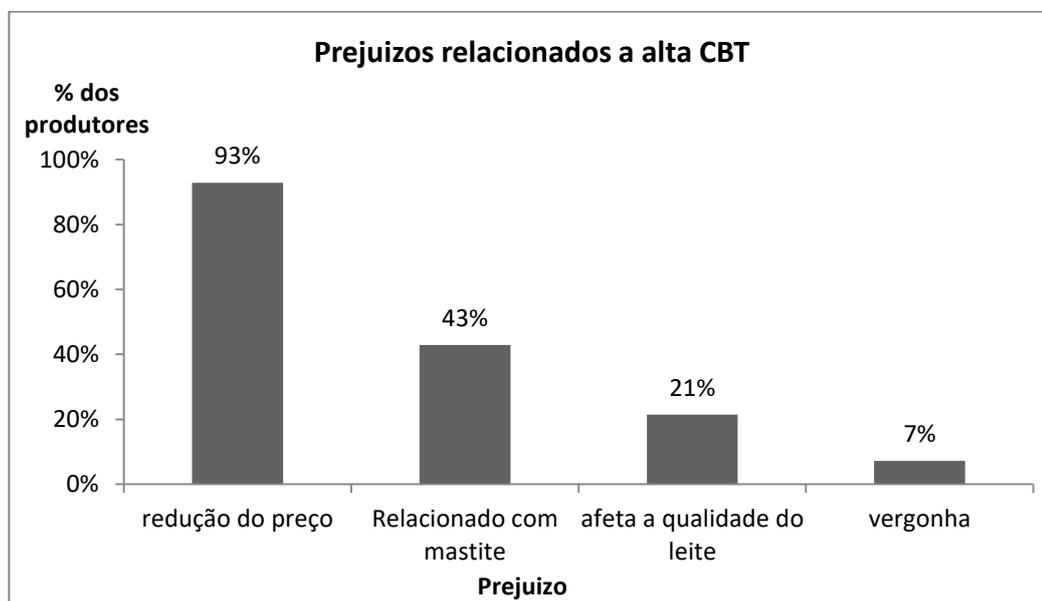
Nos casos de mastite clínica é importante a anotação dos casos e o protocolo de tratamento utilizado, para construir o histórico de mastites clínicas na propriedade. Esse processo é fundamental para avaliar o animal individualmente durante as lactações, a evolução dos casos clínicos no rebanho e a eficiência dos tratamentos antimicrobianos. No entanto, somente 29% (4/14) dos produtores realizavam anotações de casos clínicos apresentados na propriedade e/ou protocolos utilizados em cada caso de mastite clínica.

Ao contrário da CCS, a CBT demonstrou estar mais bem compreendida pelos produtores, onde 100% (14/14) relacionaram a CBT com a falta de higiene no ambiente, nos equipamentos e animais e falta de refrigeração.

Ao questionar sobre os processos para o controle da CBT, todos estavam conscientes das medidas a serem adotadas, como realizar limpeza e sanitização dos equipamentos de ordenha, limpar adequadamente os tetos pré-ordenha, higiene em todo processo de ordenha, eliminar o barro onde os animais deitam e também realizar a refrigeração o mais rápido possível.

Além disso, 93% (13/14) dos produtores estão preocupados com as perdas que a CBT influencia no preço final do leite, além de relacionar a CBT com mastite, qualidade total do leite e até sentem vergonha ao produzir leite com alta CBT, conforme Figura 9.

No entanto, a bonificação máxima para CCS e CBT no laticínio apresenta mesmo peso para ambos os parâmetros (R\$0,04/L). Como apresentado nos gráficos abaixo, considerando a CCS, somente um produtor relacionou a redução do preço como um fator importante, ao questionar sobre prejuízos causados pela mastite. Este fato pode ter ocorrido devido aos produtores não terem correlacionado a CCS com a mastite ou por considerar mais difícil o seu controle quando comparado com a CBT.



**Figura 9:** Impactos negativos, consideradas pelos produtores, nos casos de Alta Contagem Bacteriana Total do leite na propriedade.

#### 4.6 Avaliação Programa dos 10 Pontos para o Controle da Mastite Bovina

A inserção do programa dos 10 pontos para o controle da mastite bovina nos Estados Unidos demonstrou ser um protocolo consistente e eficaz ainda na década de 90 (NMC, 2006). No presente estudo, as propriedades foram avaliadas quanto à aplicação do programa dos 10 pontos, a saber:

(1) Estabelecer metas para saúde do úbere - Ao avaliar o primeiro ponto foi observado que, de modo geral, não havia metas definidas para o controle e prevenção da mastite e não eram priorizadas mudanças no manejo e comportamento dos produtores para melhorar os índices da mastite em sua propriedade.

(2) Proporcionar o ambiente limpo, seco e confortável - Foi observado que 86% (12/14) dos produtores mantem os animais em pé, sob estímulo da alimentação servida no cocho, para evitar o contato de matéria orgânica contaminada no ambiente de descanso dos animais, no período em que está ocorrendo o fechamento de esfíncter dos tetos, sendo a única tarefa satisfatória para este aspecto. Ao avaliar as influências ambientais que são prejudiciais para a glândula mamária, em nenhuma propriedade foi encontrado controles eficientes de pragas como roedores e moscas, controle de umidade das áreas de circulação dos animais, visando reduzir o estresse térmico. Somente 7% (1/14) das propriedades apresentavam as áreas de circulação dos animais com limpeza dos dejetos frequentes, com o objetivo de manter as áreas com baixa contaminação. Nos sistemas de pastagem, nenhuma propriedade apresentou áreas de descanso com sombra suficiente para abrigar todos os animais, com pouca umidade e matéria orgânica, além de não apresentar água para animais nas áreas de pastagens.

Já nos confinamentos, 83% (5/6) não apresentavam requisitos básicos como altura de pé direito, orientação solar e dimensões adequadas para os animais para garantir conforto e bem-estar animal. Somente 67% (4/6) apresentavam as baias limpas e secas e nenhum confinamento apresentou sistema de resfriamento de vacas para minimizar o estresse térmico.

Os próximos pontos avaliados estão relacionados ao processo de ordenha, principal momento de transmissão de agentes contagiosos da mastite que demonstrou diversas falhas nas propriedades estudadas.

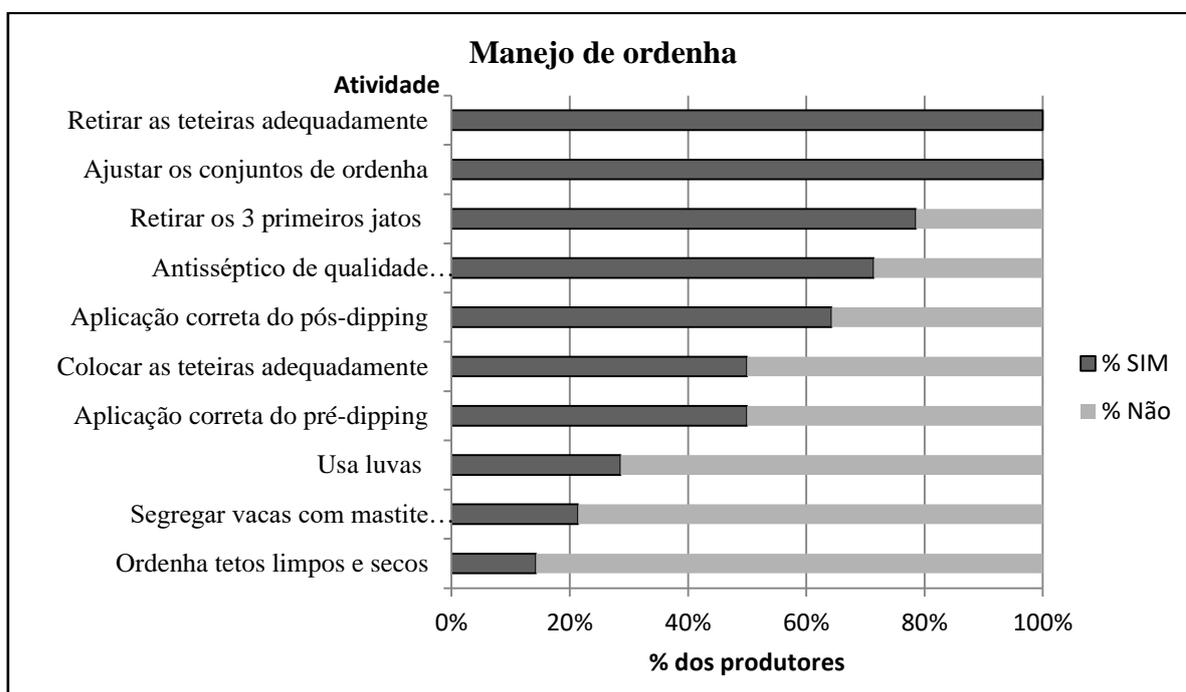
(3) Utilizar produtos adequados e comprovados para ordenha - Os erros mais comuns foram a incorreta limpeza e secagem dos tetos pré-ordenha em 86% (12/14) das propriedades, ausência de linha de ordenha em 79% (11/14) das propriedades, e a ausência do uso de luvas pelos ordenhadores em 71% (10/14). Atividades de aplicação de produtos bactericidas na pré e pós-ordenha, consideradas atividades simples e de grande importância foram realizadas de forma ineficiente em 50% e 36%, respectivamente.

(4) Manutenção e uso adequado do equipamento de ordenha - Em todas as propriedades somente foi satisfatório a retirada correta das teteiras e o ajuste imediato das vacas quando houve necessidade. Todas as outras atividades relacionadas com o manejo de ordenha apresentaram falhas no processo em pelo menos uma ou mais propriedades avaliadas conforme figura 11. A manutenção dos equipamentos de ordenha é essencial para realizar a ordenha de forma rápida, completa, evitando lesões nos tetos (PORTELLA, et al., 2014). Nesse sentido, é necessário instalar equipamentos de acordo com a ISO-5707 para garantir correta função do equipamento. No entanto, 57% (8/14) dos equipamentos não apresentavam as especificações estabelecidas ou apresentavam adaptações entre diversas marcas existentes no mercado sem realizar as avaliações de funcionamento e compatibilidade.

Após a instalação, os sistemas de ordenha devem ser revisados e avaliados periodicamente (MEIN, 2012). Porém, nenhum produtor realizou avaliação dinâmica do equipamento de ordenha, assim, não se pode afirmar se ele está funcionando corretamente. Além disso, 21% (3/14) dos equipamentos não recebem revisões periódicas e 29% (4/14) dos equipamentos de ordenha não recebem as trocas de teteiras as peças que sofrem desgaste com o tempo pré-determinado pelo fabricante.

Para garantir qualidade do leite com ordenha mecânica é necessário além de adequado equipamento e manutenções, a correta limpeza após ordenhas. Ao avaliar os produtos utilizados no sistema de limpeza, temperatura de água, concentração dos produtos e tempo de

circulação de água, foi detectada a limpeza inadequada em 36% (5/14) dos equipamentos de ordenha.



