



ALAN ANDRADE MESQUITA

**IMPACTO DA MASTITE BOVINA POR *Staphylococcus aureus*
E *Streptococcus agalactiae***

LAVRAS - MG

2017

ALAN ANDRADE MESQUITA

**IMPACTO DA MASTITE BOVINA POR *Staphylococcus aureus*
E *Streptococcus agalactiae***

Tese apresentada junta a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração de Produção e Sanidade Animal, para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa
Orientador

Profa Dra. Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha
Co-orientadora

LAVRAS – MG

2017

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Mesquita, Alan Andrade.

Impacto da Mastite Bovina por *Staphylococcus aureus* e
Streptococcus agalactiae / Alan Andrade Mesquita. - 2017.
73 p.

Orientador(a): Geraldo Márcio da Costa.

Coorientador(a): Christiane Maria Barcellos Magalhães da
Rocha.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2017.
Bibliografia.

1. Mastite. 2. Contagem de células somáticas. 3. Contagem
bacterina total. I. da Costa, Geraldo Márcio. II. da Rocha,
Christiane Maria Barcellos Magalhães. III. Título.

ALAN ANDRADE MESQUITA

**IMPACTO DA MASTITE BOVINA POR *Staphylococcus aureus*
E *Streptococcus agalactiae***

Tese apresentada junta a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração de Produção e Sanidade Animal, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 14 de novembro de 2017

Dr. Fábio Raphael Pascoti Bruhn - UFPEL

Dr. Délcio Bueno da Silva - IFSULDEMINAS

Dra. Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha - UFLA

Dra. Sandra Maria Pinto - UFLA

Dr. Geraldo Márcio da Costa
Orientador

LAVRAS – MG

2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, pelo seu sustento diário em todos os sentidos. Dedico a também a meus pais Francisco e Marailda, pela dedicação e incentivo à minha progressão intelectual, e à minha esposa Greyce, pela dedicação incondicional e paciência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, porque sem Ele nada sou.

Agradeço ao meu orientador e amigo Geraldo, pelos ensinamentos, pelo tratamento sempre calmo e com extrema educação. Obrigado por compartilhar seu conhecimento.

Agradeço à minha esposa Greyce, porque sem ela não alcançaria esta conquista. Obrigado pelo seu total apoio às minhas decisões e pelo suporte físico, psicológico e espiritual.

Agradeço aos meus pais Francisco e Marailda, pois foi através da educação e amor que recebi dentro de casa que alcancei esta conquista.

Agradeço aos meus amigos, Eduardo e Fabiana, pelo suporte e conhecimentos. Vocês podem contar comigo sempre.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcos Aurélio Lopes, pelos conhecimentos transmitidos no início da minha caminhada do doutorado e ao pela ajuda Prof. Dr. Jerry Borges na confecção da minha tese, seus conhecimentos e auxílio foram de extrema ajuda..

Agradeço aos meus sogros Wanderlei e Sonia, à minha cunhada Ingrid e seu esposo e meu amigo, Leandro, pelo apoio e palavras motivadoras para galgar a vitória desta etapa.

Agradeço a todas as pessoas que me ajudaram com o meu experimento, principalmente à Dircéia. Vocês foram de extrema importância para que tudo se concretizasse.

Agradeço aos membros da banca examinadora: Dr. Fábio Raphael Pascoti Bruhn; Dr. Délcio Bueno da Silva; Dra Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha, Dra. Sandra Maria Pinto, que dedicaram seu tempo e esforço para ajudar a construir este trabalho.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Lavras, pelos valiosos ensinamentos.

Agradeço ao IFSULDEMINAS-Campus Machado, pelo apoio no início do doutoramento. Saudades de todos, amigos de verdade, que deixei para trás.

Agradeço a todos os produtores rurais que participaram do estudo e ao Laticínio Verde Campo, pelo apoio e fornecimento de dados e amostras que foram utilizados para a execução do trabalho.

Agradeço a todos os irmãos na fé da 3 Igreja Presbiteriana de Lavras, e Congregação de Vila Murad, em especial ao pastor Emanuel e sua esposa, e ao pastor Ramon e sua esposa. Obrigado pelo apoio verbal e espiritual de vocês. Deus ouviu suas orações a meu favor e concedeu mais uma grande benção em minha vida.

