

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**MONITORAMENTO DA INFLUÊNCIA DE MEDIDAS TERAPÊUTICAS E  
HIGIÊNICO-SANITÁRIAS SOBRE A ETIOPATOGENIA E A PRODUÇÃO  
LEITEIRA EM UM REBANHO LEITEIRO DE TAQUARA, REGIÃO DO VALE DO  
RIO DOS SINOS, RS.**

**Jorge José Bangel Jr.**

**Dissertação apresentada para obtenção do título  
de Mestre, junto à Faculdade de Medicina  
Veterinária da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul.**

**Orientador:**

**Prof. Dr. Laerte Ferreiro**

**Porto Alegre**

**2004**

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Porcentual das diferentes categorias produtivas que compunham o rebanho leiteiro no início do trabalho, em 1990, e no final, em 2002..... 22
- Figura 2** - Evolução da média individual de produção de leite no rebanho ao longo dos anos ..... 23
- Figura 3** - Distribuição porcentual dos principais agentes isolados durante o período do estudo, comparado com o número de amostras positivas em cada ano..... 27

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Dados comparativos da característica da propriedade quanto aos animais e da produção destes, entre o ano de 1990 no início do estudo e 2002 no seu término.....	22
<b>Tabela 2</b>	Distribuição do número de animais com quartos perdidos por categoria e número de quartos afetados, durante a primeira visita em 1990.....	23
<b>Tabela 3</b>	Distribuição porcentual dos diferentes tipos de mamites nas amostras analisadas durante os anos de estudo.....	24
<b>Tabela 4</b>	Número de amostras testadas para isolamento microbiológico, com seus respectivos resultados conforme o ano de estudo.....	25
<b>Tabela 5</b>	Distribuição porcentual dos agentes isolados durante o período do estudo, nas amostras de leite que apresentaram mamite subclínica.....	25
<b>Tabela 6</b>	Distribuição porcentual dos agentes isolados durante o período do estudo, nas amostras de leite que apresentaram mamite clínica.....	26
<b>Tabela 7</b>	Resultado da análise estatística comparando todos os anos do estudo com os diferentes tipos de mamite e o número de quartos afetados.....	28
<b>Tabela 8</b>	Resultado da análise estatística comparando o número de quartos afetados com o total de animais, no início (1990) e no final do estudo (2002).....	29

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	03
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	04
<b>RESUMO</b> .....	06
<b>ABSTRACT</b> .....	07
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	08
<b>2 CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DO PROBLEMA</b> .....	09
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	12
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	15
<b>4.1 População Estudada</b> .....	15
<b>4.2 Método Higiêncio-Sanitário e Manejo</b> .....	15
<b>4.2.1 Programa de Controle de Mastite</b> .....	16
<b>4.2.2 Fatores Ambientais</b> .....	16
<b>4.2.3 Ordenhadeira</b> .....	17
<b>4.2.4 Estabelecimento de Hábitos de Ordenha Adequados</b> .....	17
<b>4.2.5 Terapia da Vaca Seca</b> .....	18
<b>4.2.6 Abate ou segregação de animais infectados</b> .....	18
<b>4.2.7 Melhoramento Genético do Rebanho</b> .....	18
<b>4.3 Método Bacteriológico</b> .....	18
<b>4.4 Análise Estatística</b> .....	21
<b>5 RESULTADOS</b> .....	22
<b>5.1 Análise Clínica</b> .....	22
<b>5.2 Análise Microbiológica</b> .....	24
<b>5.3 Análise Estatística</b> .....	27
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	30
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35

## RESUMO

### MONITORAMENTO DA INFLUÊNCIA DE MEDIDAS TERAPÊUTICAS E HIGIÊNICO-SANITÁRIAS SOBRE A ETIOPATOGENIA E A PRODUÇÃO LEITEIRA EM UM REBANHO LEITEIRO DE TAQUARA, REGIÃO DO VALE DO RIO DOS SINOS, RS.

A mastite bovina é comprovadamente um dos maiores problemas atuais da pecuária leiteira no Brasil e no mundo, acarretando ônus aos produtores, à indústria e ao consumidor final. Numa propriedade leiteira do município de Taquara, Rio Grande do Sul, Brasil, diversas medidas terapêuticas e higiênico-sanitárias foram introduzidas com o objetivo de monitorar sua influência sobre a produção leiteira e a etiopatogenia dos agentes envolvidos nos casos de mastite. No início dos trabalhos, em 1990, mais de 70% dos animais apresentavam pelo menos um quarto mamário com mamite clínica, sendo que ao final do estudo, em 2002, nenhum caso clínico da enfermidade foi relatado, tendo sido eliminado completamente agentes como *Streptococcus agalactiae*, *Arcanobacterium pyogenes* e *Nocardia* spp. O conjunto de medidas introduzidas elevou a produção/dia da propriedade em mais de 600%, melhorando a qualidade genética e sanitária do rebanho. Apesar de ainda existirem casos esporádicos de mamite subclínica, as mudanças favoreceram na identificação de problemas ou falhas no processo, possibilitando medidas rápidas e eficazes de controle e tratamento.

## **ABSTRACT**

### **MONITORING OF THE INFLUENCE OF THERAPEUTIC AND HYGIENIC-SANITARY MEASURES ABOUT ETIOPATOGENY AND THE MILKING PROCESS IN A DAIRY HERD OF TAQUARA, VALE DO RIO DOS SINOS, RS.**

*The bovine mastite is one of the largest problems of dairy herds in Brazil and all over the world, resulting in losses to producers, to industry and the final consumer. In a dairy herd of the district of Taquara, Rio Grande do Sul, Brazil, several therapeutic and hygienic-sanitary measures were introduced with the objective of monitoring the influence on the milking process and the etiopatogeny of the agents involved in cases of mastitis. In the beginning of the study, in 1990, more than 70% of the animals presented at least one mammary quarter with clinical mastitis, and at the end of the study, in 2002, no clinical cases of the illness was related, having been completely eliminated agents as **Streptococcus agalactiae**, **Arcanobacterium pyogenes** and **Nocardia** spp. The group of introduced measures elevated the production of the property, per day, in more than 600%, improving the genetic and sanitary quality of the flock. In spite of sporadic cases of subclinical mamitis that still exist, the measures provided a support in the identification of problems or flaws in the process, making possible fast and effective action of control and treatment.*

## **1 INTRODUÇÃO**

Tem sido demonstrado que os programas para melhorar a qualidade do leite e reduzir a mastite resultam em aumento da produtividade dos produtores e em maior lucratividade para todos os segmentos da cadeia laticinista. Essas melhorias são geralmente o resultado de: (a) o aumento da produção de leite e da produtividade de cada animal; (b) a dinamização do mercado pela possibilidade de elaboração de derivados de alta qualidade; e (c) a implementação de princípios de qualidade que garantam melhorar a imagem tanto da indústria local quanto nacional.

É necessário, portanto, investigar os fatores técnicos, econômicos e gerenciais relacionados à melhoria da qualidade do leite, para que se possa organizar com mais segurança a melhor forma de monitoramento dos rebanhos e garantir a lucratividade dos produtores.

Este trabalho tem como objetivo identificar as ações terapêuticas e higiênico-sanitárias que possam ter influenciado na prevalência da mastite bovina e suas conseqüências na produtividade do rebanho leiteiro através da comparação observada entre os períodos de 1990-1995 e 2002.

As informações geradas poderão contribuir para o aprimoramento dos programas de controle adaptáveis à realidade de rebanhos leiteiros similares ao estudado.

## 2 CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DO PROBLEMA

O controle da mastite bovina requer atenção simultânea a vários fatores relacionados ao animal (ENEVOLDSEN *et al.* 1995), aos agentes e ao ambiente (SCHKKEN *et al.*, 1991; BARTLETT *et al.*, 1992; GOLDBERG *et al.*, 1992; FENLON *et al.*, 1995; WILSON *et al.*, 1997; BARKEMA *et al.*, 1998) e que podem ser responsáveis, individualmente ou em conjunto, pela incidência e severidade da doença nos rebanhos. Um componente essencial do controle é o programa de monitoramento adotado (HONKANEN-BUZALSKI *et al.*, 1995). Normalmente esses programas compreendem um sistema de vigilância, que visa detectar a doença o mais cedo possível e um protocolo de monitoramento, que permite identificar as alterações ocorridas no rebanho ou no quadro da doença (KELTON *et al.*, 2000). O sistema de vigilância depende de fatores como tamanho e particularidades do rebanho, objetivos do produtor, forma de obtenção de dados e apoios laboratorial e técnico (BRITO *et al.*, 1999).