**Figura 10:** Porcentagem dos ordenhadores que realizam os processos de ordenha corretamente.

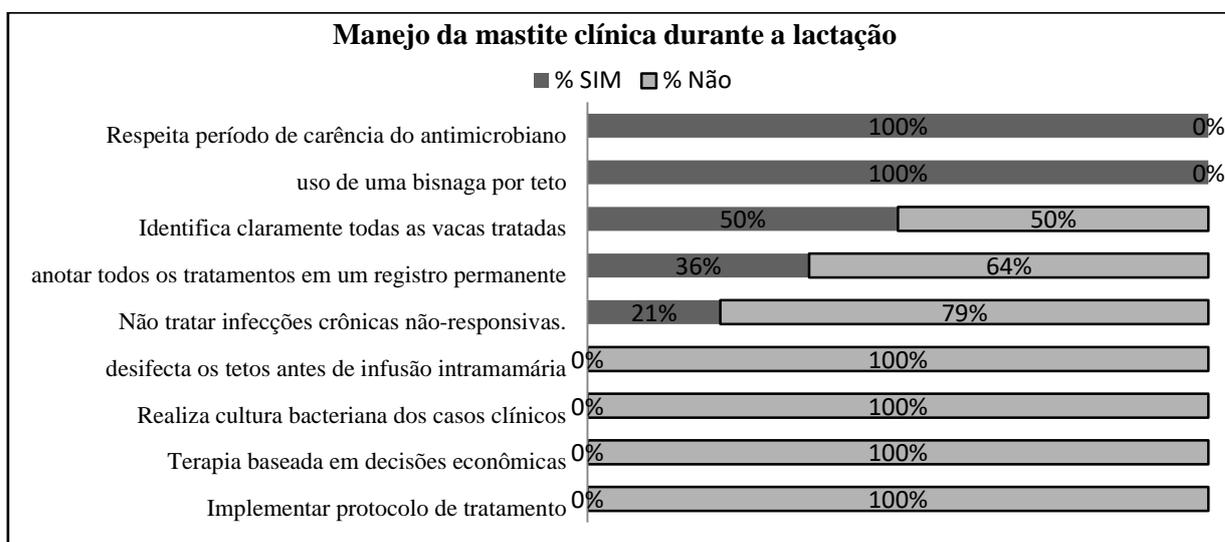
(5) Possuir bons registros sobre a mastite - Não foi possível avaliar o histórico de mastite nos rebanhos uma vez que 71% (10/14) dos produtores não apresentarem registros de incidência, prevalência de mastite, histórico de CMT (*California mastitis test*) ou CCS (Contagem de Células Somáticas). 93% (13/14) das propriedades também não apresentavam registros dos casos de mastite clínica.

(6) Gestão adequada de casos de mastite clínica durante a lactação - A alta incidência de mastite clínica em um rebanho é responsável por diversas perdas aos produtores, desde a queda da produção de leite, gastos com medicamentos, descarte de leite, e morte do animal, dependendo da severidade do caso (IDF, 2011; RUEGG, et al., 2013). No entanto, nenhum dos produtores avaliados apresentava protocolo de tratamento de mastite clínica, não realizando considerações econômicas na escolha do tratamento, além de não desinfetarem os tetos antes da inserção do antimicrobiano intramamário. Além disso, não tinham conhecimento dos agentes envolvidos na etiologia das mastites clínicas, uma vez que não realizavam cultura microbiológica.

Estudos demonstram que o segundo tratamento de mastite clínica na lactação apresenta menor taxa de cura que o primeiro (PINZÓN-SÁNCHEZ, et al., 2011; ROYSTER, et al., 2015). Portanto, não é recomendado o tratamento de mastite clínica de grau 1 e dependendo do agente, de grau 2, de vacas crônicas que não apresentaram cura clínica no primeiro tratamento. No entanto, 79% (11/14) dos produtores do estudo realizavam tratamentos consecutivos em vacas cronicamente infectadas e que não apresentavam resposta ao primeiro tratamento.

A ausência de cura clínica, gastos com medicamentos, descarte de leite não justificam, portanto o custo-benefício desse processo. Outro fator importante é o risco que estes animais tratados representam no manejo, uma vez que podem, por descuido, contaminar o tanque de leite com resíduos de antimicrobianos e o leite ser condenado pelo laticínio, a medida que

64% (9/14) dos produtores não apresentavam registros adequados dos animais tratados, e 50% (7/14) não identificarem os animais em tratamento corretamente, conforme mostra figura 12.



**Figura 11:** Porcentagem dos produtores que realizam corretamente as medidas que compõem o processo de tratamento da mastite clínica

(7) Manejo adequado das vacas em período seco - O período crítico para ocorrência de mastite ambiental ocorre principalmente no periparto, se estendendo desde a secagem até 90 DEL. O motivo são as mudanças no manejo, ambiente dos animais, imunidade, debilidade devido a prenhez e posteriormente pela alta produção (HOGAN, et al., 2012). Assim, é fundamental estabelecer adequado processo de secagem e manejo dessa categoria de animais.

O processo de secagem é realizado com a aplicação de antimicrobiano intramamário de longa ação e nesse processo 100% (13/14) dos produtores introduziam a cânula da seringa sem prévia desinfecção dos tetos. 93% (13/14) dos ambientes de vaca seca e pré-parto apresentavam pouca sombra, barro e muita matéria orgânica. Nessas condições, o uso de selante interno é indicado por formar uma barreira física no interior do teto, no entanto, somente 7% (1/14) das propriedades realizavam esta prática. Além disso, em 93% (13/14) não era realizado a queima ou tosquia dos pelos no úbere, no qual permanecia muita sujeira aderida aos pelos, devido às condições ambientais.

(8) Manutenção da biossegurança para agentes contagiosos e descarte de vacas infectadas cronicamente - A mastite contagiosa foi o principal desafio encontrado para controlar a mastite nas propriedades, principalmente pela ausência de medidas de biossegurança para o controle dos agentes contagiosos. A compra de animais representa importante fator de risco para a mastite contagiosa ao importar animais infectados com *S. aureus* e principalmente *S. agalactiae*. Desta forma medidas de biossegurança como solicitar histórico de CCS dos animais, realizar cultura bacteriana do leite dos animais em lactação e quarentena dos animais inseridos na propriedade seriam as principais formas de evitar a disseminação de patógenos entre as propriedades que comercializam animais.

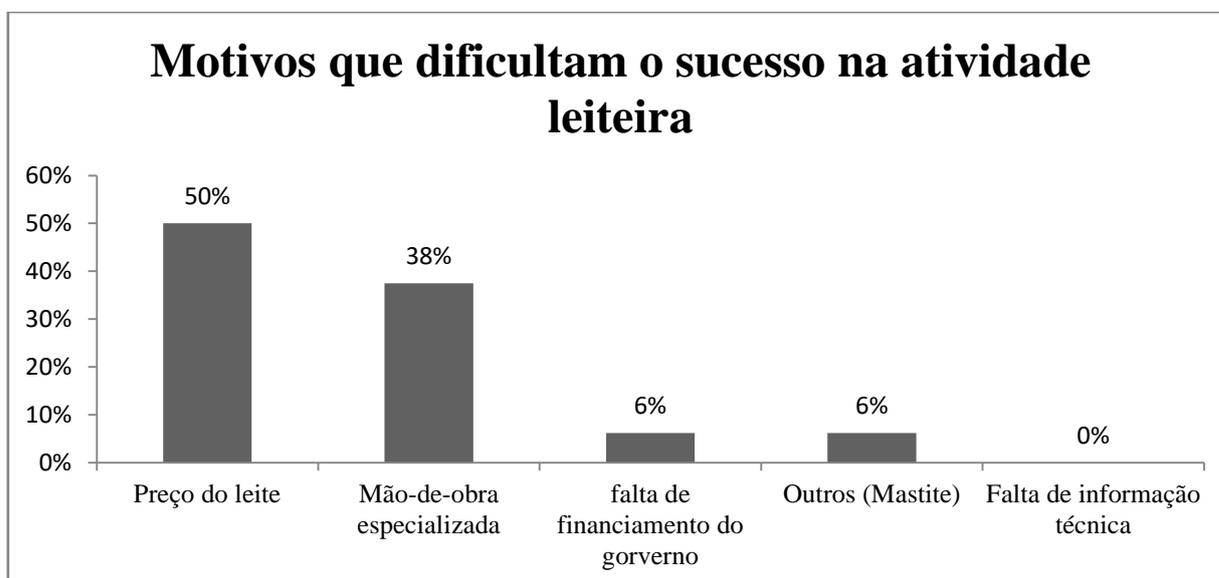
No estudo, nove propriedades relataram que compram animais para compor o rebanho, incluindo bezerras, novilhas e vacas em lactação. No entanto, nenhuma das propriedades relatou realizar medidas para evitar aquisição de animais com mastite. Em 79% (11/14) das propriedades não realizam medidas para controle da mastite contagiosa, como segregar vacas crônicas, descartar vacas infectadas por *S. aureus* ou mastites não responsivas aos tratamentos

(9) Utilizar ferramentas para monitoramento eficaz do estado de saúde do úbere – Não eram realizadas cultura microbiológica ou CCS em primíparas para monitorar a saúde do úbere dos animais de reposição.

(10) Revisão periódica de todo processo do programa de controle de mastite - Somente 29% das propriedades apresentavam avaliações de profissionais relacionados com a mastite, através de veterinários, profissionais ligados a indústria ou outro tipo de assistência técnica. Além disso, nenhuma das propriedades apresentava formulários, protocolos ou processos definidos para realizar o controle e/ou avaliação da epidemiologia e manejo da mastite bovina. Também foi verificado que em nenhuma propriedade houve empenho em conjunto de toda equipe relacionada com a produção de leite, voltada para a saúde da glândula mamária, a medida que não havia interação entre a genética, reprodução, a ordenha e a gestão da propriedade.

#### 4.7 Sucesso na Atividade Leiteira

Também foi questionado sobre quais fatores dificultariam o sucesso na atividade leiteira. Conforme apresentado na figura abaixo (Figura 12).



**Figura 12:** Fatores que são considerados pelos produtores como entraves para sucesso na atividade leiteira

Metade dos produtores (7/14) consideram o preço do leite como empecilho para o sucesso, seguido pela necessidade de mão-de-obra com conhecimento técnico ou com possibilidade de ampliação do modelo mental sobre manejo de ordenha e qualidade do leite, falta de financiamento pelo governo e mastite. Nenhuma propriedade considera que o motivo pela dificuldade de sucesso na atividade leiteira pode estar relacionado pela falta de informação técnica.

#### 4.8 Antibioticoterapia no Tratamento da Mastite Bovina

No Brasil, são comercializados 63 medicamentos antimicrobianos para tratamento de mastite por via intramamária. Destes, 39 produtos possuem indicação para vacas durante o período de lactação e 24 produtos para tratamento de vacas no período seco.

Os antimicrobianos intramamários indicados para vacas em lactação, disponíveis no mercado, estão apresentados como única base antimicrobiana ou associados com outras bases

antimicrobianas. Também podem conter outros fármacos associados, como anti-inflamatórios, antifúngicos e mucolíticos conforme apresentado na Tabela 7.

**Tabela 7:** Número de produtos comerciais existentes no mercado para tratamento intramamário de mastite durante o período em lactação e as bases antimicrobianas utilizadas e suas associações.