*O Senhor é a minha rocha, a
minha fortaleza e o meu libertador; o
meu Deus, o meu rochedo, em quem
me refúgio; o meu escudo, a força da
minha salvação, e o meu alto
refúgio. Salmo 18,2*

RESUMO

A mastite bovina é a doença mais importante em rebanhos leiteiros em nível mundial, acarretando grandes prejuízos sanitários e econômicos aos produtores e à indústria. Considerando o aspecto multifatorial da doença, o conhecimento dos agentes envolvidos e de seus perfis de suscetibilidade aos antimicrobianos, o impacto da mesma sobre a produção e os fatores de risco envolvidos em sua presença nos rebanhos, é de suma importância para o controle da doença. Todo o experimento foi realizado em parceria com um laticínio da região de Lavras/Sul de Minas Gerais que contava à época com 306 propriedades fornecedoras de leite. No primeiro estudo avaliou-se o impacto econômico da mastite sobre a produção de leite. Para se calcular as perdas de produção, utilizou-se as médias de três contagens de células somáticas do leite do tanque (CCSt), de 306 propriedades para se estimar as perdas de produção, através da equação de regressão linear $y = -4,7908 + 0,0226x$, na qual a variável “x” representa a CCSt e “y” as perdas percentuais diárias. Foram observadas médias de CCSt de 482.650 cels/mL e de 43.710 UFC/mL de leite para a contagem bacteriana total (CBT). Entre as propriedades amostradas, verificou-se que 35,6% e 7,84% se encontravam acima dos limites estabelecidos pela legislação vigente para a CCSt e CBT, respectivamente. Os resultados demonstraram que as médias de perdas diárias na produção de leite devido a mastite foram de 6,27%. No segundo estudo, se avaliou a prevalência de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, por meio de análises microbiológicas de amostras de leite provenientes dos tanques de expansão das 306 propriedades, e a sua relação com os índices de CCSt, CBT e produção diária, além de analisar a resistência destes patógenos aos antimicrobianos. Foi avaliada a suscetibilidade de isolados de *S. aureus* (99) e de *S. agalactiae* (93) a antimicrobianos por meio da técnica de difusão em discos. Nossos resultados apontaram altas prevalências dos patógenos *S. aureus* (70,3%) e *S. agalactiae* (67,0%) e associações entre a CCSt e a presença dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae*, e também entre a CBT e a presença de *S. agalactiae*, demonstrando a interferência negativa destes patógenos nestes quesitos de qualidade do leite. Níveis elevados de resistência e de multiresistência foram observados para os patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* nos rebanhos estudados. No terceiro estudo, visando determinar os fatores de risco envolvidos com a CCSt elevada, foi realizado um estudo de caso-controle envolvendo 46 rebanhos bovinos, dos quais 30 foram considerados casos (CCSt \geq 700.000 cels/mL de leite) e 16 como controles (CCSt \leq 200.000 cels/mL de leite). Foram analisadas 16 variáveis qualitativas e 4 variáveis quantitativas. Os resultados demonstraram que os fatores de risco para altos valores de CCSt foram: presença dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae*, não utilização do *pré e de pós-dipping*, não utilização de papel toalha para secagem de tetos, não utilização de CMT ou CCS individual para monitoramento do rebanho, ausência da linha de ordenha e da terapia de vacas secas e falhas na higiene de tetos e de úbere antes da ordenha. Falhas inerentes à manutenção e utilização dos equipamentos de ordenha, incluindo a aplicação de pressão manual nos conjuntos da ordenha, pressão de vácuo da ordenha desregulada, perda de vácuo durante a ordenha e falhas de manutenção da ordenhadeira e do tanque de expansão. Também se observou correlações moderadas entre elevação da CCSt e as contagens de *S. aureus* e *S. agalactiae* no leite do tanque e correlação moderada entre contagens de *S. aureus* e contagens de *S. agalactiae*. Nossos resultados apontaram uma alta prevalência dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae*, com altos índices de resistência aos antimicrobianos. Os fatores de risco para CCSt elevadas mais relevantes foram relacionados com falhas em relação às medidas clássicas de controle da mastite, salientando a importância das mesmas para a melhoria da qualidade do leite e mitigar os prejuízos ocasionados pela doença aos produtores e à indústria.

Palavras-chave: Mastite. Mastite custos. CSS. contagem bacteriana total.