Os dados referentes às infecções subclínicas, consideradas como sendo 15 a 40 vezes mais freqüentes que as manifestações clínicas da doença (PHILPOT *et al.*, 1991), são normalmente obtidos usando-se métodos laboratoriais que detectam a presença da infecção ou alterações inflamatórias, desde que sejam obtidos dados relevantes dos animais ou do rebanho. Os métodos mais usados com essa finalidade são a contagem de células somáticas (CCS) e os que detectam o problema junto ao rebanho, dentre eles, o Califórnia Mastitis Test (CMT) (HILLERTON, 2000). Já para as formas clínicas, as informações são úteis quando obtidas através de medidas de incidência, em que é possível se registrar o número de novos casos em um determinado período de tempo (HONKANEN-BUZALSKI *et al.*, 1995).

A qualidade do leite é determinada por aspectos de composição e de higiene. A qualidade composicional é influenciada principalmente pela alimentação, manejo, patrimônio genético e raça, enquanto os parâmetros higiênicos são decisivos para a segurança do

alimento, e podem, também, influenciar a composição do leite. Isso é evidente em animais com problemas de mastite, que normalmente apresentam números elevados de células somáticas (células de defesa, especialmente leucócitos e macrófagos que migram da corrente circulatória para a glândula mamária) no leite (HEESCHEN, 1996). A inflamação da glândula mamária e os distúrbios da secreção causam alterações na composição e nas propriedades físico-químicas do leite (SANDHOLM *et al.*, 1986). Essas mudanças são significativas tanto sob o aspecto nutricional quanto tecnológico, uma vez que componentes do leite como proteínas, gordura e lactose são alterados.

Dependendo do número de células somáticas, a composição do leite, a atividade enzimática, o tempo de coagulação e a produtividade e qualidade dos derivados lácteos, são influenciados negativamente (KITCHEN, 1981; MUNRO *et al.*, 1984). Altas contagens de células somáticas (CCS) são associadas a reduções da produção de leite e dos teores de caseína, gordura e lactose (BRAMLEY *et al.*, 1996). Além disso, são responsabilizadas por interferência na produção de leite condensado ou evaporado, no rendimento de queijos e outros produtos e redução da vida de prateleira (KITCHEN, 1981). Com exceção de variações diárias normais, poucos outros fatores, além do caráter infeccioso têm impacto significativo sobre a CCS do leite de animais individuais (HARMON, 1994; SALONIEMI, 1995). Dessa forma, os programas para reduzir a CCS dos rebanhos leiteiros são relacionados tanto aos programas de prevenção e controle da mastite quanto aos de melhoria da qualidade do leite.

O monitoramento (aqui definido como a avaliação regular e constante com o objetivo de identificar mudanças) do rebanho, ou de atividades específicas dentro do rebanho, é um processo indispensável para que o investimento realizado pelo produtor rural tenha rentabilidade (SHEARER *et al.*, 1992). No monitoramento de rebanhos é essencial a existência de um sistema em que o fazendeiro e ou o técnico possam reconhecer quando

surtem problemas ou quando mudanças devem ser implementadas (RADOSTITIS *et al.*, 1994).

Há necessidade, por outro lado, que os produtores de leite obtenham retorno econmico pelos investimentos realizados. A melhoria da qualidade do leite depende, em grande parte, do controle das infecções da glândula mamária que resultam em mastite e que são responsáveis, na prática, por aumentos substanciais das contagens de células somáticas do leite. Depende, ainda, de mudanças na forma de gerenciamento dos rebanhos, especialmente em relação  adoção de práticas de manejo adequadas e adoção de princípios higiênicos na obtenção, armazenamento e transporte do leite. Para que ocorram essas mudanças, são necessárias mudanças de atitude do produtor e um dos caminhos é o reconhecimento das vantagens econmicas advindas da adoção das medidas preconizadas. Essas informações devem ser geradas considerando-se a situação particular de cada país ou região, porque elas não são transferíveis de um país para outro.

Diante do exposto acima, fica evidenciada a necessidade da investigação dos vários fatores relacionados à melhoria na qualidade do leite, e aumento da produção leiteira tomando-se como base o estudo analítico oriundo dos dados obtidos ao longo de alguns anos de monitoramento de um rebanho leiteiro.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Conforme recente levantamento da produção científica brasileira sobre mastite bovina (BRITO *et al.*, 1996), a parte relativa à identificação dos agentes etiológicos da mastite bovina já vem sendo efetuada desde longa data em diversas bacias leiteiras, como pode ser verificado através de diversas publicações (LANGENEGGER *et al.*, 1970; HARROP *et al.*, 1975; FERREIRO *et al.*, 1981; FERREIRO *et al.*, 1985; NADER FILHO *et al.*, 1985; LANGONI *et al.*, 1991; COSTA *et al.*, 1995; BRITO *et al.*, 1999).

Entretanto, nas duas últimas décadas, os critérios para definição da qualidade do leite cru mudaram consideravelmente para atender demandas da indústria e dos consumidores. De acordo com Korhonen (1997) essas mudanças podem ser atribuídas a vários fatores: condições de produção de leite na propriedade rural (alimentação, genética, higiene, controle de mastite, resfriamento do leite); tecnologias usadas no processamento do leite (leite UHT), demandas do consumidor por alimentos mais saudáveis (redução de gordura, colesterol e lactose, aumento de cálcio, produtos mais ricos em proteína); mudanças nos padrões nacionais e internacionais e nas legislações relacionadas aos produtos lácteos e o desenvolvimento de procedimentos e métodos laboratoriais.

As demandas citadas visam especialmente adequar os produtos lácteos aos requisitos de segurança alimentar e de qualidade exigidos para o consumo humano e o rendimento industrial (HURST, 1993). As exigências do consumidor, que determinam em última análise, o sucesso da indústria como um todo, incluem: alta qualidade higiênica, alto valor nutritivo e garantia das propriedades organolépticas típicas (HEESCHEN *et al.*, 1995). Esses requisitos devem ser atendidos pelo leite cru, pois nenhum processamento industrial é suficiente para melhorar o leite se ele não tem qualidade. Produzir leite com qualidade e garantir que a qualidade se mantenha após o leite deixar a fazenda é o maior desafio que a indústria laticinista enfrenta em todas as regiões produtoras.

O desenvolvimento e a implementação de programas efetivos de controle da mastite bovina foram facilitados pela melhor compreensão da epidemiologia da doença, especialmente na sua forma subclínica. O controle dos agentes responsáveis pelas infecções subclínicas depende da implementação de um conjunto de medidas, conhecido como o programa dos cinco pontos, que foi desenvolvido por investigadores britânicos e voltado especialmente para o manejo da ordenha (BRAMLEY *et al.*, 1984). O relativo fracasso dessas medidas para o controle das infecções causadas pelos patógenos "do ambiente" indicaram a necessidade de se ampliar o conjunto de medidas considerando o ambiente e o manejo no intervalo entre ordenhas (BARTLETT *et al.*, 1992; SMITH *et al.*, 1993; BARKEMA *et al.*, 1998; BRITO *et al.*, 1999).

Estudos epidemiológicos analíticos são úteis para aprimorar os programas de controle da mastite que resultam na redução da inflamação do úbere dos animais e, conseqüentemente, na redução da CCS dos rebanhos (HUTTON *et al.*, 1990; WILSON *et al.*, 1997; BARKEMA *et al.*, 1998). Vários estudos apontam fatores ligados aos procedimentos de ordenha e outros ligados ao manejo dos animais que permitem alcançar o objetivo de produzir leite com baixa CCS (TARABLA *et al.*, 1990; AGABRIEL *et al.*, 1997). Outros estudos apontam diferenças marcantes de manejo e de atitude da mão-de-obra entre rebanhos com baixa e alta CCS (HUTTON *et al.*, 1990; FENLON *et al.*, 1995), sendo evidenciada a importância do detalhamento das operações, o que poderia explicar diferenças entre resultados obtidos por diferentes investigadores quando usam os mesmos procedimentos (HUTTON *et al.*, 1990).

Nos próximos anos espera-se crescimento da demanda junto aos produtores para produzir leite com mais qualidade, especialmente do ponto de vista da segurança alimentar. No Brasil, pela primeira vez, estarão sendo incorporadas na legislação exigências sobre níveis de células somáticas. Procedimentos que permitem a redução da CCS do leite de rebanhos são conhecidos e amplamente adotados nos países de indústria leiteira desenvolvida e são os

mesmos referidos acima para o controle da mastite subclínica (FENLON *et al.*, 1995; AGABRIEL *et al.*, 1997; BARKEMA *et al.*, 1998). Informações sobre o manejo adotado em rebanhos com alta e baixa CCS no Brasil são praticamente inexistentes, parcialmente em razão da introdução recente de equipamentos automatizados que permitem o acompanhamento de rebanhos e o exame de grande número de amostras em curto espaço de tempo. Por outro lado, tem havido um aumento da profissionalização do setor, como pode ser verificado pelo aumento da produção de leite no país nos últimos dez anos, com aumento do uso de equipamentos de ordenha e outros.