<b>Composição da bisnaga intramamária</b>	<b>Nº de produtos comerciais</b>
Amoxicilina+ Clavulanato de potássio+ Prednisolona	1
Ampicilina+ Cloxacilina	3
Cefalexina+ Neomicina+ Miconazol+ Prednisolona	1
Cefalexina+ Neomicina+ prednisolona	3
Cefapirina+ Prednisolona	1
Cefoperazona sódica	5
Cefoperazona sódica+ Prednisolona	1
Cefquinoma	1
Ceftiofur	1
Ciprofloxacina	1
Cloxacilina	2
Cloxacilina+ Amoxicilina+ Prednisolona	1
Cloxacilina+ Ampicilina	1
Cloxacilina+ Neomicina+ Prednisolona	1
Espiramicina+ Neomicina+ Flumetasona	2
Estreptomicina+ Fenoximetilpenicilina potássica+ Piroxicam	1
Gentamicina	4
Gentamicina+ Bromexina	3
Gentamicina+ Dimetilsulfóxido (DMSO)	1
Gentamicina+ Piroxicam	1
Gentamicina+ Prednisolona	1
Oxitetraciclina+ Neomicina+ Prednisolona	1
Sulfadiazina+ trimetoprima	1
Tetraciclina+ Neomicina+ Bacitracina+ Prednisolona	1

Para tratamento de mastite durante a lactação, a gentamicina e a neomicina são as bases antimicrobianas prevalentes nos produtos intramamários encontrado no mercado para vacas em lactação, presente em 10 e nove produtos comerciais, respectivamente. Portanto os aminoglicosídeos estão presentes em 20 produtos comerciais, considerando um produto que contém Estreptomicina, presentes em 51% dos produtos comerciais. A Cloxacilina está presente em oito produtos comerciais para tratamento de vacas durante o período em lactação, apresentado importância no mercado desse segmento.

Dos medicamentos intramamários para tratamento durante a lactação, 17 (43,6%) produtos contém anti-inflamatório na composição, associado com os antimicrobianos. Destes fármacos, 12 (70%) apresentam prednisolona, dois com flumetasona, dois com piroxicam e um com DMSO. A tabela 8 mostra os antimicrobianos e possíveis associações comerciais disponíveis no mercado.

Já para produtos intramamários indicados para vacas no período seco, os produtos comerciais não apresentam medicamentos anti-inflamatórios.

**Tabela 8:** Número de produtos comerciais existentes no mercado para tratamento intramamário de mastite durante o período seco e as bases antimicrobianas utilizadas e suas associações.

<b>Composição da bisnaga intramamária</b>	<b>Nº de produtos comerciais</b>
Amoxicilina+ Cloxacilina	1
Ampicilina+ Cloxacilina	2
Cefalexina	1
Cefalexina+ Neomicina	1
Cefalexina+ Neomicina+ Miconazol	1
Cefalônio Anidro	1
Cefalotina	1
Ceftiofur	1
Ciprofloxacina	1
Cloxacilina	5
Cloxacilina+ Ampicilina	1
Espiramicina+ Neomicina	1
Gentamicina	3
Gentamicina+ Miconazol	1
Neomicina+ Bacitracina	1
Penicilina G Procaína+ estreptomicina+ Neomicina	1
Penicilina G Procaína+ Potássica+ Neomicina	1

A cloxacilina é a base antimicrobiana prevalente nos produtos destinados a vaca seca, presentes em nove produtos comerciais, seguido pela neomicina e gentamicina, presentes em 6 e 4 produtos comerciais, respectivamente.

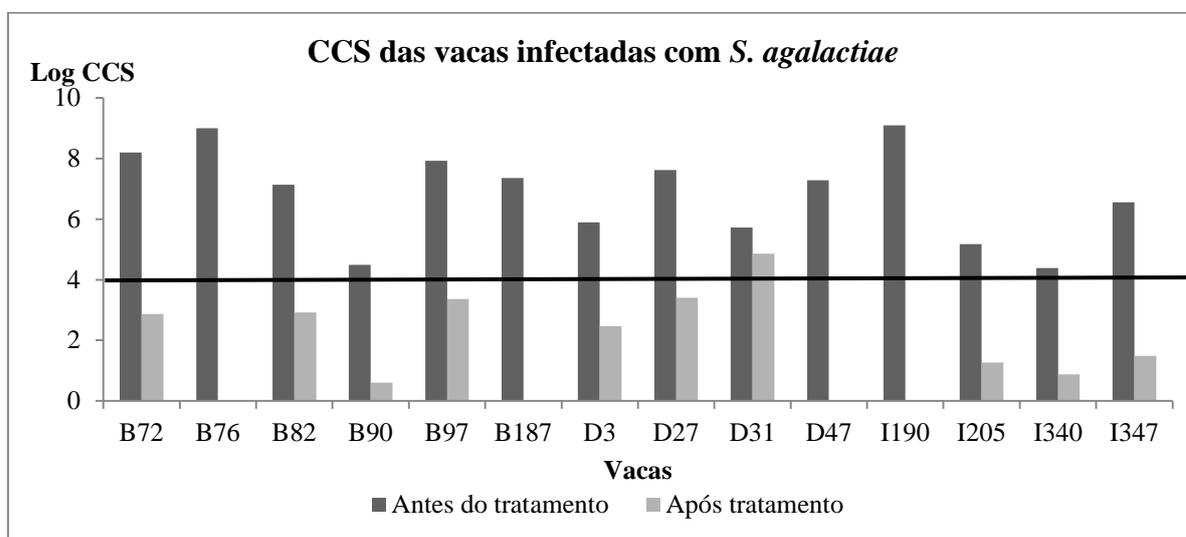
Portanto, a Cloxacilina, Neomicina e Gentamicina são as três bases antimicrobianas com maior disponibilidade para o tratamento de mastite, tanto no período em lactação, quanto no tratamento no período seco.

#### **4.9 Estratégias de Tratamento de Mastite nas Propriedades**

O tratamento durante a lactação é indicado somente para *S. agalactiae*. Assim, das 14 vacas com infecção intramamária por *S. agalactiae* nas três propriedades, foi indicado o tratamento com antimicrobiano de infusão intramamária comercial contendo 0,2g de neomicina, 769.230UI de espiramicina e 0,00025g de flumetasona por aplicação em cada quarto mamário, sendo o tratamento realizado em 6 aplicações após cada ordenha. Também foi utilizado antibioticoterapia parenteral com amoxicilina (15mg/Kg PV) a cada 48 horas com 2 aplicações. Em 4 vacas não foi possível avaliar o tratamento, pois em uma vaca não houve sequência nas análises de CCS, outras três vacas não seguiram em lactação, pois deixaram os rebanhos.

Nas vacas que foram utilizados antimicrobianos para controle de *S. agalactiae* houve cura clínica em 90% (9/10) das vacas, com CCS reduzida para valores menores de 200 mil

células/mL após o tratamento. Em somente 10% (1/10) não apresentou cura clínica, não resultando na redução da CCS, como ilustrado na Figura 13.



**Figura 13:** Tratamento de mastite causada por *Streptococcus agalactiae* identificado através de cultura bacteriana e os resultados do tratamento avaliados através da Contagem de Células Somáticas. Vacas com uma única coluna não foram avaliadas o tratamento.

As fazendas não apresentavam protocolo definido para tratamento da mastite clínica durante a lactação, fazendo alterações de produtos devido a resultado de tratamento anterior, preço do produto no mercado ou disponibilidade do produto na propriedade, além de avaliar o período de carência de cada produto.

## 5. CONCLUSÕES

É necessário levar conhecimento aos produtores, com ferramentas adequadas para que os mesmos possam entender de forma clara e precisa, facilitando a aplicação do conhecimento na sua propriedade.

As ferramentas descritas nos 10 pontos para controle da mastite são suficientes, no entanto, devem ser executadas de forma eficaz e completa para que o controle da mastite ocorra de fato.

A indicação de vacinas já existentes, utilizadas para a prevenção da mastite bovina deve ser realizada com maior esclarecimento técnico para os produtores, para que fique claro que o uso das mesmas não exclui a utilização de outras ferramentas para a efetiva prevenção da mastite.

*S. aureus* é o principal agente microbiano relacionado com a mastite bovina. No entanto, *S. agalactiae* deve ser o primeiro agente a ser controlado na propriedade, através da *blitz* terapia e assim ter possibilidade de ser erradicado.

A mastite subclínica é negligenciada nas propriedades leiteiras, não sendo consideradas as perdas econômicas ocasionadas, a fonte de infecção que representa e o potencial de evolução para casos clínicos.

É fundamental mudar a visão do uso de antimicrobianos nas propriedades leiteiras por parte de técnicos e produtores. Deve haver maior responsabilidade e controle eficiente desses fármacos, uma vez que está relacionado com o sucesso dos tratamentos nos próprios animais, e pela questão da resistência antimicrobiana, que representa um risco direto à saúde pública.

Os produtores precisam se concentrar em ações “porteira adentro”, buscando conhecimento, aprimorando os resultados zootécnicos, melhorando assim a produtividade, a saúde animal e consequentemente permitindo que a atividade leiteira se estabeleça e gere lucros.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUREEMA, S., SMOOKER, P., MALMO, J., & DEIGHTON, M. (2014). **Molecular epidemiology of recurrent clinical mastitis due to *Streptococcus uberis*: Evidence of both an environmental source and recurring infection with the same strain.** Journal of Dairy Science, 97(1), 285–290. doi:10.3168/jds.2013-7074
- AKERS, R. M., & NICKERSON, S. C. (2011). **Mastitis and its Impact on Structure and Function in the Ruminant Mammary Gland.** Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 16(4), 275–289. doi:10.1007/s10911-011-9231-3
- ÅKERSTEDT, M., WREDLE, E., LAM, V., & JOHANSSON, M. (2012). **Protein degradation in bovine milk caused by *Streptococcus agalactiae*.** Journal of Dairy Research, 79(03), 297–303. doi:10.1017/s0022029912000301
- DE ALENCAR T.A., DE MENDONÇA E. DA C.L., MARQUES V.F., DE MELO D.A., ROJAS A.C.M., DA MOTTA C.C., SANTIAGO G.S., DUBENCZUK F.C., MEDEIROS P.T. DE C., COELHO S. DE M. DE O. & DE SOUZA M.M.S.. (2014). **Aspectos das condições higiênico-sanitárias em unidades leiteiras em municípios do estado do Rio de Janeiro, Brasil e análise dos agentes bacterianos envolvidos na etiologia das mastites.** Revista Brasileira de Medicina Veterinária. 2014, 36 (2), 199-208.
- ANDREWS, A H. BLOWEY, R.W.; BOYD, H.; EDDY, R.G.. 2008. **MEDICINA BOVINA-Doenças e Criação de Bovinos.** 2ª. ed. São Paulo : Editora Roca.
- ANVISA. 2018. **Modulo 4. Gram-positivos.** Anvisa. [Online] 27 de Junho de 2018. [Citado em: 27 de Junho de 2018.] [http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede\\_rm/cursos/boas\\_praticas/modulo4/intr\\_sta.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/intr_sta.htm).
- APPARAO, D., OLIVEIRA, L., & RUEGG, P. L. (2009). **Relationship between results of in vitro susceptibility tests and outcomes following treatment with pirlimycin hydrochloride in cows with subclinical mastitis associated with gram-positive pathogens.** Journal of the American Veterinary Medical Association, 234(11), 1437–1446. doi:10.2460/javma.234.11.1437
- ARCURI, E.F., BRITO, M.A.V.P., BRITO, J.R.F., PINTO, S M., ÂNGELO, F.F. e SOUZA, G.N. (2006). **Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 58, 440-446.
- BARKEMA, H. W., SCHUKKEN, Y. H., & ZADOKS, R. N. (2006). **Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine *Staphylococcus aureus* Mastitis.** Journal of Dairy Science, 89(6), 1877–1895. doi:10.3168/jds.s0022-0302(06)72256-1
- BAUMAN, C. A., BARKEMA, H. W., DUBUC, J., KEEFE, G. P., & KELTON, D. F. (2018). **Canadian National Dairy Study: Herd-level milk quality.** Journal of Dairy Science, 101(3), 2679–2691. doi:10.3168/jds.2017-13336