ABSTRACT

Bovine mastitis is the most important disease in dairy herds worldwide, causing great health and economic losses to producers and industry, as well as having implications for public health due to the zoonotic potential. Considering the multifactorial aspect of this disease, the knowledge of the agents involved in its etiology, antimicrobial susceptibility profiles, its economic impact on the production and the risk factors involved in its occurrence has high importance for its control. The experiment was carried out in partnership with a dairy industry in the region of Lavras/South of Minas Gerais, which at that time had 306 milk supply properties. In the first study, the impact of bovine mastitis on milk production was evaluated. In order to calculate the production losses, the means of three BMSCC of the 306 properties, obtained at intervals of 15 days between the collections, were used, and losses were estimated through the linear regression equation $y = -4.7908 + 0.0226x$, where the variable "x" represents the BMSCC and "y" the estimates of milk percentage losses. The mean of BMSCC between the studied properties was 482,650 cells/mL, and 43,710 CFU/mL of milk for total bacterial counts (TBC), with 35.6% and 7.84% of the farms above of limits established by current legislation for BMSCC and TBC, respectively. The results showed that the average daily losses in production due to mastitis were 6.27%. In the second study, the prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* was evaluated, by means of microbiological analyzes of milk samples collected from bulk milk tanks, and their relation with the BMSCC, TBC and daily production. Additionally, the resistance profile of *S. aureus* (99) and *S. agalactiae* (93) strains to antimicrobials was evaluated by disc diffusion technique. Our results showed high prevalences of *S. aureus* (70.3%) and *S. agalactiae* pathogens (67.0%), and associations between BMSCC and the presence of *S. aureus* and *S. agalactiae* pathogens and between the TBC and the presence of *S. agalactiae*, demonstrating the negative interference of these pathogens in these milk quality aspects. High levels of resistance and multiresistance were observed for *S. aureus* and *S. agalactiae* in the studied herds. In the third study, a case-control study was carried out involving 46 dairy farms, of which 30 were considered as cases (CCSt \geq 700,000 cells/mL of milk) and 16 as controls (CCSt \leq 200,000 cells/mL of milk). Sixteen qualitative and four quantitative variables were analyzed. The results showed that the main risk factors for high BMSCC were the presence of the pathogens *S. aureus* and *S. agalactiae*, non-use of pre and post-dipping, non-use of paper towel for drying teats, non-use herd monitoring by California Mastitis Tests (CMT) or individual SCC, absence of the milking line and the therapy of dry cows, and failures in hygiene of teats and udders before milking. Failures related to maintenance and use of milking equipment, including the application of manual pressure to milking assemblies, unregulated vacuum pressure in milking machine, loss of vacuum during milking, and maintenance failures of milking machine and bulk milk tank were also found as relevant risk factors. Moderate correlations were also observed between elevation of BMSCC and counts of *S. aureus* and *S. agalactiae* in the bulk milk tank and moderate correlation between counts of *S. aureus* and counts of *S. agalactiae*. Our results showed high levels of production losses and prevalence of *S. aureus* and *S. agalactiae* pathogens, with high scores of antimicrobial resistance in the studied herds. The risk factors for BMSCC \geq 700,000 cells/mL of milk were related to failures in relation to the classic measures of control of bovine mastitis, emphasizing the importance of the same to improve milk quality and mitigate the losses caused by this disease to producers and industry.

Keywords: Mastitis. Mastitis costs. BMSCC. Total bacterial counts.

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

Tabela 1 – Contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) e contagem bacteriana total (CBT) e estimativas de perdas de produção de leite entre produtores amostrados em função dos escores de produção.....40

Tabela 2 – Contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) e contagem bacteriana total (CBT) em propriedades que apresentavam CCSt superior a 500.000 cels/mL, em função dos estratos de produção.....41

Tabela 3 – Contagem bacteriana total (CBT) e contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) em propriedades que apresentavam CBT superiores a 100.000 UFC/mL, em função dos estratos de produção.....42

Tabela 4 – Estimativas anuais de perdas econômicas e de produção de leite em função dos estratos de produção.....43

ARTIGO 2

Tabela 1 – Prevalência de *Staphylococcus aureus* e de *Streptococcus agalactiae* no leite de tanques de expansão de rebanhos bovinos leiteiros da região do Campo das Vertentes, MG, no ano de 2017.....53

Tabela 2 – Contagens de células somáticas no leite de tanques de expansão (CCSt) de rebanhos bovinos da região de Campos da Vertente/MG, 2017.....54

Tabela 3 - Contagem bacteriana total (CBT) no leite de tanques de expansão de rebanhos bovinos da região de Campos da Vertente/MG, 2017.....54

Tabela 4 – Prevalência dos patógenos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, em função das contagens de células somáticas (CCSt), no leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017.....55