A necessidade de investimento em programas para melhorar a qualidade do leite cru antes que ele seja retirado da fazenda é reconhecida (HEESCHEN, 1996; GODKIN, 1998; SMITH *et al.*, 1998; WELLS *et al.*, 1998). Especialistas dos Estados Unidos vêm chamando a atenção nos últimos anos para a necessidade de aumentar a competitividade dos produtos lácteos americanos em relação aos europeus, especialmente em termos dos limites de CCS. A previsão de alguns desses especialistas, é que, em longo prazo, o Brasil terá condições de passar de importador para exportador de leite e derivados lácteos, competindo por mercados com os Estados Unidos. Essa competição, entretanto, só será possível quando o leite cru produzido no Brasil atender critérios de qualidades exigidos internacionalmente.

Formas e maneiras de monitoramento da qualidade do leite devem ser disponibilizadas aos produtores por organismos de fiscalização do Ministério da Agricultura e Secretarias de Agricultura estaduais e municipais, cooperativas ou indústrias de laticínios, laboratórios de diagnóstico e de controle de qualidade oficiais ou privados, veterinários e outras fontes. Os objetivos dessas diferentes fontes ou organizações podem variar, mas, em geral, devem buscar proteger a saúde pública, oferecer meios de monitoramento da qualidade do produto e indicar o estado da saúde do úbere dos animais (SHEARER *et al.*, 1992; BRITO *et al.*, 2001).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS:**

### **4.1 População Estudada**

Para o estudo proposto foi selecionado o rebanho leiteiro do Instituto Adventista Cruzeiro do Sul (IACS), situado no município de Taquara, que faz parte de uma importante bacia leiteira do Rio Grande do Sul, onde se encontram pequenas propriedades (em torno de 20 a 30 animais) com produção média de 3.500 litros por vaca em lactação.

A escolha do rebanho deve-se ao fato de que o mesmo foi por nós acompanhado em todas etapas, fazendo com que os dados dos animais: identificação, nº de lactações, data do parto, ocorrência de mastites clínicas, subclínicas e outros problemas sanitários, tratamentos efetuados (embasados no teste de sensibilidade a antimicrobianos), produtos, duração do tratamento e eficácia tenham sido catalogados sob padrões e conceitos uniformes.

Os dados para gerar informações epidemiológicas serão obtidos do estudo comparativo entre a realidade encontrada no período de 1990 e acompanhada regularmente até 2002, com o padrão atual da mastite e seus reflexos na produtividade do rebanho do IACS. O número de vacas em lactação, a produtividade, os resultados do VMT e dos exames microbiológicos e os respectivos agentes etiológicos serão tabulados, possibilitando o monitoramento mensal do rebanho.

### **4.2 Método Higiênico-Sanitário e Manejo**

Procedimentos de manejo e medidas higiênico-sanitárias foram implementadas a fim de melhorar a qualidade do rebanho e do produto final obtido. Foram trabalhados os seguintes pontos:

#### 4.2.1 Programa de Controle de Mastite

Desenvolvimento um programa de controle de mastite para o rebanho específico, trabalhando sempre de acordo com os procedimentos do veterinário responsável e com a ajuda do tratador, cabanheiro, ordenhador e os laboratoristas responsáveis pela coleta e teste das amostras.

- Tratamento dos casos clínicos, de acordo com as diretrizes do veterinário, levando em consideração os resultados dos T. S. A. e as implicações de resíduos de antimicrobianos;
- Uso do teste de VMT para detectar os casos de mastite subclínica e monitorar o padrão sanitário do rebanho;
- Uso do apoio laboratorial para identificar culturas dos organismos infecciosos envolvidos nos casos de mastite;
- Manter dados individuais dos animais e utilizá-los para obter informações referentes à saúde, agentes infecciosos, resposta a antimicrobianos entre outros;
- Monitoramento regular da propriedade para determinar o nível da mastite no rebanho, identificar problemas ou falhas na questão higiênica, determinar a eficácia do tratamento clínico e de vaca seca e monitorar as práticas sanitárias.

#### 4.2.2 Fatores Ambientais

- Manter animais limpos e secos;
- Providenciar camas secas e instalações que minimizem os riscos de danos aos tetos e aos quartos, maximizando o conforto dos animais;
- Providenciar fácil acesso a uma água de qualidade e comida fresca assim que os animais deixam a sala de ordenha a fim de mantê-las em pé por uma hora seguida à ordenha, fornecendo tempo para o esfínter do teto feche adequadamente.

#### 4.2.3 Ordenhadeira

- Providenciar a checagem completa do equipamento pelo menos duas vezes ao ano;
- Eliminar flutuações erráticas de vácuo, providenciando uma ordenha rápida e completa;
- Troca de equipamentos de acordo com as recomendações dos fabricantes.

#### 4.2.4 Estabelecimento de Hábitos de Ordenha Adequados

- Garantir que os animais estejam limpos e secos ao entrar na sala de ordenha;
- Lavar a parte inferior dos quartos com água corrente massageando os tetos estimulando assim a descida do leite;
- Secar os quarto com toalhas de papel descartável e individual;
- Desprezar 2-3 jatos de leite em um fundo escuro, observando qualquer sinal de anormalidade;
- Uso da pré-imersão dos tetos em produtos específicos para este uso por 20-30 segundos com posterior secagem dos mesmos com papel toalha descartável e individual;
- Encaixe das ordenhadeiras até um minuto após o início dos preparativos, para aproveitamento total do estímulo do hormônio ocitocina liberado;
- Preparação do número apropriado de animais ao qual o(s) ordenhador(es) possa(m) lidar;
- Complete a ordenha adequadamente. Desligue o vácuo antes de remover o equipamento. A ordenha completa aumenta a produção e ajuda na recuperação de animais com mastite;
- Uso de pós-imersão dos tetos em produtos específicos para este uso, por 15-20 segundos, eliminando o excesso com papel toalha descartável e individual, antes que o animais saia da sala de ordenha.

#### **4.2.5** Terapia da Vaca Seca

- Tratamento de todos os quartos de todos os animais, com produtos específicos para este uso, no estágio de secagem destes;
- Cuidados específicos durante a infusão do produto, seguindo as regras recomendadas pelos fabricantes;
- Após o tratamento, uso da imersão em produtos específicos;
- Observação dos animais com cuidado, por pelo menos uma semana à procura de sinais de anormalidade do úbere.

#### **4.2.6** Abate ou Segregação de Animais Infectados

- Abate de animais infectados cronicamente. Exceções feitas aos animais de alto valor genético quando houver chances de cura;
- Segregação de animais infectados em grupos separados, evitando a contaminação dos animais sadios no momento da ordenha.

#### **4.2.7** Melhoramento Genético do Rebanho

- Seleção das reprodutoras, de acordo com características de úbere, tetos, produção entre outras;
- Uso de inseminação artificial, com touros selecionados de acordo com as características das reprodutoras e da propriedade no momento da reprodução.

### **4.3** Método Bacteriológico

As amostras de leite obtidas no período (1990/95 e 2002) foram processadas no Setor de Bacteriologia do Departamento de Patologia Clínica Veterinária da FAVET/UFRGS de acordo com a metodologia a seguir descrita.

O rebanho foi visitado regularmente para o exame clínico do úbere das vacas em lactação, exame do leite de todos os quartos mamários pelo Viamão Mastite Teste (VMT) e obtenção de amostras. O VMT foi realizado de acordo com Fernandes *et al.* (1967), classificando-se a reação inflamatória de acordo com os escores: negativo, traço (Tr. = reação suspeita) e positivo em +, ++ e +++, de acordo com a consistência do gel formado pela adição do reagente ao leite.

Foram coletadas amostras de leite de todos os quartos mamários, incluindo os que apresentaram mastite clínica no momento da visita. Os casos clínicos foram identificados pela presença de secreção anormal (flocos, grumos ou anormalidade na coloração ou na consistência) e/ou sinais de inflamação na glândula.

As amostras foram obtidas imediatamente antes da ordenha após cuidadosa anti-sepsia das tetas com álcool a 70%. Os jatos de leite foram colhidos diretamente em frascos estéreis, colocados em caixas isotérmicas com gelo e encaminhadas imediatamente ao laboratório para processamento.