- BERRY, D. P., & MEANEY, W. J. (2006). **Interdependence and distribution of subclinical mastitis and intramammary infection among udder quarters in dairy cattle.** Preventive Veterinary Medicine, 75(1-2), 81–91. doi:10.1016/j.prevetmed.2006.02.001
- BEZMAN, D., LEMBERSKIY-KUZIN, L., KATZ, G., MERIN, U., & LEITNER, G. (2015). **Influence of intramammary infection of a single gland in dairy cows on the cow's milk quality.** Journal of Dairy Research, 82(03), 304–311. doi:10.1017/s002202991500031x
- BHUTTO, A. L., MURRAY, R. D., & WOLDEHIWET, Z. (2012). **California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows.** Research in Veterinary Science, 92(1), 13–17. doi:
- BRADLEY, A. J. (2002). **Bovine Mastitis: An Evolving Disease.** The Veterinary Journal, 164(2), 116–128. doi:10.1053/tvjl.2002.0724
- BRADLEY, A. J., & GREEN, M. J. (2009). **Factors affecting cure when treating bovine clinical mastitis with cephalosporin-based intramammary preparations.** Journal of Dairy Science, 92(5), 1941–1953. doi:10.3168/jds.2008-1497
- BRASIL, (2002). **Instrução Normativa N° 51**, de 18 de setembro de 2002. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.
- BRASIL, (2011). **Instrução Normativa N° 62**, de 29 de Dezembro de 2011. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 2011, p. 24.
- BRASIL, 2012. **Mastite Bovina: Controle e prevenção.** Boletim técnico nº93, 1-30. Lavras-MG.
- BRASIL. (2016). **Instrução Normativa N° 7** de 3 de maio de 2017. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 11-12. ISSN 1677-7042.
- BRASIL. (2018), **Instrução Normativa N°76** de 26 novembro de 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. ISSN 1677-7042
- BREITENCACH, RAQUEL. (2008). **Estruturas de mercado de fatores e governança na cadeia produtiva do leite: um estudo de caso do município de Ajuricaba-RS.** Dissertação de Mestrado em Extensão Rural-UFSM.
- BRITO, M.A.V.P., BRITO, J.R.F. e RIBEIRO, M.T. and VEIGA, V.M.O. (1999). **Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 51 (2), 129-135. doi:10.1590/S0102-09351999000200001
- BRITTEN, A. M. (2012). **The Role of Diagnostic Microbiology in Mastitis Control Programs.** Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 28(2), 187–202. doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.006
- . BUELOW, K. L., THOMAS, C. B., GOODGER, W. J., NORDLUND, K. V., & COLLINS, M. T. (1996). **Effect of milk sample collection strategy on the sensitivity and specificity of bacteriologic culture and somatic cell count for detection of *Staphylococcus aureus***

**intramammary infection in dairy cattle.** Preventive Veterinary Medicine, 26(1), 1–8. doi:10.1016/0167-5877(95)00518-8 .

BUENO, V., NICOLAU, E., MESQUITA, A., RIBEIRO, A., SILVA, J., COSTA, E., COELHO, K., & NEVES, R. (2006). **Mastite bovina clínica subclínica, na região de Pirassununga, SP: Frequências e redução na produção.** Ciência Animal Brasileira, 3(2), 47-52. <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/284>

BUSANELLO, M., ROSSI, R.S., CASSOLI, L.D., PANTOJA, J.C.F., & MACHADO, P.F., (2017). **Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds.** Journal of Dairy Science, 100(8), 6545–6553. doi:10.3168/jds.2016-12042

CALLEFE, J L. R e LANGONI, H. (2015). **Qualidade do leite: uma meta a ser atingida.** Veterinária e Zootecnia. 22 (2), 151-162.

CARVALHO, T.S., SILVA, M.A.P., BRASIL, R.B., CABRAL, J.F., GARCIA, J.C., OLIVEIRA, A.N. 2013. **Qualidade do leite cru refrigerado obtido através de ordenha manual e mecânica.** Revista do Instituto de laticínios Cândido Tostes. 68, 05-11.

CASSOLI, L.D., 2012. **Uma pergunta Simples: A qualidade do leite tem melhorado nos últimos anos?** Milkpoint. Acessado em 20 de abril de 2018. <https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/giro-noticias/uma-pergunta-simples-a-qualidade-do-leite-tem-melhorado-nos-ultimos-anos-79994n.aspx?r=669428400#>.

CHA, E., HERTL, J. A., SCHUKKEN, Y. H., TAUER, L. W., WELCOME, F. L., GRÖHN, Y. T. (2013). **The effect of repeated episodes of bacteria-specific clinical mastitis on mortality and culling in Holstein dairy cows.** Journal of Dairy Science. 96 (8), 4993-5007. doi: 10.3168/jds.2012-6232

CHARMAN1, N., DYSON, R., HODGE, A., ROBERTSON, N., CHAPLIN, S. (2012). **A Survey of Mastitis Pathogens in the South Eastern Australian Dairy Industry.** Dairy Focus- Practical Mastitis Control. Acessado em 13 de Novembro de 2017.] <http://www.dairyfocus.com.au/resources/articles/general/220-survey-of-mastitis-pathogens-in-se-australia>.

COELHO, K. O., MESQUITA, A.J., MACHADO, P.F., LAGE, M.E., MEYER, P.M., REIS, A.P., (2014). **Efeito da contagem de células somáticas sobre o rendimento e a composição físico-química do queijo muçarela.** Arquivo brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia. 66 (4) 1260-1268. doi: 10.1590/1678-7616

COELHO, S M O, PEREIRA, I. A., SOARES, L. C., PRIBUL, B. R., SOUZA, M. M. S., (2011). **Short communication: Profile of virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in the state of Rio de Janeiro, Brazil.** Journal of Dairy Science. 94 (7), 3305–3310. doi:10.3168/jds.2010-3229

. COSTA, H.N., MOLINA, L.R., LAGE, C.F.A., MALACCO, V.M.R., FACURY FILHO, E.J., CARVALHO, A.Ú., (2017) **Estimativa das perdas de produção leiteira em vacas mestiças Holandês x Zebu com mastite subclínica baseada em duas metodologias de análise.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., .69 (3), 579-586.. doi:10.1590/1678-4162-9019.

CUNHA, A.F., BRAGANÇA, L.J., QUINTÃO, L.C., SILVA, S.Q., SOUZA, F.N., CERQUEIRA, M.M.O.P., (2015). **Prevalência, Etiologia e fatores de risco de mastite subclínica em rebanhos de Viçosa-MG.** Acta Veterinária Brasilica. 9 (2), 160-166. doi: 10.21708/avb.2015.9.2.5262

DAVIDSON, I. 1961. The epidemiology of staphylococcal mastitis. Veterinary Research. 1961, Vol. 73, pp. 1015-1018.

DIAS, R V. C. 2007. Principais métodos de diagnóstico da mastite bovina. Acta Veterinária Brasília. 1, 2007, Vol. 1, pp. 23-27. doi:0.21708/avb.2007.1.1.255

DODD, F H, WESTGARTH, D.R., NEAVE, F. K., KINGWILL, R.G. (1969). **Mastitis- The strategy of control.** Journal of Dairy Science. 52 (5) 689-695. doi:10.3168/jds.S0022-0302(69)86631-2

DOHOO, I R e LESLIE, K E. (1991). **Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections.** Preventive Veterinary Medicine. 10 (3) 225-237. doi:10.1016/0167-5877(91)90006-N

DOHOO, I, MARTIN, W e STRYHN, H. 2011. **Veterinary Epidemiologic Research.** 2ª. Charlottetown : s.n., 2011.

DSMZ. 2017. Prokaryotic Nomenclature Up-to-Date. DSMZ (Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures). Acessado em: 17 de novembro de 2017.

[http://www.dsmz.de/microorganisms/pnu/bacterial\\_nomenclature\\_info\\_mm.php?genus=Staphylococcus](http://www.dsmz.de/microorganisms/pnu/bacterial_nomenclature_info_mm.php?genus=Staphylococcus).

DUFOUR, S., e DOHOO, I R. (2013). **Monitoring herd incidence of intramammary infection in lacting cows using repeated longitudinal somatic cell count measurements.** Journal of Dairy Science. 96 (3), 1568-1580. doi:10.3168/jds.2012-5902

DÜRR, J. W., (2004). **Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite: uma oportunidade única.** em: DÜRR, J.W., CARVALHO M.P., SANTOS. M.V., **O compromisso com a quantidade do leite no Brasil.** Passo Fundo : UPF, 2004.

EDMONDSON, P. (2011). **Blitz therapy for the eradication of *Streptococcus agalactiae* infections in dairy cattle.** In Practice. 33, 33-37. doi:10.1136/inp.c7449

EDWARDS, J P, JAGO, J G e LOPEZ-VILLALOBOS, N. (2013). **Milking efficiency for grazing dairy cows can be improved by increasing automatic cluster remover thresholds without applying premilking stimulation.** Journal of Dairy Science. 96 (3), 3766-3773. doi:10.3168/jds.2012-6394

EMATER-RS, (2017). **Relatório socioeconômico da cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul.** Porto Alegre, p. 64.

EMBRAPA, (2016). **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA. Gado de Leite- Importância econômica.** Acessado em: 13 de Novembro de 2018. <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/importancia.html>.

ESGUERRA, J.C., (2014). **O homem como fator de risco da mastite**. Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz", USP. Piracicaba-SP. Dissertação.

ESGUERRA, J C, CASSOLI, L. D., MÚNERA-BEDOYA, O.D., CERÓN-MUÑOZ, M.F., MACHADO, P.F., (2018). **Milk quality: milking personnel associated factors**. Revista MVZ Córdoba. 23, 6461-6473. DOI:10.21897/rmvz.1241

FAGUNDES, H., CORASSIN, C.H., TAVOLARO, P., OLIVEIRA, C.A.F. (2012). **Milk Hygienic practices and occurrence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* 0157:h7 in small-scale dairy farms in São Paulo, Brasil**. African Journal of Microbiology Research. 28 (6) 5805-5808. doi:10.5897/AJMR12.689

FAO (2004). **Guide to good dairy farming practice**. International Dairy Federation and the Food, Agriculture Organization of the United Nations. p. 33.

FOGG, B J. 2003. **Persuasive Tecnology: Using computers to change what we think and do**. 1. s.l. : Morgan Kaufmann, 2003.

FONSECA, P. C. D. (1980). **A reorientação da Economia Gaúcha na República Velha: A Política Econômica e os Fundamentos dos Conflitos Políticos**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissertação. Mestrado em Economia.