Tabela 5 – Prevalências dos patógenos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, nos diversos escores de contagem bacteriana total (CBT), no leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017.....55

Tabela 6 – Variações nas prevalências de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* e inadequações com relação à contagem de células somáticas no leite do tanque (CCSt) e contagem bacteriana total (CBT), em função da escala de produção diária de leite, no leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017.....56

Tabela 7 – Relações entre as variáveis quantitativas: produção diária de leite, contagem de células somáticas no leite do tanque (CCST) e contagem bacteriana total (CBT), em rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG positivos para *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, em 2017.....56

Tabela 8 – Resultados dos testes de suscetibilidade a antimicrobianos em amostras de *Staphylococcus aureus* e de *Streptococcus agalactiae* isoladas de leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017.....58

Tabela 9 – Resistência múltipla em amostras de *Staphylococcus aureus* e de *Streptococcus agalactiae* isoladas do leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017.....59

ARTIGO 3

Tabelas 1 – Variáveis relacionadas com o manejo sanitário associadas com valores de contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) ≥ 700.000 cels/mL.....	67
Tabelas 2 – Variáveis relacionadas aos equipamentos de ordenha associadas com valores de contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) ≥ 700.000 cels/mL.....	69
Tabela 3 – Variáveis quantitativas associadas com valores de contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) ≥ 700.000 cels/mL.....	69
Tabela 4 – Correlações contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt), produção diária de leite, contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> e contagem de <i>Streptococcus agalactiae</i>	70

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	13
1 - INTRODUÇÃO.....	13
2 - REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 - Importância da pecuária leiteira na economia brasileira.....	15
2.2 - A mastite e seu impacto na cadeia produtiva do leite.....	15
2.3 - Mastite bovina: etiologia e prevalência nos rebanhos leiteiros.....	17
2.4 - A mastite e seu impacto na qualidade do leite.....	21
2.5 - Resistências aos antimicrobianos em patógenos causadores de mastite.....	23
3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS.....	34
Artigo 1 – Contagem bacteriana total e contagem de células somáticas no leite do tanque como indicadores de perdas na produção de leite em rebanhos bovinos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil.....	35
Artigo 2 – Prevalências, relação com qualidade do leite e resistência a antimicrobianos em <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Streptococcus agalactiae</i> isolados de tanques de expansão em rebanhos bovinos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil, em 2017.....	49
Artigo 3 – Fatores de risco para contagens elevadas de células somáticas no leite do tanque em rebanhos de bovinos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil: um estudo de caso-controle.....	63

1 INTRODUÇÃO

A importância da atividade leiteira no cenário agropecuário brasileiro é incontestável, visto que segundo o último censo Agropecuário (IBGE, 2006), estimou-se que cerca de 1,35 milhões de propriedades rurais estejam envolvidas na atividade de produção leiteira, gerando milhões de empregos diretos e indiretos. O Brasil ocupa atualmente o quarto lugar na produção leiteira mundial, com a captação de 23,14 bilhões de litros de leite em 2016. O Estado de Minas Gerais é o maior produtor de leite do Brasil, com uma produção em 2016 de cerca de 6,5 bilhões de litros de leite (IBGE, 2017).

Apesar da posição de destaque no cenário mundial, a produtividade brasileira ainda é muito baixa, com uma média de apenas 1.381kg de leite/vaca/ano, enquanto que EUA tem uma produtividade média de 9.790kg/vaca/ano, em 2012 (USDA, 2012). A baixa produtividade nacional é consequência de problemas multifatoriais, onde os aspectos sanitários tem grande contribuição, principalmente doenças infecciosas, entre as quais se destaque a mastite, doença de maior prevalência e que causa os maiores prejuízos à pecuária leiteira em todos os continentes.

A relevância da mastite se deve à sua grande prevalência no rebanho nacional, que gera grandes perdas econômicas devido à queda de produção de leite dos animais afetados, seu impacto negativo na qualidade do leite e, também, pelos custos dos tratamentos e serviços veterinários, além de descartes de animais cronicamente afetados.

Além dos problemas econômicos e sanitários, a mastite requer o uso de antimicrobianos para sua prevenção e controle, o que pode gerar problemas de resíduos no leite e o incremento nos níveis de resistência dos microrganismos, face ao uso indiscriminado dos mesmos. O uso mais criterioso destes produtos requer, entre outras medidas, o monitoramento dos perfis de suscetibilidade aos antimicrobianos dos patógenos envolvidos em sua etiologia.