Semeou-se um volume de 10µl de cada amostra de leite, com alça calibrada e descartável, em cada quadrante de uma placa de ágar-sangue preparado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro assim como numa placa de ágar MacConkey. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, quando foi feita a primeira leitura, seguindo-se nova incubação por mais um período de 48 horas e segunda leitura. As colônias isoladas em ambos os meios foram observadas quanto à morfologia, tamanho, pigmentação, presença de hemólise no ágar-sangue e reação de lactose no ágar MacConkey. Os microrganismos isolados foram observados ao microscópico por meio de esfregaços corados pelo método de Gram. Os microrganismos Gram positivos foram identificados a partir de subcultivos em placas de ágar-soja tripticaseína, de acordo com as recomendações de Harmon *et al.* (1990). Bactérias do gênero *Streptococcus* foram identificadas pela ausência de produção de catalase

e pelos testes de CAMP (Christie, Atkins e Munch-Peterson), hidrólise do hipurato de sódio, crescimento em meio de 6,5% de NaCl e hidrólise da esculina. A classificação foi feita de acordo com Hoblet *et al.* (1986) da seguinte maneira: (1) *S. agalactiae*: reação positiva nos testes de CAMP e hidrólise do hipurato de sódio, crescimento variável em meio com 6,5% de NaCl e reação negativa no teste de hidrólise da esculina, (2) *Streptococcus* sp. esculina positivos (ESCPOS): reação variável no teste de CAMP, na hidrólise do hipurato e em meio com 6,5% de NaCl e hidrólise da esculina. Neste grupo incluem-se *S. uberis*, *S. bovis*, espécies de *Enterococcus* e outras espécies de *Streptococcus* que hidrolisam a esculina e (3) *Streptococcus* sp. esculina negativos (ESCNEG): reação negativa no teste de CAMP, de hidrólise da esculina e do hipurato de sódio e ausência de crescimento em presença de 6,5% de NaCl. Neste grupo estão incluídos *S. dysgalactiae* e outros *Streptococcus* sp. esculina negativos. As bactérias do gênero *Staphylococcus* foram classificadas em coagulase negativos e *Staphylococcus aureus* de acordo com a produção de catalase, coagulação do plasma de coelho e produção de acetoina. Bastonetes Gram-positivos pequenos, pleomórficos e não esporulados, com morfologia semelhante a difteróides, foram identificados como *Corynebacterium bovis* pela ausência de inibição do teste de CAMP, reação negativa nos testes de hidrólise da gelatina e do amido e produção de urease e catalase.

As amostras identificadas como sendo Gram negativas e isoladas no meio MacConkey foram identificadas utilizando-se os testes em meio de SIM (Sulfur Reduction Test, Indole Production, Motility), TSI (Triple Sugar Iron), Citrato e Uréia, além dos testes bioquímicos de açúcares, recomendados no Bergey's (1974) para identificação destes gêneros.

Não foi feita nenhuma cultura específica para fungos, sendo que amostras do gênero *Aspergillus* aqui citados foram isolados em ágar sangue.

Amostras consideradas contaminadas foram aquelas em que houve crescimento de três ou mais colônias diferentes no isolamento primário, sem o predomínio de nenhuma delas.

#### **4.4 Análise Estatística**

Ao final do período, serão realizadas as análises estatísticas para identificação e quantificação dos possíveis fatores mais expressivamente implicados, no controle da mastite bovina e conseqüente impacto na produção leiteira. Os dados serão analisados através de um modelo de regressão logística, sendo que antes será utilizado o teste de Qui-quadrado para verificação das associações de variáveis qualitativas e o teste de correlação de Pearson, para identificação de correlação entre variáveis quantitativas com o objetivo de eliminar possíveis fatores de confundimento (bias) (McEWEN *et al.*, 1991). O SPSS versão 8.0 (Statistical Package for Social Sciences) será usado para a avaliação estatística dos dados (Morgan *et al.*, 2001).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Análise Clínica

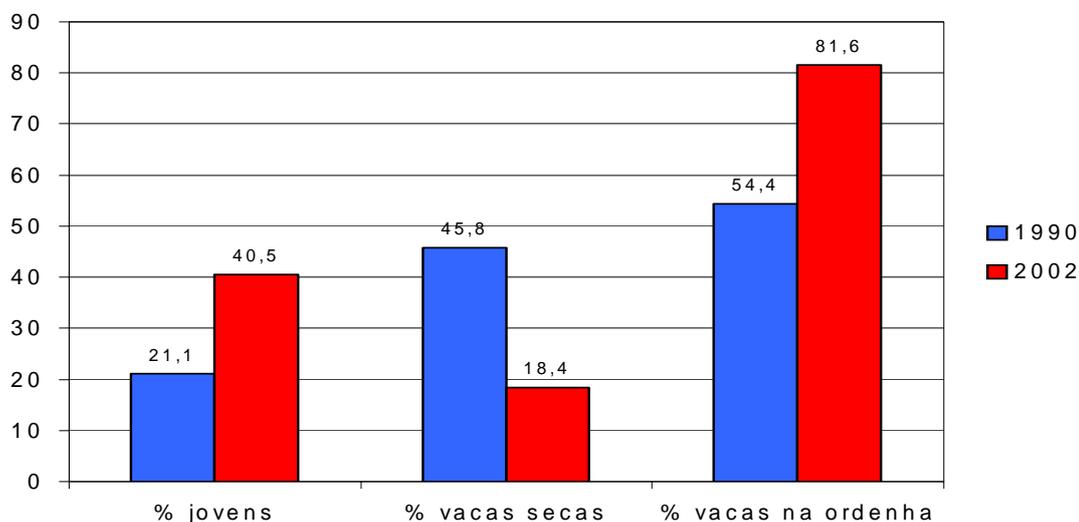
O resumo geral das mudanças que houve, comparando o ano de início do trabalho (1990) com o final do estudo (2002) está demonstrado na **Tabela 1**.

**Tabela 1** - Dados comparativos da característica da propriedade quanto aos animais e da produção destes, entre o ano de 1990 no início do estudo e 2002 no seu término.

CARACTERÍSTICAS	1990	2002
N.º Total de Animais	170	101
Produção / Dia (Litros)	155	1166
Média / Vaca / Dia (Litros)	2,2	23,8
N.º Animais Adultos	134	60
N.º Jovens (Nascimento – Parto)	36	41
% de Jovens	21,1	40,5
% de Vacas Secas	45,6	18,4
% de Vacas Na Ordenha	54,5	81,6
Média de Idade	13,9 (0 – 23)	5,4 (0 – 9,2)

Houve uma grande variação das categorias que formavam o rebanho durante o estudo, como mostra a **Figura 1**. No início do estudo em 1990, a média de idade dos animais era de 13,9 anos, sendo o mais velho com 23 anos. Em 2002, a média de idade era de 5,4 anos, sendo o mais velho com 9,2.

**Figura 1** - Porcentual das diferentes categorias produtivas que compunham o rebanho leiteiro no início do trabalho, em 1990, e no final, em 2002.



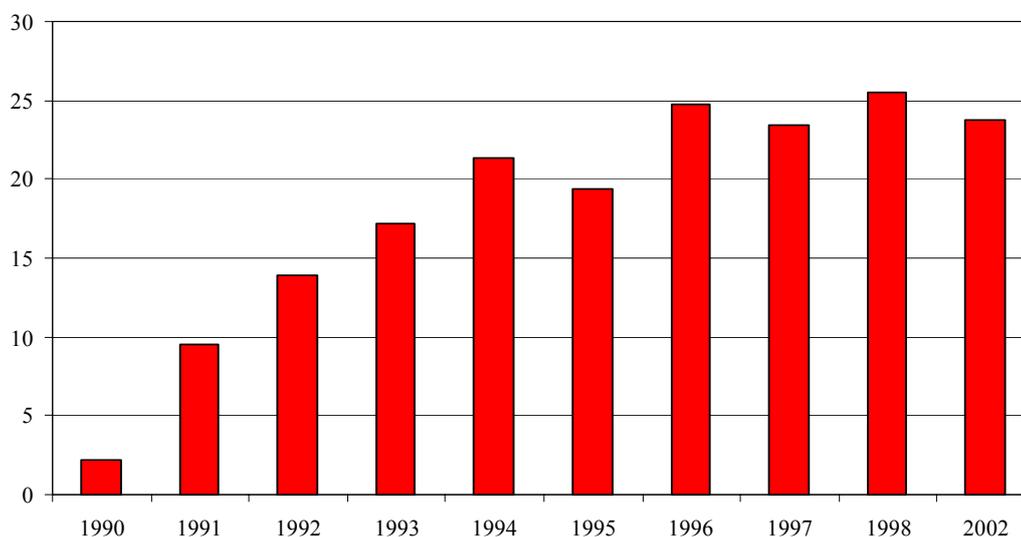
No momento da primeira visita em 1990, verificou-se 61 animais (36%), num total de 170 animais, com pelo menos 1 (um) quarto perdido, sendo que dentre estes 10% apresentavam até 3 (três) quartos inutilizados, sendo o percentual muito maior em vacas de terceira cria, como mostra a **Tabela 2**. Em 2002, apenas 1 (uma) vaca de terceira cria teve 1 (um) quarto perdido.

**Tabela 2** - Distribuição do número de animais com quartos perdidos por categoria e número de quartos afetados, durante a primeira visita em 1990.