FREITAS, L.N., CERQUERIA, P.H.R., MARQUES, H.Z., LEANDRO, R.A., (2017). **Human behavioral influences and milk quality control programs**. Animal. 12 (3), 606-611. doi:10.1017/S1751731117001756

FREY, Y., RODRIGUES, J.P., THOMANN, A., Schwendener, S., Perreten, V., (2013). **Genetic characterization of antimicrobial resistance in coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis milk**. Journal of Dairy Science. 96 (4), 1-11. doi:10.3168/jds.2012-6091

FRIZZO, L.N., (2011). **Os desafios da produção de leite e as consequências sobre o desenvolvimento regional: o caso da normativa 51**. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Nã . Ijuí-RS. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Local Sustentável).

GAO,J., BARKEMA, H.W., ZHANG L., LIU, G., DENG, Z., CAI, L., SHAN, R., ZHANG, S., ZOU, J., KASTELIC, J.P., HAN, B., (2017). **Incidence of clinical mastitis and distribution of pathogens on large Chinese dairy farms**. Journal of Dairy Science. 100 (6), 4797-4806. doi:10.3168/jds.2016-12334.

GOLI, M., EZZATPANAH, H., GHAVAMI, M., CHAMANI, M., DOOSTI, A., (2012). **Prevalence assessment of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* by multiplex polymerase chain reaction (M-PCR) in bovine sub-clinical mastitis and their effect on somatic cell count (SCC) in Iranian dairy cows**. African Journal of Microbiology Research. 6 (12), 3005-3010. doi:10.5897/AJMR12.068

GOMES, E J. (2008). **Estratégias das grandes indústrias no Sul do Brasil**. : Boletim Eletrônico do Deser, 165. acessado em 05 de novembro de 2018. <http://www.deser.org.br/documentos/doc/Estrat%C3%A9gias%20Ind%C3%BAstrias%20leite%20Sul.pdf>

GONÇALVES, J.L., TOMAZI, T., BARREIRO, J.R., BEURON, D.C., ARCARI, M.A., LEE, S.H., MARTINS, C.M.M.R., ARAÚJO JUNIOR, J.P., SANTOS, M.V., (2016) **Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters.** The Veterinary Journal. 209, 87-92. doi:10.1016/j.tvjl.2015.08.009.

GONÇALVES, J.L., CUE, R.I., BOTARO, B.G., HORST, J.A., VALLOTO, A.A., SANTOS, M.V., (2018). **Milk losses associated with somatic cell counts by parity and stage of lactation.** Journal of Dairy Science. 101 (5), 1-10. doi:10.3168/jds.2017-13286

GONÇALVES, J.L., TOMAZI, T. e SANTOS, M.V., (2017). **Rotina de ordenha eficiente para produção de leite de alta qualidade.** Revista Acadêmica Ciência Animal. 15, 9-14. doi:10.7213/academica.15.S02.2017.A02.

GUARÍN, J.F., PAIXÃO, M.G., RUEGG, P.L., (2017). **Association of anatomical characteristics of teats with quarter-level somatic cell count.** Journal of Dairy Science. 100, 643–652. doi:10.3168/jds.2016-11459

HAND, K. J., GODKIN, A., KELTON D.F., (2012). **Milk production and somatic cell counts: a cow-level analysis.** Journal of Dairy Science. 95 (3), 1358-1362. doi:10.3168/jds.2011-4927.

HOE, F.G.H., e RUEGG, P.L., (2005). **Relationship between antimicrobial susceptibility of clinical mastitis pathogens and treatment outcome in cows.** Journal of the American Veterinary Medical Association. 227 (9), 1461-1468.

HOGAN, J., e SMITH, K.L., (2012). **Managing Environmental Mastitis.** Vet Clin Food Anim. 28, 217-224. doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.009

HOGAN, J.S., RAUBENOLT, L., MCCORMICK, J.L., WEISS, W.P., (2012). **Evaluation of propane flaming for reducing bacterial counts in sand bedding.** Journal of Dairy Science. 95 (10), 6152-6159. doi:10.3168/jds.2012-5464

HOGAN, J., SMITH, K.L., (2003). **Review article- Coliform mastitis.** Veterinary Reserch. 34, 507-519. doi:10.1051/vetres:2003022

IBGE. (2018). **Indicadores IBGE- Estatística da produção Pecuária.** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Acessado em: 19 de Maio de 2018. [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp\\_2018\\_mar.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2018_mar.pdf).

IBGE. (2016). **Produção Pecuária Municipal-2016.** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Acessado em: 02 de junho de 2018. [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2016\\_v44\\_br.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2016_v44_br.pdf). 0101-4234

IDF, International Dairy Federation. (2011). **Bovine mastitis.** Animal Health Newsletters. Brussels, Belgium.

JAMALI, H., BARKEMA, H.W., JACQUES, M., LAVALLÉE-BOURGET E.M., MALOUIN, F., SAINI, V., STRYHN, H., DUFOUR, S.. (2018). **Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows.** Journal of Dairy Science. 101 (6) 4729-4746. doi:10.3168/jds.2017-13730

- JAMAS, L.T., SALINA, A., ROSSI, R., BENEDITO D. MENOZZI B.D., LANGONI H. (2018). **Parâmetros de qualidade do leite bovino em propriedades de agricultura familiar.** Pesquisa veterinária Brasileira. 38 (4), 573-578. doi:10.1590/1678-5150-PVB-5372
- JANSEN, J., VAN DEN BORNE B.H.P., RENES R.J., VAN SCHAIK, G., LAM, T.J.G.M., LEEUWIS C., (2009). **Explaining mastitis incidence in Dutch dairy farming: The influence of farmers' attitudes and behaviour.** Preventive Veterinary Medicine. 92, 210-223. doi:10.1016/j.prevetmed.2009.08.015
- JIA-ZHONG, G., XIAO-LIN, L., JUAN, X., ZHI, X., (2010). **Relationship of Somatic Cell Count with milk yield and composition in chinese holstein population.** Agricultural Sciences in China. 9 (10), 1492-1496. doi:10.1016/S1671-2927(09)60243-1.
- JUNG, C.F., MATTE JÚNIOR, A.A.. (2017). **Produção leiteira no Brasil e características da bovinocultura leiteira no Rio Grande do Sul.** Revista de História e Geografia ágora. 19 (1) 34-47. doi:10.17058/agora.v19i1.8446
- KANEVSKY-MULLARKY, I., NEDROW, A.J., GARST, S., WARK, W., DICKENSON, M., PETERSSON-WOLFE, C. S., ZADOKS, R. N. (2014). **Short communication: Comparison of virulence factors in *Klebsiella pneumoniae* strains associated with multiple or single cases of mastitis.** Journal of Dairy Science. 97 (4), 2213-2218. doi:10.3168/jds.2013-7140
- KASRAVI, R., BOLOURCHI, M., FARZANEH, N., SEIFI, H.A., BARIN, A., HOVARESHTI, P., GHARAGOZLOU, F.. (2010). **Relationship between invitro susceptibility of bovine subclinical mastitis isolates and bacteriological outcome of intramammary treatment with cefquinome.** International Journal of Veterinary Reserch. 4 (3), 163-167.
- KEEFE, G.P., CHAFFER, M., CEBALLOS-MARQUEZ, A., LONDOÑO, M., JARAMILLO, M., TORO, M., (2011). Effects of *Streptococcus agalactiae* on the Colombian dairy industry. Symposium Mastitis Milk Quality National Mastitis Council.
- REYHER, K.K., DOHOO, I.R.. (2011). **Diagnosing intramammary infections: Evaluation of composite milk samples to detect intramammary infections.** Journal of Dairy Science. 94 (7), 3387-3396. doi:10.3168/jds.2010-3907
- KONEMAN, W.E.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, J.R.W.C. In: KONEMAN, E.W. 2012. Diagnóstico microbiológico- Texto e atlas colorido. 6. ed. Rio de Janeiro : Editora Médica e Científica.
- KRISTULA, M. A., ROGERS, W., HOGAN, J.S., SABO, M.. (2005). **Comparison of Bacteria Populations in Clean and Recycled Sand used for Bedding in Dairy Facilities.** Journal of Dairy Science. 88 (12), 4317-4325. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)73118-0
- KULKAMI, A.G., KALIWAL, B.B.. (2013). **Bovine Mastitis: A Review.** International Journal of Recent Scientific Research. 4 (5), 543-548.
- LAGO, A., GODDEN, S.M., BEY, R., RUEGG, P.L., LESLIE, K.. (2011). **The selective treatment of clinical mastitis based on onfarm culture results: I Effects on antibiotic use,**

**milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes.** Journal of Dairy Science. 94, 4441-4456. doi:10.3168/jds.2010-4046

LANGE M.J., ZAMBOM M.A., POZZA M.S.S., SIMÕES G.H., FERNANDES T., TININI R.C.R., FORNARI J., ANSCHAU F.A.. (2017). **Tipologia de manejo de ordenha: análise de fatores de risco para a mastite subclínica.** Pesquisa Veterinária Brasileira. 37 (11), 1205-1212. doi:10.1590/S0100-736X2017001100004

LANGONI, H. 2013. **Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina.** Pesquisa Veterinária Brasileira. 33 (5), 620-626. doi:10.1590/S0100-736X2013000500012.

LANGONI H., PENACHIO D.S., CITADELLA J.C.C., LAURINO F., FACCIOLI-MARTINS P.Y., LUCHEIS S.B., MENOZZI B.D. & SILVA A.V.. (2011). **Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino.** Pesquisa Veterinária Brasileira. 31, 1059-1065. doi:10.1590/S0100-736X2011001200004.

LARANJA, L. F. e MACHADO, P F. (1994). **Avaliação da efetividade de um programa de controle de mastite bovina em fazendas produtoras de leite B do estado de São Paulo.** Sci. agric. 51 (2), 569-577. doi:10.1590/S0103-90161994000300032.

LE LOIR, Y., BARON, F., GAUTIER, M., (2003). ***Staphylococcus aureus* and food poisoning.** Genetics and Molecular Research. 2 (1), 63-76. PMID:12917803

LIMA, R.S., GOMES, J.A.F., SILVA, E.G., AQUINO, R.S., ARRAES, F.D.D.. (2017). **Método matricial de formulação de rações para vacas leiteiras.** PUBVET- Medicina Veterinária e Zootecnia. 11 (10) 1057-1073. doi:10.22256/PUBVET.V11N10.1057-1073

LIRO, C.V., GRANJA, R.E.P., ZOCCHÉ, F.. (2011). **Perfil do consumidor de leite no vale do rio São Francisco, Pernambuco.** Ciência Animal Brasileira. 12, 718-726. doi:10.5216/cab.v12i4.11613

MACHADO, P.F.. (2017). **Sucesso no Leite: Como transformar a fazenda em um negócio mais produtivo, rentável e de valor para as pessoas.** Piracicaba-SP : Clínica do Leite. ISBN 978-85906518-3-3.

MAKOVEC, J.A., RUEGG, P.L.. (2003). **Results of Milk Samples Submitted for Microbiological Examination in Wisconsin from 1994 to 2001.** Journal of Dairy Science. 11, 2003, Vol. 86, pp. 3466-3472. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73951-4

DE PINHO MANZI M., NÓBREGA, D.B., FACCIOLI, P.Y., TRONCARELLI, M.Z., MENOZZI, B.D., LANGONI, H..(2012). **Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis.** Research Veterinary Science. 93 (1), 430-434. doi:10.1016/j.rvsc.2011.05.010

MARION FILHO, P.J., MOURA, A.C., BRITES, M., LORENZONI, R.K.. (2015). **Concentração regional e especialização na produção de leite do Rio Grande do Sul (1990-2010).** Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional. 11, 224-242.