	1 quarto perdido	2 quartos perdidos	3 Quartos perdidos	Total
Vaca de 1º cria	5	2	-	7 (11%)
Vaca de 2º cria	9	4	2	15 (25%)
Vaca de 3º cria	22	13	4	39 (64%)
<b>TOTAL</b>	<b>36 (59%)</b>	<b>19 (31%)</b>	<b>6 (10%)</b>	<b>61</b>

Durante o período 1990-2002, houve uma grande evolução na produção média individual de leite no rebanho, como mostra a **Figura 2**. Esta evolução fica evidenciada já nos primeiros anos de trabalho, consolidando-se até o final do estudo em 2002. A média de produção vaca/dia em litros subiu de 2,2 em 1990 para 23,8 litros em 2002, representando um aumento de 1081,8%.

**Figura 2** - Evolução da média individual de produção de leite no rebanho ao longo dos anos.



No início do trabalho, 75% dos animais apresentavam pelo menos 1 (um) quarto mamário com mamite clínica. No primeiro dia foram eliminadas 27 vacas devido à mamite crônica e mais 18 animais por outros problemas, especialmente reprodução e idade.

Das 675 amostras analisadas, 75 (11,1%) eram de quartos com mamite clínica. O maior número de casos foi de mamite subclínica de escore 2 no CMT, com 256 amostras (37,9%), seguido das amostras de mamite subclínica de nível 1 e 3 com 201 (29,8%) e 141 (20,9%) de amostras respectivamente, aparecendo apenas 2 amostras de mamite crônica, no ano de 1995.

Houve uma variação grande da distribuição dos tipos de mamite durante os anos de estudo, como mostra a **Tabela 3**. Em 2002 houve um número menor de quartos que apresentavam mamite, apenas 48, sendo que nos outros anos houve uma média de 104,5 quartos afetados, com exceção apenas do ano de 1994 que apresentou 52 quartos afetados. Porém, em 2002 não houve nenhum caso clínico de mamite, e em 1994 houve oito.

**Tabela 3** - Distribuição porcentual dos diferentes tipos de mamites nas amostras analisadas durante os anos de estudo.

<b>Tipos de mamite</b>	<b>1990</b>	<b>1991</b>	<b>1992</b>	<b>1993</b>	<b>1994</b>	<b>1995</b>	<b>2002</b>
<b>Clínica</b>	21%	14%	8%	6%	15%	6%	-
<b>Subclínica (CMT +)</b>	15%	37%	12%	51%	36%	36%	27%
<b>Subclínica (CM ++)</b>	41%	31%	45%	37%	39%	35%	38%
<b>Subclínica (CMT +++)</b>	23%	18%	35%	6%	10%	21%	35%
<b>Crônica</b>	-	-	-	-	-	2%	-
<b>TOTAL</b>	145	117	112	107	52	94	48

## 5.2 Análise Microbiológica

Durante os sete anos de estudo, foram analisadas 675 amostras de leite com um porcentual de 51,7% que apresentaram crescimento de algum microorganismo e 48,3% de amostras que foram negativas no isolamento microbiológico, conforme mostra a **Tabela 4**.

**Tabela 4** - Número de amostras testadas para isolamento microbiológico, com seus respectivos resultados conforme o ano de estudo.

<b>ANO</b>	<b>TOTAL</b>	<b>POSITIVAS</b>	<b>% Positivas</b>	<b>NEGATIVAS</b>	<b>% Negativas</b>
1990	145	94	64,8%	51	35,2%
1991	117	51	43,6%	66	56,4%
1992	112	47	42,0%	65	58,0%
1993	107	46	43,0%	61	57,0%
1994	52	20	38,5%	32	61,5%
1995	94	63	67,0%	31	33,0%
2002	48	28	58,3%	20	41,7%
<b>Total</b>	<b>675</b>	<b>349</b>	<b>51,7%</b>	<b>326</b>	<b>48,3%</b>

Os resultados gerais da análise microbiológica, apresentando o porcentual de agentes isolados durante todos os anos do estudo, estão demonstrados na **Tabela 5** e **Tabela 6**.

No ano de 1995 houve dois casos de mamite crônica causada pelos agentes *Arcanobacterium pyogenes* e *Aspergillus* spp. Como visto na **Tabela 6**, não houve casos de mamite clínica no ano de 2002.

**Tabela 5** – Distribuição porcentual dos agentes isolados durante o período do estudo, nas amostras de leite que apresentaram mamite subclínica.

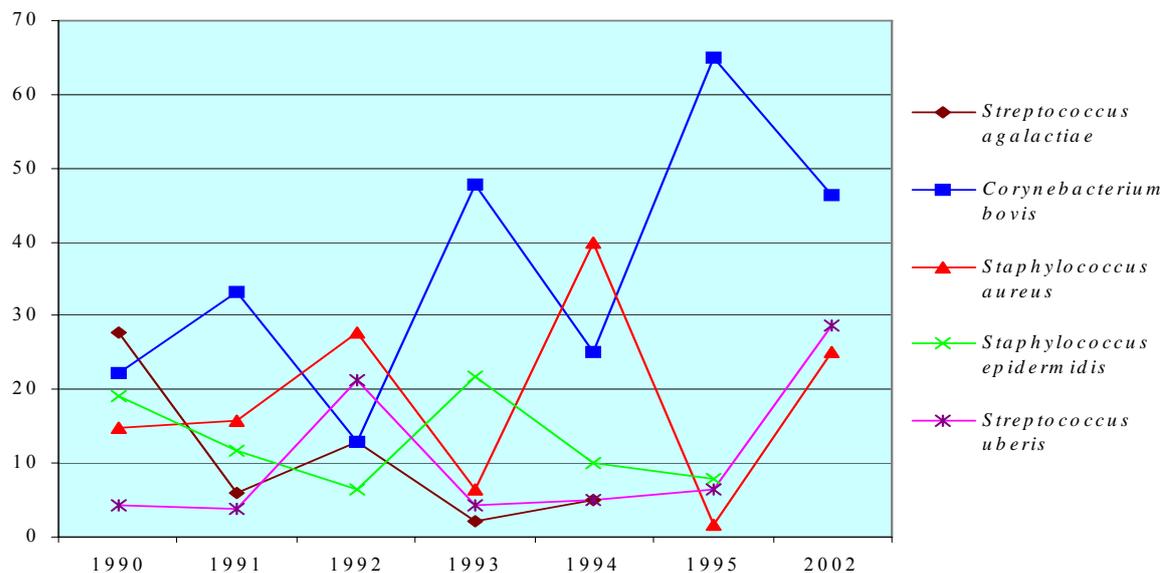
<b>Agente</b>	<b>1990</b>	<b>1991</b>	<b>1992</b>	<b>1993</b>	<b>1994</b>	<b>1995</b>	<b>2002</b>
<i>Aeromonas</i> spp.	-	1,0%	1,0%	-	-	-	-
<i>Alcaligenes faecalis</i>	-	-	1,0%	-	-	-	-
<i>Corynebacterium bovis</i>	14,0%	16,8%	5,8%	21,8%	11,4%	43,8%	27,1%
<i>Escherichia coli</i>	4,4%	-	-	1,0%	2,3%	-	-
<i>Micrococcus</i> spp.	0,9%	1,0%	-	3,0%	-	-	-
<i>Nocardia</i> spp.	-	5,9%	-	-	-	1,1%	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,8%	3,0%	10,7%	2,0%	6,8%	1,1%	14,6%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10,5%	4,9%	2,9%	9,9%	4,5%	5,6%	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	13,2%	-	5,8%	-	-	-	-
<i>Streptococcus uberis</i>	2,6%	1,0%	9,7%	2,0%	2,3%	4,5%	16,7%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	0,9%	-	-	-	-	3,4%	-
Positiva	56,1%	34,7%	36,9%	41,6%	31,8%	65,2%	58,3%
Negativo	43,9%	65,3%	63,1%	58,4%	68,2%	34,8%	41,7%
<b>Total</b>	<b>114</b>	<b>101</b>	<b>103</b>	<b>101</b>	<b>44</b>	<b>89</b>	<b>48</b>

**Tabela 6** - Distribuição porcentual dos agentes isolados durante o período do estudo, nas amostras de leite que apresentaram mamite clínica.

<b>Agente</b>	<b>1990</b>	<b>1991</b>	<b>1992</b>	<b>1993</b>	<b>1994</b>	<b>1995</b>	<b>2002</b>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	16,1%	-	-	-	-	20,0%	-
<i>Aspergillus</i> spp.	-	-	44,4%	66,7%	-	-	-
<i>Candida</i> spp.	-	-	11,1%	-	-	20,0%	-
<i>Corynebacterium bovis</i>	16,1%	-	-	-	-	40,0%	-
<i>Escherichia coli</i>	3,2%	-	-	-	12,5%	-	-
<i>Nocardia</i> spp.	-	37,5%	22,2%	-	12,5%	20,0%	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,1%	31,2%	22,2%	16,7%	62,5%	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	19,3%	6,2%	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	35,5%	18,7%	-	16,7%	12,5%	-	-
<i>Streptococcus uberis</i>	3,2%	6,2%	-	-	-	-	-
Negativo	3,2%	-	-	-	-	-	-
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>16</b>	<b>09</b>	<b>06</b>	<b>08</b>	<b>05</b>	<b>00</b>

Na análise microbiológica, foram feitos 349 isolados de diversos agentes, entre bactérias, fungos e leveduras. Em todos os anos, houve agentes específicos que predominaram em termos de isolamento. Dentre os principais, destacam-se *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Corynebacterium bovis*, como mostra a **Figura 3**. Estes agentes perfizeram, no somatório, mais de 80% dos isolados em todos os anos, com exceção do ano de 1991, onde somaram 70,6%, aparecendo a *Nocardia* spp. com 23,5% de isolados. No ano de 2002, *S. aureus*, *S. uberis* e *C. bovis* perfizeram 100% dos isolados. Agentes como *Arcanobacterium pyogenes*, *Escherichia coli* entre outros, tiveram um baixo índice de isolamento e normalmente em anos específicos, como a *Nocardia* spp., que aparece raramente em outros anos além de 1991.

**Figura 3** - Distribuição porcentual dos principais agentes isolados durante o período do estudo, comparado com o número de amostras positivas em cada ano.



### 5.3 Análise Estatística

Como  $p < 0,05$ , rejeitamos a hipótese nula, ou seja, as doenças não se comportaram de forma homogênea ao longo dos anos. Os resíduos ajustados mostram as associações positivas. Com valor maior que 1,96 a associação é positiva, mas se for menor que 1,96 a associação é negativa, ou seja, as categorias estão significativamente desassociadas.

Ao compararmos todos os anos com relação ao número de quartos afetados e os diferentes tipos de mamite, obtemos os resultados demonstrados na **Tabela 7**. Sendo assim, em 1990 temos uma forte associação com mamite clínica, o que indica que o número de infecções desse tipo foi maior neste ano comparado com os outros. Já a mamite subclínica + está mais fortemente associada ao ano de 1993, mas também está positivamente associada ao ano de 1991, indicando que o número de indivíduos contaminados por essa doença, nestes dois anos, foi maior. A mamite subclínica ++ não está associada com nenhum ano significativamente, o que indica que teve um comportamento similar durante todos os anos. A mamite subclínica +++ está mais fortemente associada ao ano de 1992 e, em menor escala,

com o ano de 2002. Isto mostra, principalmente, que os casos de mamite clínica e a maioria dos casos de mamite subclínica, sofreram grande decréscimo com o passar dos anos do estudo.

**Tabela 7** – Resultado da análise estatística comparando todos os anos do estudo com os diferentes tipos de mamite e o número de quartos afetados.

**ANO \* DOENÇA Crosstabulation**

			DOENÇA				Total
			Mamite clínica	Mamite sub+	Mamite sub++	Mamite sub+++	
ANO	1990,00	Count	31	22	59	33	145
		Adjusted Residual	4,4	-4,4	,7	,6	
	1991,00	Count	16	44	36	21	117
		Adjusted Residual	1,0	2,0	-1,8	-,9	
	1992,00	Count	9	14	50	39	112
		Adjusted Residual	-1,1	-4,4	1,6	4,0	
	1993,00	Count	6	55	40	6	107
		Adjusted Residual	-2,0	5,3	-,2	-4,3	
	1994,00	Count	8	19	20	5	52
		Adjusted Residual	1,0	1,1	,1	-2,1	
	1995,00	Count	5	34	33	20	92
		Adjusted Residual	-1,9	1,6	-,5	,2	
	2002,00	Count	0	13	18	17	48
		Adjusted Residual	-2,5	-,4	-,1	2,6	
Total		Count	75	201	256	141	673

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	104,658 <sup>a</sup>	18	,000
N of Valid Cases	673		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,35.

Além disso, ao compararmos o início e o final do estudo, relacionando o número de quartos positivos e negativos com o total de animais no respectivo ano, os resultados obtidos estão demonstrados na **Tabela 8**. Novamente temos  $p < 0,05$  sendo assim o teste de homogeneidade foi rejeitado pelo teste qui-quadrado. Pelos resíduos ajustados,

podemos perceber que, em 1990, a associação foi com os casos positivos, mas que em 2002 a associação foi com os negativos. Sendo assim, mesmo com a redução do número de animais houve uma verdadeira redução do número de quartos infectados.

**Tabela 8** – Resultado da análise estatística comparando o número de quartos afetados com o total de animais, no início (1990) e no final do estudo (2002).

**ANO \* POSITIVO Crosstabulation**

			POSITIVO		Total
			,00	1,00	
ANO	1990,00	Count	535	145	680
		Adjusted Residual	-3,9	3,9	
	2002,00	Count	356	48	404
		Adjusted Residual	3,9	-3,9	
Total		Count	891	193	1084

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	15,440 <sup>b</sup>	1	,000		
Fisher's Exact Test				,000	,000
N of Valid Cases	1084				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 71,93.

## 6 DISCUSSÃO

O propósito primário para o monitoramento da qualidade do leite é a produção de um alimento seguro, nutricionalmente adequado e relativamente livre de bactérias e de células somáticas. Já o objetivo do monitoramento da saúde do úbere é reduzir a incidência da mastite nos rebanhos. A reunião desses dois objetivos resulta em um aumento da lucratividade, por meio do aumento da produção de leite e de alimentos mais adequados às exigências atuais do mercado (HARMON, 1994).

Ficou claro neste estudo que a introdução de práticas simples de melhoramento do manejo e sanidade em geral, fizeram a propriedade apresentar mudanças já no primeiro ano de observação, ficando mais evidente ainda no final do estudo como mostra a **Tabela 1**. A produção dia aumentou mais de 600% e a produção média por animal teve um aumento de mais de 1000% mesmo com a redução do número total de animais, comprovando a melhor qualidade do rebanho. Houve um aumento do número de vacas em ordenha e conseqüente redução no número de vacas secas, estabelecendo um equilíbrio aceitável entre estas duas categorias. A redução da idade média dos animais foi possível devido à profissionalização da produção, colaborando no aumento da produção, e também na melhoria do padrão genético do rebanho, com aumento do grau de sangue de animais especializados para leite. Ignorar a mastite num programa de seleção acumulará conseqüências indesejáveis na saúde do úbere (MONARDES, 1995b).

LARANJA (1996) afirmava que técnicas como o pré e pós-imersão do teto em soluções desinfetantes, apesar de preventivas e não curativas, são importantes para a melhoria da qualidade do leite, reduzindo a Contagem Bacteriana Total e a na contagem de Coliformes em mais de 70%, afetando assim a qualidade dos tetos evitando perda de quartos, como mostra a **Tabela 2**.

Bareille *et al.* (2003) confirmam a importância do controle da alimentação na mastite e conseqüentemente na produção de leite, o que justifica a preocupação nesse aspecto. Com relação à idade, Domingues *et al.* (2002) já afirmavam que animais de idade avançada tendem a ter mais problemas de mastite, portanto a queda da idade média dos animais do plantel, conforme verificado na **Tabela 1**, ajudaram no controle da mastite.

Investigações de mastite normalmente começam com ações diretas nas rotas comuns de exposição a patógenos de mastite. Ficou provado aqui que estas ações podem e são úteis, porém quando existe uma investigação no rebanho determinando a extensão da mastite na propriedade, as mudanças aplicadas com base nestas observações, resultam em melhores e mais duradouras respostas. O inquérito inicial deve definir o nível de mastite clínica, subclínica e crônica (RUEGG, 2003).

Philpot *et al.* (1991) já afirmavam que o descarte de animais com problemas crônicos faz parte do controle da mastite. No início deste estudo 45 animais foram eliminados por problemas de mastite crônica além de idade avançada e problemas reprodutivos, melhorando consideravelmente a qualidade do rebanho, afetando assim na produção.

Estudos comprovam a eficácia do tratamento no período seco na prevenção de novos casos de mastite clínica e subclínica (BERRY *et al.*, 2002), com uma taxa de redução de até 80%. Este estudo vem de acordo com esta afirmação, já que os casos de mastite clínica sofreram um considerável decréscimo durante os anos de observação, sendo que em 2002 não houve constatação de nenhum novo caso clínico de mastite, comprovado também pela análise estatística (**Tabela 7**), que demonstrou a queda dos casos de mastites no decorrer dos anos estudados. Além disso, a estatística comprova que independente da redução do número de animais, houve uma grande redução no número de quartos infectados, como mostra a **Tabela 8**.