- MARION FILHO, P.J., MOURA, A.C., BRITES, M., LORENZONI, R.K... (2016). **Especialização na produção de leite e concentração no Rio Grande do Sul.** Revista de Administração e Negócios da Amazônia. 8, 22-38. doi:10.18361/2176-8366/rara.v8n1p%25p
- MARION FILHO, P.J., FAGUNDES, J.O., SCHUMACHER, G.. (2011). **A produção de leite no Rio Grande do Sul: produtividade, especialização e concentração (1990-2009).** Revista de Economia e Agronegócio. 9 (2), 233-252. doi:10.25070/rea.v9i2.185
- MARQUES, V.F.. (2016). **Expressão gênica na formação do biofilme e resitência aos beta-lactâmicos em isolados de *Staphylococcus aureus* provenientes de leite mastítico bovino.** Tese, Ciências Veterinárias-UFRRJ, Seropédica- RJ.
- MARTIN, J.G.P.. (2011). **Resíduos de antimicrobiano em leite- uma revisão.** Segurança alimentar e nutricional. 18 (2), 80-87. doi:10.20396/san.v18i2.8634680
- MARTIN, P., BARKEMA H.W., BRITO, L.F., NARAYANA, S.G., MIGLIOR, F.. (2018). **Symposium review: Novel strategies to genetically improve mastitis resistance in dairy cattle.** Journal of Dairy Science. 101 (3), 2724-2736. doi: 10.3168/jds.2017-13554
- MARTINS, R., DA SILVA, J. A., NAKAZATO, L., DUTRA, V., DE ALMEIDA FILHO, E.. (2010). **Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT.** Ciência Animal Brasileira. 11(1), 181-187. doi:10.5216/cab.v11i1.5085
- MEDEIROS, F.M., BRUM, A.L.. (2015). O mercado do leite no rio grande do sul: evolução e tendências. Biblioteca digital- UNIJUI. Acessado em: 02 de junho de 2018. <http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3318/FL%C3%81VIO%20%20MERCADO%20DO%20LEITE%20NO%20RIO%20GRANDE%20DO%20SUL%20%20EVOLU%C3%87%C3%83O%20E%20TENDENCIAS.pdf?sequence=1>.
- MEIN, G. A.. (2012). **The role of the milking machine in mastitis control.** Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice – Mastitis in Dairy Cows. 28 (2), 307-320. doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.004
- MELO, D.A., MOTTA, C.C., ROJAS, A.C.C.M., SOARES, B.S., COELHO, I.S., COELHO, S.M.O., SOUZA, M.M.S.. 2018. **Characterization of Coagulase-Negative *Staphylococci* and pheno-genotypic beta lactam resistance evaluation in samples from bovine Intramammary infection.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 70 (2), 368-374. doi:10.1590/1678-4162-9209
- MENDONÇA, J.F.M., MONTEIRO, D.L., BARBOSA, B.I.M., MENDONÇA, L.C., BRITO, M.A.V.P., LANGE,C.C., GUIMARÃES, A.S., SOUZA, G.N.. (2016). **Variação da sensibilidade do exame microbiológico para identificação de *Staphylococcus aureus* em vacas individuais de um rebanho holandês infectado naturalmente por *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*.** Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP. 14 (3), 93-93.
- MENDONÇA, J.F.M., BRITO, M.A.V.P., LANGE, C.C., SILVA, M.R., RIBEIRO, J.B., MENDONÇA, L.C., SOUZA, G.N.. (2018). **Prevalence Reduction of Contagious Mastitis Pathogens in a Holstein Dairy Herd Under Tropical Conditions.** Journal of Veterinary Science & Technology. 9 (1). 497. doi:10.4172/2157-7579.1000497

MIDDLETON, J.R., (2013). ***Staphylococcus aureus* mastitis: Have we learned anything in the last 50 years?** In: NMC Regional Meeting Proceedings, 2013, Portland, Maine. Proceeding. Columbia: University of Missouri, 2013. Disponível em: Acesso em: 29 jul. 2015.

MILINSKI, C.C., VENTURA, C.A.A.. (2010). **Os impactos do programa nacional de melhoria da qualidade do leite-PMNQL na região de Franca-SP.** Revista Internacional Interdisciplinar INTERthesis. 7, 170-198. doi:10.5007/1807-1384.2010v7n1p170

MOTTA, R.G.. (2015). **Eficácia do ceftiofur no tratamento estendido intramamário da mastite subclínica por estafilococos em primíparas bovinas.** Tese- Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu-SP.

MUNOZ, M.A., AHLSTRÖM C., RAUCH B.J., ZADOKS R.N.. (2006). **Fecal Shedding of *Klebsiella pneumoniae* by Dairy Cows.** Journal of Dairy Science. 89 (9), 3425-3430. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72379-7

MUNOZ, M.A., ZADOKS, R N.. (2007a). **Short Communication: Patterns of Fecal Shedding of *Klebsiella* by Dairy Cows.** Journal of Dairy Science. 90 (3), 1220-1224. doi:10.3168/jds.S0022-0302(07)71610-7

MUNOZ, M.A., WELCOME, F.L., SCHUKKEN, Y.H., ZADOKS, R.N.. (2007). **Molecular Epidemiology of Two *Klebsiella pneumoniae* Mastitis Outbreaks on a Dairy Farm in New York State.** Journal of Clinical Microbiology. 45 (12), 3964-3971. doi:10.1128/JCM.00795-07

MURPHY, S.C., MARTIN, N.H., BARBANO, D.M., WIEDMANN, M.. (2016). **Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield?** Journal of Dairy Science. 99 (12), 10128-10149. doi:10.3168/jds.2016-11172

NAM H.M., LIM, S.K., KANG, H.M., KIM, J.M., MOON, J.S., JANG, K.C., KIM, J.M., JOO, Y.S., JUNG, S.C.. (2009). **Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea.** Journal of Dairy Science. 92 (5), 2020-2026. doi:10.3168/jds.2008-1739.

NAQVI, S.A., NOBREGA, D.B., RONKSLEY, P.E., BARKEMA, H.W.. (2018a). **Invited review: Effectiveness of precalving treatment on postcalving udder health in nulliparous dairy heifers: A systematic review and meta-analysis.** Journal of Dairy Science. 101 (6), 4707-4728. doi:10.3168/jds.2017-14301

NAQVI, S.A., DE BUCK, J., DUFOUR, S., BARKEMA, H.W.. (2018). **Udder health in Canadian dairy heifers during early lactation.** Journal of Dairy Science. 101 (4), 3233-3247. doi:10.3168/jds.2017-13579

NAWROTEK, P., CZERNOMYSY-FUROWICZ, D., BORKOWSKI, J., FIJAŁKOWSKI, K., POBUCEWICZ, A.. (2012). **The effect of auto-vaccination therapy on the phenotypic variation of one clonal type of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis.** Veterinary Microbiology. 155, 434-437. doi:10.1016/j.vetmic.2011.09.014

NCBI. (2017). **Taxonomy Browser**. National Center for Biotechnology Information. National Library of Medicine, U.S. Acessado em: 12 de julho de 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=543&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock>.

NEAVE, F.K., DODD, F.H., KINGWILL, R.G., WESTGARTH, D.R.. (1969). **Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management**. Journal of Dairy Science. 52 (5), 696-707. doi:10.3168/jds.S0022-0302(69)86632-4

NEAVE, F K, DODD, F H e KINGWILL, R G. 1966. **A method of controlling udder disease**. Veterinary Record. 78 (15), 521-523. doi:10.1136/vr.78.15.521

NIELSEN, C.. (2009). **Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows**. Tese. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.

NMC. (1979). **Coliform Mastitis - A Review**. Journal of Dairy Science. 62 (1), 1-22.

NMC. (2014). **Heifer Mastitis Prevention and Control Plan**. National Mastitis Council. Acessado em: 22 de junho de 2018. <http://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2018/04/NMC-Factsheet-Heifer-Mastitis-and-Control.pdf>. 8758-2146.

NMC. (2006). Udder Topics. National Mastitis Council. Acessado em: 12 de março de 2015. [http://nmconline.org/newsletters/UT35-01\\_02.pdf](http://nmconline.org/newsletters/UT35-01_02.pdf).

OLDE RIEKERINK, R.G., BARKEMA, H.W., KELTON, D.F., SCHOLL, D.T.. (2008). **Incidence Rate of Clinical Mastitis on Canadian Dairy Farms**. Journal of Dairy Science. 91 (4), 1366-1377. doi:10.3168/jds.2007-0757

OLDE RIEKERINK, R.G., BARKEMA, H.W., POOLE, D. (2008). **Risk factors for incidence rate of clinical mastitis in a nationwide study on Canadian dairy farms**. NMC. Proceedings of the 46th Annual Meeting of the National Mastitis Council. Madison, p. 204.

OLIVEIRA, C.S., HOGEVEEN, H., BOTELHO, A.M., MAIA, P.V., COELHO, S.G., HADDAD, J.P.. (2015). **Cow-specific risk factors for clinical mastitis in Brazilian dairy cattle**. Previne Veterinary Medicine. 121, 297-305. doi:10.1016/j.prevetmed.2015.08.001

OLIVEIRA, L., RUEGG, P.L.. (2014). **Treatments of clinical mastitis occurring in cows on 51 large dairy herds in Wisconsin**. Journal of Dairy Science. 97 (9), 5426-5436. doi:10.3168/jds.2013-7756.

OLIVEIRA, L., HULLAND, C., RUEGG, P.L.. (2013). **Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin**. Journal of Dairy Science. 96 (12), 7538-7549. doi:10.3168/jds.2012-6078

OVIEDO-BOYSO, J., VALDEZ-ALARCÓN, J.J., CAJERO-JUÁREZ, M., OCHOAZARZOSA, A., LÓPEZ-MEZA, J.E., BRAVO-PATIÑO, A., BAIZABAL-AGUIRRE, V.M.. (2007). **Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis**. The Journal of Infection. 54 (4), 399-409. doi:10.1016/j.jinf.2006.06.010

MARION FILHO, P.J., REICHERT, H., SCHUMACHER, G.. (2011). **A pecuária no Rio Grande do Sul: a origem, a evolução recente dos rebanhos e a produção de leite.** UFSM, Santa Maria-RS. acessado em 01 de novembro de 2018: [http://cdn.fee.tcche.br/eeg/6/mesa13/A\\_Pecuaria\\_no\\_RS-A\\_origem\\_Evolucao\\_Recente\\_dos\\_Rebanhos\\_e\\_a\\_Producao\\_de\\_Leite.pdf](http://cdn.fee.tcche.br/eeg/6/mesa13/A_Pecuaria_no_RS-A_origem_Evolucao_Recente_dos_Rebanhos_e_a_Producao_de_Leite.pdf)

PAULIN-CURLEE, G. G.. (2007). **Mastitis associated *Klebsiella pneumoniae* Isolates Show High levels of genetic diversity.** Dissertação. University of Minnesota. Minesota. p 24

PEREIRA, M.N.. (2013). **Agrupamento Nutricional de Vacas Leiteiras.** Revista Leite Integral. Acessado em: 16 de Novembro de 2018. <http://www.revistaleiteintegral.com.br/noticia/agrupamento-nutricional-de-vacas-leiteiras>.