O agente mais isolado em todo o estudo foi o *Corynebacterium bovis*. É interessante observar que num estudo feito na década de 70 no Rio Grande do Sul (FERNANDES *et al.*, 1973) este agente não aparecia entre os isolados. Porém, atualmente este vem sendo uma das principais causas de mastite, principalmente subclínica (FERNANDES *et al.*, 2001). Costa *et al.* (1994) sugere a importância deste agente, principalmente pelo fato de alguns animais infectados poderem ser negativos no teste de VMT e servir de fonte transmissora durante a ordenha. A prevalência de agentes como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus uberis* e *Streptococcus agalactiae* estão de acordo com estes mesmos estudos.

Fica evidente que houve maior casos de mastite subclínica do que clínica em todos os anos do estudo, o que comprova dados de que a mastite subclínica é de 15 a 40 vezes mais predominante (PHILPOT *et al.*, 1991). Segundo Costa *et al.* (2001), num estudo realizado em propriedades leiteiras de São Paulo e Minas Gerais, o menor nível de mastite clínica e a maior ocorrência de casos de mastite subclínica é observada quando o principal agente etiológico é o *Corynebacterium bovis*. Analisando os dados aqui encontrados, podemos comprovar esta informação.

Agentes como *Aspergillus* spp., *Arcanobacterium pyogenes* e *Nocardia* spp. aparecem em números reduzidos e principalmente em casos de mastite clínica e/ou crônica, concordando com os resultados obtidos por Langoni *et al.* (1998), sendo que com a implementação dos métodos de controle e principalmente prevenção, estes são facilmente controlados (PHILPOT *et al.*, 1991).

A alta prevalência de *Nocardia* spp. em 1991 pode estar relacionada com o uso de antimicrobianos de aplicação intramamária. Estes quando indevidamente utilizados, como a falta de higiene do úbere antes de sua aplicação e a inserção completa das cânulas das seringas de tratamento, podem levar a introdução de agentes infecciosos para dentro do úbere (PHILPOT *et al.*, 1991).

Outro agente que foi controlado pela prevenção, por sua dificuldade em ser tratado, foi o *Streptococcus agalactiae*, relacionado principalmente com a mastite clínica, a partir do ano de 1995 já não aparece mais nos isolados (PHILPOT *et al.*, 1991).

Roberson (2003) afirmava que o fato do leite estar normal não significa que foi eliminada a infecção. A terapia da vaca seca é eficaz na prevenção de novas infecções por *Staphylococcus aureus* (BERRY *et al.*, 2002), porém diversos autores concordam com a dificuldade de tratamento deste agente (PHILPOT *et al.*, 1991). O que podemos constatar neste estudo foi um controle relativo das infecções por *S. aureus* durante 1990 até 1993, porém em 1994 houve uma grande incidência de casos por este agente. No ano seguinte, 1995, com maiores cuidados de tratamento, este agente já não aparece em grande escala, surgindo nos anos seguintes em casos de mastite subclínica. Philpot *et al.* (1991) afirmam que casos não devidamente curados de mastite clínica podem ressurgir como mastite subclínica, o que explicaria este evento. Além disto, estes mesmos autores afirmam que quartos infectados por *Corynebacterium bovis* são menos suscetíveis à infecção por *S. aureus*, e coincidentemente ou não, se analisarmos a **Figura 3** veremos que há realmente uma relação inversa entre estes agentes durante todos os anos do estudo. Além disso, fica evidente que com o aumento de *S. aureus* em 1994 e a intensificação dos cuidados que se seguiram para evitar sua manutenção, houve um descuido na prática de pós-imersão dos tetos e tratamento no período seco, o que fez ocorrerem um maior número de casos de *C. bovis* em 1995, inclusive dois casos de mastite crônica, os únicos em todo o estudo.

Houve um grande número de amostras consideradas anormais pelo VMT e negativas pela cultura. Conforme observações de Fernantes *et al.* (1973) e Philpot *et al.* (1991) isto pode ser devido a trauma ou lesão do úbere por problemas na ordenha ou outras causas, irritação química, mastite com cura microbiológica, mas ainda apresentando alta contagem celular

além de agentes não pesquisados como fungos e *Mycoplasma* sp. entre outros. Monardes (1995a) cita que 10% dos casos de mastite podem ser por causa traumática.

Apesar de não utilizado neste estudo, a contagem de células somáticas (CCS) pode também ser uma importante ferramenta para estabelecer o grau de infecção em um rebanho. Não está disponível ainda de forma acessíveis a produtores e veterinários e deve ser interpretado com cuidado, levando em conta idade dos animais, número de lactações, estágio da lactação, nível de infecção, estresse, raça, nutrição, manejo entre outros fatores. É importante também lembrar que a CCS é mais um indicador do estado sanitário da glândula mamária do que um indicador da presença de patógenos (MONARDES, 1995a).

O principal impacto desta intervenção foi à redução na prevalência de patógenos infecciosos pela combinação da melhoria na higiene da ordenha e terapia de casos de mastite subclínica. Esta combinação teve maior benefícios quando fatores limitantes da produção de leite como nutrição e intervalo de parto foram melhorados (OMORE *et al.*, 1999; COSTA NOBRE *et al.*, 1985). No atual nível de produção de leite, os custos destas medidas de controle necessitam ser justificadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGABRIEL, C.; COULON, J. B.; SIBRA, C.; JOURNAL, C.; HAUWUY, A. Facteurs de variation de la numération cellulaire du lait en exploitation. **Annales Zootechnie**, v.46, p.13-19, 1997.
- BAREILLE, N. BEAUDEAU, F., BILLON, S. *et al.* Effects of health disorders on feed intake and milk production in dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 83, p. 53-62, 2003.
- BARHEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H.; LAM, T. J. G. M. *et al.* Management practices associated with low, medium and high somatic cell counts in bulk milk. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1917-1927, 1998.
- BARTLETT, P. C.; MILLER, G. Y.; LANCE, S. E.; HEIDER, L. E.; ANDERSON, C. R. Environmental and managerial risk factors of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Ohio dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.14, p.129-142, 1992.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. BUCHANAN, R. E.; GIBBONS, N. E. The William & Wilkins Company, Baltimore, 1974.
- BERRY, E. A.; HILLERTON, J. E. The effect os selective dry cow treatment on new intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 112-21, 2002.
- BRAMLEY, A. J.; DODD, F. H. Review of the progress of dairy science: mastitis control – progress and prospects. **Journal of Dairy Research**, v.51, p.481-512, 1984.
- BRAMLEY, A. J., CULLOR, J. S., ERSKINE, R. J. *et al.* Current concepts of bovine mastitis. 4.ed. Madison: **National Mastitis Council**, 1996. 64p.
- BRITO, J. R. F.; SOUZA, G. N.; BRITO, M. A. V. P., RUBIALE, L. Subclinical mastitis in two institutional dairy herds: a retrospective study (1994-2000). **In: International Symposium on Mastitis and Milk Quality, 2<sup>nd</sup>**. Proceedings... Vancouver: National Mastitis Council/American Association of Bovine Practitioners, 2001. p. 436-437.
- BRITO, M. A. V. P.; J. R. F. BRITO. 1996. Produção científica brasileira sobre mastite bovina. *In*: Brito, J.R.F. and Bressan, M. Ed. **Controle integrado da mastite bovina**. Juiz de Fora: Embrapa/CNPGL. p. 68-96.
- COSTA, E. O., VIANI, F. C., WHITE, C. R. *et al.* Infectious bovine mastitis: prevalence of carries in dairy herds. **In: Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias**, 14, 1994, Acapulco. Proceedings... Acapulco, 1994. p. 45.
- COSTA, E. O., BENITES, N. R., MELVILLE, P. A. *et al.* Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.17, p. 156-8, 1995.
- COSTA, E. O., GARINO JR., F., WATANABE, E. T. *et al.* Proporção de ocorrência de mastite clínica em relação à subclínica correlacionada aos principais agentes etiológicos. **Napgama**, v. 4, n. 3, p. 10-3, 2001.

- COSTA NOBRE, P. R., MILAGRES, J. C., CASTRO, A. C. G., FONSECA, F. A. Influência do intervalo de partos e período seco na produção de leite do rebanho leiteiro da universidade de Viçosa, Estado de Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Zoot.**, v. 14, n. 4, p. 421-8, 1985.
- DOMINGUES, P. F., LANGONI, H., PADOVANI, C. R. Relação entre mastite e estágio de lactação, idade, retenção de placenta e metrite em vacas leiteiras. **R. bras. Med. Vet.**, v. 24, n. 1, p. 22-6, 2002.
- ENEVOLDSEN, C.; GRÖHN, Y. T.; THYSEN, I. Dairy cow characteristics related to *Staphylococcus aureus* isolation from quarter samples. **Journal of Dairy Research**, v.62, p.69-81, 1995.
- FENLON, D. R.; LOGUE, D. N.; GUNN, J.; WILSON, J. A study of mastitis bacteria and herd management practices to identify their relationship to high somatic cell counts in bulk tank milk. **British Veterinary Journal**, v.151, p.17-25, 1995.
- FERNANDES, J. C. T., LOUZADA, C. A. R. Viamão Mastite Teste (nota prévia). **In: Anais 7º Reunião Anual Sociedade Veterinária do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 1967.
- FERNANDES, J. C. T., MOOJEN, V., FERREIRO, L. Agentes etiológicos das mastites bovinas na bacia leiteira de Porto Alegre, RS, Brasil. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, vol. 1, n. 1, p. 41-6, 1973.
- FERNANDES, J. C. T., RHODEN, A., EICKHOFF, F. *et al.* **Mastite bovina: microorganismos isolados no Rio Grande do Sul**. IV Congresso Brasileiro de Buiatria. Anais. Campo Grande, Mato Grande do Sul, 2001.
- FERREIRO, L., FERREIRO, C.L.R., BANGEL JR., J.J. *et al.* Mastite bovina na Grande Porto Alegre, RS – Brasil. 1. Agentes etiológicos isolados durante o período 1982-1985. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, n.13, p.81-88, 1985.
- FERREIRO, L., SANTOS, E.C., SILVA, N. Ocorrência e etiologia da mastite bovina na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais. **Arquivos da Escola de Veterinária UFMG**, v.33, p. 31-37, 1981.
- GODKIN, A. How Canada competes internationally. **In: Annual Meeting of the National Mastitis Council**, 37. 1998. Proceedings... St. Louis, Missouri: NMC, 1998. p. 19-27.
- GOLDBERG, J. J.; WILDMAN, E. E.; PANKEY, J. W.; KUNKEL, J. R.; HOWARD, D. B.; MURPHY, B. M. The influence of intensively managed rotational grazing, traditional continuous grazing, and confinement housing on bulk tank milk quality and udder health. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.96-104, 1992.
- HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, vol. 77, p. 2103-2112, 1994.
- HARROP, M. H. V., PEREIRA, L. J. V., BRITO, J. R. F. *et al.* Incidência da mastite bovina na bacia leiteira da Zona Meridional Agreste de PE. **Pesq. Agropec. Bras., Ser. Vet.**, v.10, p. 65-67, 1975.

- HEESCHEN, W.; REICHMUTH, J. Mastitis: influence on qualitative and hygienic properties of milk. **In: International Dairy Federation, International Mastitis Seminar**, 3. Tel Aviv, 1995. Proceedings... p. 3.3-3.13.
- HEESCHEN, W. H. Bacteriological quality of raw milk. Legal requirements and payment systems. Situation in the EU and IDF member countries. International Dairy Federation. **Symposium on bacteriological quality of raw milk**. Wolfpassing, Austria: IDF, 1996. Proceedings... p. 1-18. 1996.
- HILLERTON, J. E. Detecting mastitis cow-side. **In: ANNUAL MEETING OF THE NATIONAL MASTITIS COUNCIL**, 39., 2000, Atlanta. Proceedings... Atlanta: NMC, 2000. p.48-53.
- HONKANEN-BUZALSKI, T.; PYORALA, S. Monitoring and management of udder health at the farm. **In: SANDHOLM, M.; HONKANEN-BUZALSKI, T.; KAARTINEN, L.; PYORALA, S. Ed. The bovine udder and mastitis**. Helsinki: University of Helsinki-Faculty of Veterinary Medicine, 1995. p.252-260.
- HURST, M. Mastitis, milk quality and milk price. **In: British Mastitis Conference**, Stoneleigh, 1993. Proceedings... p. 77-82.
- HUTTON, C. T.; FOX, L. K.; HANCOCK, D. D. Mastitis control practices: differences between herds with high and low milk somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.1135-1143, 1990.
- KELTON, D. F.; GODKIN, M. A. Mastitis culture programs for dairy herds. **In: ANNUAL MEETING OF THE NATIONAL MASTITIS COUNCIL**, 39., 2000, Atlanta. Proceedings... Atlanta: NMC, 2000. p.54-62.
- KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, vol. . 48, p. 167-188, 1981.
- KORHONEN, H. Criteria for high quality milk - customer and industry demands. **In: International Symposium on Professional Milk Extraction**. Tumba, Suécia: Oy Alfa Laval Agri Scandinavia Ab Finland - Alfa Laval Agri AB Sweden, 1997. Proceedings... Helsinque: Oy Alfa Laval Agri Scandinavia Ab, p. 13-24, 1997.
- LANGENEGGER, J., COELHO, N.M., LANGENEGGER, C.H. *et al.* Estudo da incidência da mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. **Pes. Agropec. Bras.**, v.5, p. 437-440, 1970.
- LANGONI, H., PINTO, M.P., DOMINGUES, P.F. *et al.* Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 43, p. 507-515, 1991.
- LANGONI, H., DA SILVA, A. V., CABRAL, K. G. *et al.* Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbia. **Pesq. bras. Med. Vet.**, v. 20, n. 5, p. 204-9, 1998.

- LARANJA, L. F. A higiene dos tetos e a mastite. **Gado Holandês**, v. 60, n. 448, p. 24-6, 1996.
- MONARDES, H. Contagem de células somáticas e melhoramento genético da resistência à mastite – Parte I. **Gado Holandês**, v. 59, n. 437, p. 38-42, 1995a.
- MONARDES, H. Contagem de células somáticas e melhoramento genético da resistência à mastite – Parte II. **Gado Holandês**, v. 59, n. 438, p. 28-31, 1995b.
- MORGAN, G. A.; GRIEGO, O. V.; GLOECKNER, G. W. *SPSS for Windows: an introduction to use and interpretation in research*. Mahwah: Lawrence Erlbaum Associates, 2001. p. 214.
- MUNRO, G. L.; GRIEVE, P. A.; KITCHEN, B. J. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. **The Australian Journal of Dairy Technology**, vol. 39, p. 7-16, 1984.
- NADER FILHO, A., SCHOCKEN-ITURRINO, R.P., ROSSI JÚNIOR, O.D. *et al.* Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.**, v.5, p.53-56, 1985.
- OMORE, A. O., MCDERMOTT, J. J., ARIMI, S. M., KYULE, M. N. Impact of mastitis control measures on milk production and mastitis indicators in smallholder dairy farms in Kiambu District, Kenya. **Trop. Anim. Health and Prod.**, v. 31, p. 347-61, 1999.
- PHILPOT W. N.; NICKERSON, S. C. **Mastitis: counterattack**. Naperville: Babson Bros., 1991. 150 p.
- ROBERSONS, J. R. Establishing treatment protocols for clinical mastitis. **Vet. Clin. Food Anim.**, v. 19, p. 223-34, 2003.
- RADOSTITIS, O.M., LESLIE, K.E., FETROW, J. Mastitis control in dairy herds. In: RADOSTITIS, O.M., LESLIE, K.E., FETROW, J. **Herd health food animal production medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p.229-276.
- RUEGG, P. L. Investigation of mastitis problems on farms. **Vet. Clin. Food Anim.**, v. 19, p. 47-73, 2003.
- SALONIEMI, H. Use of somatic cell count in udder health work. In: Sandholm, M.; Honkanen-Buzalski, T.; Kaartinen, L.; Pyorala, S. Ed. **The bovine udder and mastitis**. Helsinki: University of Helsinki, 1995. p. 105-110.
- SANDHOLM, M.; MATTILA, T. Biochemical aspects of bovine mastitis. **Israeli Journal of Veterinary Medicine**, vol. 42, p. 405-415, 1986.
- SCHUKKEN, Y. H.; GROMMERS, F. J.; VAN DE GEER, D.; ERB, H. N.; BRAND, A. Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.826-832, 1991.

- SHEARER, J. K.; SCHMIDT, R. H.; RENEAU, J. K. Monitoring milk quality and udder health. In: Van Horn, H. H.; Wilcox, C. J. Ed. **Large dairy herd management**. Champaign: American Dairy Science Association, 1992. p. 475-488, 1992.
- SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. Milk quality - a worldwide perspective. **In: Annual meeting of the National Mastitis Council**, 37. 1998. Proceedings... St. Louis, Missouri: NMC, 1998. p. 3-9.
- SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. Environmental mastitis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.9, p.489-498, 1993.
- TARABLA, H. D.; DODD, K. Associations between farmer's personal characteristics, management practices and farm performance. **British Veterinary Journal**, v.146, p.157-164, 1990.
- WARDLAW, A.C. **Practical statistics for experimental biologists**. Chichester: John Wiley & Sons, 1987. 290p.
- WELLS, S. C.; OTT, S. L. What is the current milk quality in the US? **In: Annual meeting of the National Mastitis Council**, 37. 1998. Proceedings... St. Louis, Missouri: NMC, 1998. p. 10-18.
- WILSON, D. J.; DAS, H. H.; GONZALEZ, R. N.; SEARS, P. M. Association between management practices, dairy herd characteristics, and somatic cell count of bulk tank milk. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.210, p.1466-1469, 1997.