PHYLPOT, W.N., NICKERSON, S.C.. (2002). **Vencendo a Luta Contra a Mastite.** Westfalia Landtechnik do Brasil: Milkbizz, Campinas-SP. p188

PIEPERS S., PEETERS, K., OPSOMER, G., BARKEMA, H.W., FRANKENA, K., DE VLIEGHER, S.. (2011). **Pathogen group specific risk factors at herd, heifer and quarter levels for intramammary infections in early lactating dairy heifers.** Preventive Veterinary Medicine. 99, 91-101. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.02.010

PIESSENS, V., VAN COILLIE, E., VERBIST, B., SUPRÉ, K., BRAEM, G., VAN NUFFEL, A., DE VUYST, L., HEYNDRIKX, M., DE VLIEGHER, S.. (2011). **Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds.** Journal of Dairy Science. 94 (6), 2933-2944. doi:10.3168/jds.2010-3956.

PINHEIRO, E.S.C.. (2016). **Eficácia do tratamento e vacinação de mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*.** Dissertação. Nutrição e Produção Animal, USP. Pirassununga-SP.

PINZÓN-SÁNCHEZ, C., RUEGG, P.L.. (2011). **Risk factors associated with short-term post- treatment outcomes of clinical mastitis.** Journal of Dairy Science. 94, 3397-3410. doi:10.3168/jds.2010-3925

PINZÓN-SÁNCHEZ, C., CABRERA, V.E., RUEGG, P.L.. (2011b). **Decision tree analysis of treatment strategies for mild and moderate cases of clinical mastitis occurring in early lactation.** Journal of Dairy Science. 94 (4), 1873-1892. doi:10.3168/jds.2010-3930

POL, M., RUEGG, P.L.. (2007). **Relationship Between Antimicrobial Drug Usage and Antimicrobial Susceptibility of Gram-Positive Mastitis Pathogens.** Journal of Dairy Science. 90 (1), 262-273. doi:10.3168/jds.S0022-0302(07)72627-9

PORTELA, V.O., MUMBACH, G.L., DIEL, M.I., BRAND, S.I., SILVA, D.R., DILL, R.P.. (2014). **Qualidade do leite nas propriedades de bovinocultura leiteira da região noroeste do RS, dados preliminares.** Revista Interdisciplinar de Ensino, Pesquisa e Extensão. 2 (1) 1-9.

QUINN, P J, MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; LEONARD, F.C.. (2005). **Microbiologia Veterinária e Doenças infecciosas.** Porto Alegre : ARTMED.

RADOSTITS, O.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D.. (2007). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats* 10<sup>a</sup> ed. Saunders Elsevier. 9780702039911.

RAUVERTAS, R.F., SHOOK, G.E.. (1982). **Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield.** *Journal of Dairy Science.* 65, 419-425. doi:10.3168/jds.S0022-0302(82)82207-8

REYES, J., CHAFFER, M., SANCHEZ, J., TORRES, G., MACIAS, D., JARAMILLO, M., DUQUE, P.C., CEBALLOS, A., KEEFE, G.P.. (2015). **Evaluation of the efficacy of intramuscular versus intramammary treatment of subclinical *Streptococcus agalactiae* mastitis in dairy cows in Colombia.** *Journal of Dairy Science.* 98 (8), 5294-5303. doi:10.3168/jds.2014-9199.

RIBEIRO, L.H., GRIGOL, N.. (2018). **CEPEA. Balança comercial.** Acessado em: 19 de maio de 2018. <https://www.cepea.esalq.usp.br/mercado-internacional-leite.aspx>.

ROBERSON, J.R. (2008). **Apparent efficacy of blanket clinical mastitis treatment.** *Proceedings of 41st Annual Convention American Association of Bovine Practitioners.* p 288.

ROBERSON, J.R.. (2012). **Treatment of clinical mastitis.** *Veterinary Clinical Food Animals.* 28 (2), 271-288. doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.011.

RODRIGUES, A.C.O.. (2008). **Identificação bacteriana a campo da mastite bovina para orientar protocolos de tratamento.** Tese- (Doutorado em Agronomia) ESALQ/USP.

ROSSI, B.F.. (2016). **Caracterização molecular e fenotípica de *Staphylococcus aureus* na mastite bovina subclínica.** Dissertação. Unesp-Botucatu.

ROY, J.P., KEEFE, G.. (2012). **Systematic Review: What is the Best Antibiotic Treatment for *Staphylococcus aureus* Intramammary Infection of Lactating Cows in North America?** *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 28 (1), 39-50. doi:10.1016/j.cvfa.2011.12.004.

ROY, J.P., DESCÔTEAUX, L., DUTREMBLAY, D., BEAUDRY, F., ELSENER, J.. (2009). **Efficacy of a 5-day extended therapy program during lactation with cephapirin sodium in dairy cows chronically infected with *Staphylococcus aureus*.** *The Canadian Veterinary Journal.* 50 (12), 1257-1262. PMID:20190974

ROYSTER, E., WAGNER, S.. (2015). **Review. Treatment of mastitis in cattle.** *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 31, 17-46. doi:10.1016/j.cvfa.2014.11.010

RUEGG, P.L. (2017). **A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention.** *Journal of Dairy Science.* 100 (12), 10381-10397. doi:10.3168/jds.2017-13023.

RUEGG, P.L., PANTOJA, J.C.F.. (2013). **Understanding and using somatic cell counts to improve milk quality.** *Irish Journal of Agricultural and Food Research.* 52, 101-117.

SACHET, A.P., BARON, C.P., FRANSISCATO, C., SILVA-NETO, A.F.. (2013). **Biossegurança em rebanhos leiteiros na agricultura familiar- Sudoeste paranaense.** *Archives of veterinary science.* 18 (3), 28-37. doi:10.5380/avs.v18i3.28839

SAINI, V., MCCLURE, J.T., LÉGER, D., DUFOUR, S., SHELDON, A.G., SCHOLL, D.T., BARKEMA, H.W.. (2012). **Antimicrobial use on Canadian dairy farms**. Journal of Dairy Science. 95 (3), 1209-1221. doi:10.3168/jds.2011-4527.

SALINA, A., JUNQUEIRA, N.B., LATOSINSKI, G.S., OLIVEIRA, G.C., JOAQUIM, S.F., PARDO, R.B., LANGONI, H.. (2017). **Importância da diferenciação dos *Streptococcus agalactiae* e não *agalactiae* nas mastites**. Veterinária e Zootecnia. 24 (1), 209-215.

SALVADOR, F.C., BURIN, A.S., FRIAS, A.A.T., OLIVEIRA, F.S., FAILA, N.. (2012). **Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Apucarana-PR e região**. Revista F@pciência.. 9 (5), 30-41.

SAMPIMON, O.C., BARKEMA, H.W., BERENDS, I.M.G.A., SOL, J., LAM, T.J.G.M.. (2009). **Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds**. Veterinary Microbiology. 134, 37-44. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.010

SANDGREN, C.H., WALLER, K.P., EMANUELSON, U.. (2008). **Therapeutic effects of systemic or intramammary antimicrobial treatment of bovine subclinical mastitis during lactation**. The Veterinary Journal. 175, 108-117. doi:10.1016/j.tvjl.2006.12.005

SANTOS, M V. (2012). **Cuidados com a higiene melhoram a contagem bacteriana total**. Mundo do Leite. 55, 13-16.

SANTOS, M V e FONSECA, L F. L. (2007). **Principais agentes causadores da mastite. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri : Manole.

SANTOS, M.V. (2007). **Boas práticas de produção associadas à higiene de ordenha e qualidade do leite**. livro. O Brasil e a nova era do mercado do leite- Compreender para competir. Piracicaba-SP: Agripoint LDTA, 1, 135-154.

SILVA, A.C., SILVA, F.F., BETT, V.. (2017). **A prevalência de mastites em vacas leiteiras do município de Carlinda (MT), no ano de 2016**. PUBVET- Medicina Veterinária e Zootecnia. 11 (8), 761-766. doi:10.22256/PUBVET.V11N8.761-766

SMITH, K.L., TODHUNTER, D.A., SCHOENBERGER, P.S.. (1985). **Symposium: Environmental Effects on Cow Health and Performance. Environmental Mastitis: Cause, Prevalence, Prevention**. Journal of Dairy Science. 68 (6), 1531-1553.

SOUZA, M.M.S., COELHO, S.M.O., COELHO, I.S., SOARES, B.S., MOTTA, C.C., MELO, D.A., DUBENCZUK, F.C., SANTIAGO, G.S., PIMENTA, R.L., MARQUES, V.F., ALENCAR, T.A.. **Antimicrobial resistance in animal production: an overview**. Revista Brasileira de Medicina Veterinária. 38 (3), 68-74.

SOUZA, M.P., AMIN, M.M., GOMES, S.T.. (2009). **Agronegócio Leite: Características da cadeia produtiva do estado de Rondônia**. Revista de Administração e Negócios da Amazônia. 1, (1) 01-20.

SUPRÉ, K., HAESEBROUCK, F., ZADOKS, R.N., VANEECHOUTTE, M., PIEPERS, S., DE VLIEGHER, S.. (2011). **Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder**

**heath more than others.** Journal of Dairy Science. 94 (5), 2329-2340. doi:10.3168/jds.2010-3741.

TAPONEN, S., LISKI, E., HEIKKILÄ, A.M., PYÖRÄLÄ, S.. (2016). **Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae, Corynebacterium bovis, or Escherichia coli.** Journal of Dairy Science. 100 (1), 493-503. doi:10.3168/jds.2016-11465

TENHAGEN, B.A., HANSEN, I., REINECKE, A., HEUWIESER, W.. (2009). **Prevalence of pathogens in milk samples of dairy cows with clinical mastitis and in heifers at first parturition.** Journal of Dairy Reserch. 76, 179-187. doi:10.1017/S0022029908003786

TODHUNTER, D.A., SMITH, K.L., HOGAN, J.S.. (1991). **Serratia Species Isolated from Bovine Intramammary Infections.** Journal of Dairy Science. 74 (6), 1860-1865.

TOMAZI, T., GONÇALVES, J.L., BARREIRO, J.R., ARCARI, M.A., DOS SANTOS, M.V.. (2015). **Bovine subclinical intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci increases somatic cell count but has no effect on milk yield or composition.** Journal of Dairy Science. 98 (5), 3071-3078. doi:10.3168/jds.2014-8466

TOMAZI, T., LEITE, R.F., ORSI, A.M., FERREIRA, G.C., GONÇALVES, J.L., DOS SANTOS, M.V.. (2015). **Prevalence of pathogens and severity of clinical mastitis in dairy herds of southeast brazil.** 54th Natinal Mastitis Council. 1, 195-196.

USDA. (2017). **Foreign Agricultural Service.** United States Department of Agriculture. Acessado em: 01 de Junho de 2018. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads>.

USDA. (2016). **Animal and Plant Health Inspection Service.** United States Department of Agriculture. Acessado em: 15 de Junho de 2018. [https://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/nahms/dairy/downloads/dairy\\_monitoring/BTSCC\\_2016infosheet.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy_monitoring/BTSCC_2016infosheet.pdf).

VALEEVA, N.I., LAM, T.J.G.M., HOGEVEEN, H.. (2007). **Motivation of Dairy Farmers to Improve Mastitis Management.** Journal of Dairy Science. 90 (9), 4466-4477. doi:10.3168/jds.2007-0095

VAN DEN BORNE, B. H. P., VERNOOIJ, J. C. M., LUPINDU, A. M., VAN SCHAİK, G., FRANKENA, K., LAM, T. J. G. M., & NIELEN, M. (2011). **Relationship between somatic cell count status and subsequent clinical mastitis in Dutch dairy cows.** Preventive Veterinary Medicine, 102(4), 265–273. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.07.013

VIDAL-MARTINS, A.M.C., BÜRGER, K.P., GONÇALVES, A.C.S., GRISÓLIO, A.P.R., AGUILAR, C.E.G., ROSSI, G.A.M.. (2013). **Avaliação do consumo de leite e produtos lácteos informais e do conhecimento da população sobre os seus agravos à saúde pública, em um município do Estado de São Paulo, Brasil.** Revista Indústria animal. 70 (3), 221-227. doi:10.17523/bia.v70n3p221

DE VLIEGHER, S., FOX, L.K., PIEPERS, S., MCDOUGALL, S., BARKEMA, H.W.. (2012). **Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease,potential impact,**

**prevention, and control.** Journal of Dairy Science. 95 (3), 1025-1040. doi:10.3168/jds.2010-4074.

WALKER, J.B., RAJALA-SCHULTZ, P., DEGRAVES, F.J.. (2010). **Brief research reports: The effect of inoculum volume on the microbiologic detection of naturally occurring *Staphylococcus aureus* intramammary infections.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 22 (5), 720-724. doi:10.1177/104063871002200508

WANDERLEY, G.G.. (2015). **Proposta de um programa de qualidade de leite e controle da mastite em rebanho bovino de vacas holandesas.** Dissertação-UNESP, Botucatu-SP.

WILSON, C.D., DAVIDSON, I.. (1961). **The control of staphylococcal mastitis.** Veterinary Reserch. 73, 321-323.

ZADOKS, R.N., ALLORE, H.G., HAGENAARS, T.J., BARKEMA, H.W., SCHUKKEN, Y.H.. (2002). **A mathematical model of *Staphylococcus aureus* control in dairy herds.** Epidemiology and Infection. 129 (2), 397-416. doi:10.1017/S0950268802007483

ZAFALON, L.F., NADER FILHO, A., OLIVEIRA, J.V., RESENDE, F.D.. (2007). **Mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*: custo benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação.** Arquivo brasileiro Medicina veterinária e Zootecnia. 59 (3), 577-585. doi:10.1590/S0102-09352007000300005.

ZANARDI, G., CAMINITI, A., DELLE DONNE, G., MORONI, P., SANTI, A., GALLETI, G., TAMBA, M., BOLZONI, G., BERTOCCHI, L.. (2014). **Short communication: Comparing real-time PCR and bacteriological cultures for *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus* in bulk-tank milk samples.** Journal of Dairy Science. 97 (9), 5592-5598. doi:10.3168/jds.2014-7947

ZHANG, S., PIEPERS, S., SHAN, R., CAI, L., MAO, S., ZOU, J., ALI, T., DE VliegHER, S., HAN, B.. (2018). **Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance profiles in *Streptococcus dysgalactiae* isolated from bovine clinical mastitis in 5 provinces of China.** Journal of Dairy Science. 101 (4), 3344-3355. doi:10.3168/jds.2017-14031

ZIECH, R E, BALZAN, C.; NILES, C.R.R.; VARGAS, A.C.; LAMPUGNANI, C.; PERIN, A.P.. 2013. **Ocorrência e etiologia da mastite subclínica e avaliação da qualidade microbiológica do leite cru na região central do RS.** Anais do V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. 139-140,

ZILLI, J.B., CANDATEN, J., NUNES, L.. (2015). **Efeitos das alterações no preço e na produtividade da produção de leite no Rio Grande do Sul.** Teoria e Evidência Econômica. 45, 332-352. doi:10.5335/rtee.v21i45.6190

ZUCALI, M., BAVA, L., TAMBURINI, A., BRASCA, M., VANONI, L., SANDRUCCI, A.. (2011). **Effects of season, milking routine and cow cleanliness on bacterial and somatic cell counts of bulk tank milk.** Journal of Dairy Science. 78 (4), 436-441. doi:10.1017/S0022029911000598

## 7. ANEXOS

Anexo 01. Questionário aplicado na primeira visita aos produtores.

<b>Questionário socioeconômico e Checklist das atividades relacionadas à qualidade do leite</b>	
Nome do produtor:	
Endereço:	
Questões sobre aspectos gerais de manejo da fazenda	
Variável	Classes
Classificação CBT:	
Classificação CCS:	
Número de vacas em lactação:	
Média de produção diária:	
Sistema de produção: ( ) Confinamento total; ( ) Semiconfinamento; ( ) à pasto	
Obs: _____	
Base do alojamento: ( ) Concreto; ( ) terra; ( ) borracha; ( ) serragem	
Obs: _____	
Tipo de cama utilizado: ( ) Areia, ( ) serragem/maravalha, ( ) colchao	
Obs: _____	
Área total da propriedade:	
Área destinada a pecuária de leite	

Questões sobre manejo de ordenha	
Variável	Classes
Tipo de Ordenha: ( ) Balde ao pé, ( ) canalizada	
Nº de conjuntos de ordenha: ( ) 01; ( ) 02; ( ) 03; ( ) 04; ( ) 05; ( ) 06;	
Nº de ordenhas/ dia: ( ) 01; ( ) 02; ( ) 03.	
Quantas pessoas fazem a ordenha ( ) 01; ( ) 02; ( ) 03; ( ) 04	
É feito linha de ordenha ( ) sim; ( ) Não Obs: _____	
Realiza a sanitização dos equipamentos pré ordenha	( ) sim, ( ) não, Produto: _____
O ordenhador lava as mãos antes e durante a ordenha?	( ) sim, ( ) não, Produto: _____
Uso de luvas pelo ordenhador	( ) sim, ( ) não;
Presença de bezerro ao pé	( ) sim, ( ) não;
Lava os tetos com água	( ) sim, ( ) não;
Os pelos ao redor dos tetos são queimados	( ) sim, ( ) não;
É retirado os 3 primeiros jatos de leite	( ) sim, ( ) não;
É feito o teste da caneca de fundo preto	( ) sim, ( ) não; Frequência: _____
É feito o pré-dipping	( ) sim, ( ) não, Tempo até a secagem: _____ Produto: _____
uso de papel toalha	( ) 1 por teto; ( ) 2 tetos ou mais com o mesmo papel; ( ) Não
Faz o pós-dipping	( ) sim, ( ) não; Cobrir no mínimo 2/3 do teto: Produto: _____
tempo de refrigeração do leite	Quantas horas até a temperatura de 4°C:
Faz alguma anotação durante a ordenha	

Continuação anexo 01.

Questões sobre procedimentos de limpeza de equipamento de ordenha e utensílios	
Variável	Classe
Origem da água:	
Dureza da água:	
pH da água:	
Enxágue com água morna: ( ) Sim; ( ) Não; Temperatura:	
Lavagem com alcalino: Concentração:	Tempo: Temperatura:
Produto:	
Enchague entre o alcalino e o ácido: ( ) Sim; ( ) Não	
Frequência da utilização do ácido: dias/semana	T°: °C
Quando e como é realizado a limpeza do tanque:	
Capacidade do Tanque:	
Presença de filme orgânico na teteira:	
Presença de filme orgânico no filtro da unidade final:	
Presença de filme orgânico na saída do tanque de expansão:	
Presença de filme orgânico no copo coletor:	

A cada quanto tempo é trocada as teteiras:

Questões socioeconômicas	
Questão	Resposta
Escolaridade: ( ) Fundamental incompleto; ( ) Fundamental completo; ( ) Ensino Médio Incompleto; ( ) Ensino Médio Completo; ( ) Graduação Incompleto; ( ) Graduação Completo.	
Renda mensal do leite	( ) <R\$788,00; ( ) <R\$1576; ( ) <R\$2364; ( ) >R\$2364, ( ) Não sei
Qual a principal atividade da propriedade: ( ) Leite; ( ) Agricultura; ( ) Outras:	
Qual a importância econômica do leite: ( ) Principal; ( ) Secundária; ( ) Complementar; ( ) Pouca ou nenhuma importância	
Quais e quantos funcionários existem na propriedade envolvidos com o leite: Familiar:	Permanentes: Temporários:
Qual o tipo de assistência técnica possui: ( ) Veterinário Particular; ( ) Cooperativa; ( ) Não possui assistência definida	
Quem são os envolvidos na atividade leiteira:	
Quantos anos é produtor de leite:	

Continuação anexo 01

Questões sobre conhecimentos a respeito de CCS e CBT	
Questão	Respostas
O que é mastite?	
Qual é o maior prejuízo relacionado à mastite?	
Quais as causas mais prováveis de mastite na sua propriedade, ou em geral?	
Qual o tratamento utilizado para mastite?	
É utilizado antiinflamatório nos tratamentos?	
Como prevenir a mastite?	
O que é mastite subclínica?	
O que é CCS (Contagem de Células Somáticas)?	
Qual a importância da mastite para a qualidade do leite?	
O que é CBT (Contagem Bacteriana Total)?	
Quais as causas da alta contagem de Bactérias?	
Quais os prejuízos relacionados a alta CBT?	
Como é feito para prevenir a alta CBT?	
Conhece as exigências legais de CCS e CBT?Quais?	

Continuação questionário 01.

<b>Questões sobre práticas de prevenção de mastite, higiene de ordenha e equipamentos utilizados no rebanho</b>	
<b>Variável</b>	<b>classes</b>
Anota os casos de mastite clínica	( )Sim; ( )Não; Quantos/mês?
Anota protocolos de tratamento de mastite	( )Sim; ( )Não; Quais?
utiliza antibioticos para tratamentos de mastite	( )Sim; ( )Não; Quais?
Faz tratamento de vacas secas	( )Sim; ( )Não; Procedimento e produto?
Faz CMT	( )Sim; ( )Não; Frequência:
Faz CCS individual dos animais	( )Sim; ( )Não; Frequência:
Já fez cultura para diagnóstico do agente causador	( )Sim; ( )Não; Resultados:
Descarta animais com mastite	( )Sim; ( )Não
Número de casos/ mês de mastite	
Já utilizou ou utiliza algum tipo de vacina para mastite	( )Sim; ( )Não; Quais?

<b>Características da mão de obra na atividade leiteira</b>
Quem faz a ordenha das vacas?
Quem faz o trato dos animais?
Quem faz o manejo dos bezerras?

<b>Informações Técnicas</b>	
<b>Quais assuntos o senhor gostaria receber mais informações</b>	
( ) alimentação do rebanho	( ) Produção de leite com qualidade
( ) Melhoramento Genético	( ) Manejo do rebanho
( ) Sanidade do Rebanho	( ) Gerenciamento da produção
Outros:	

<b>Quais as maiores dificuldades que encontra na atividade</b>	
( ) Preço recebido pelo leite	( ) Falta de financiamento
( ) Falta de Informação	( ) Falta de pessoal especializado
( ) Outras	