Entre os agentes causadores da mastite bovina, destacam-se *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, designados “Patógenos Maiores”, em função da alta prevalência e da gravidade dos quadros clínicos associados às infecções causadas pelos mesmos, o que justifica o conhecimento da epidemiologia da mastite ocasionada por estes patógenos e o impacto da doença na produtividade em rebanhos da região.

Os conhecimentos gerados com este estudo irão contribuir para o estabelecimento de programas de tratamento e de prevenção mais eficazes, que promovam a saúde animal, minimizando os prejuízos decorrentes da mastite, promovendo o bem estar animal, e minimizando os riscos à saúde dos consumidores em função da melhoria da qualidade dos produtos lácteos ofertados para o consumo.

Objetivo geral

Determinar a prevalência de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* e os índices de resistência destes agentes aos antibióticos, bem como os fatores de risco associados com a presença dos mesmos e seu impacto na contagem de células somáticas de tanque (CCSt), contagem bacteriana total (CBT) e na produção e qualidade do leite, em rebanhos bovinos da região de Campo das Vertentes, no sul de Minas Gerais.

Objetivos específicos

1. Determinar a prevalência de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, em rebanhos leiteiros da região dos Campos das Vertentes-MG, por meio da análise microbiológica do leite de tanques de expansão;
2. Correlacionar à presença das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* com a CCSt e a CBT e produção de leite;
3. Determinar os principais fatores de risco associados com escores elevados de CCSt em rebanhos bovinos da região de campos das Vertentes;
4. Estimar a média de perdas de produção de leite e impacto econômico nas propriedades da região de Campos das Vertentes em função dos escores de CCSt e da CBT;
5. Determinar os índices de resistência aos antimicrobianos das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* isoladas de tanques de expansão de rebanhos da região de Campos das Vertentes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 - Importância da pecuária leiteira na economia brasileira

A cadeia produtiva do leite no Brasil tem sido um dos mais importantes segmentos do agronegócio, desempenhando uma função vital no processo de desenvolvimento econômico e social do país (IBGE, 2015). Em 2016, o Brasil se destacou como o quarto maior produtor mundial de leite, atrás apenas de Estados Unidos, Índia e China, com uma produção estimada em 35 bilhões de litros de leite. Minas Gerais é o maior produtor entre os estados brasileiros, com uma captação estimada em 6.106.490 mil litros de leite (IBGE, 2016).

Apesar da posição de destaque entre os maiores produtores mundiais, a produtividade média de apenas 1.381 kg de leite/vaca/ano, enquanto que os Estados Unidos alcançaram produtividade em torno de 9.790 kg/vaca/ano (USDA, 2012). Uma das causas das causas da baixa produtividade dos rebanhos brasileiros, além de problemas econômicos, reprodutivos, nutricionais e gerenciais, são as doenças infecciosas que acometem endemicamente os nossos rebanhos. Neste contexto, a mastite bovina se destaca como a principal, gerando grandes perdas na produtividade dos animais e rebanhos afetados (KEEFE, 2012). Esta doença diminui a capacidade de produção de leite dos animais afetados, às vezes, de forma irreversível, o que conseqüentemente reduz a produção do rebanho, podendo ocasionar o descarte ou o óbito dos animais afetados (HOGEVEEN et al., 2011).

2.2 - A mastite e seu impacto na cadeia produtiva do leite

A mastite bovina tem sido apontada como a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros no mundo inteiro, causando sérios prejuízos econômicos tanto ao produtor de leite quanto à indústria de laticínios (TOZZETTI et al., 2008). Apesar de incontáveis estudos realizados com o intuito de minimizar essas perdas e da existência de medidas preventivas já bem estabelecidas para esta doença, ela ainda é responsável por perdas econômicas expressivas, (KEEFE, 2012).

As perdas econômicas decorrentes da mastite se devem à redução na produção leiteira, perda de qualidade do leite e conseqüente penalidade no preço pago, descarte de leite com resíduos de antibióticos, o aumento do uso de antibióticos para tratamentos, gastos com mão de obra e serviços veterinários (OVIEDO-BOYSO et al., 2007; LOPES et al., 2012).

A mastite causa alteração dos componentes do leite, com aumento no número de células somáticas (CCS), o que influencia na menor vida de prateleira dos produtos

lácteos (LOSINGER et al., 2005) e está diretamente relacionado com o rendimento de derivados lácteos (LOPES et al., 2012). Segundo HALASA et al. (2009), as alterações na qualidade do leite e redução da produção representam os maiores problemas causados pela mastite na indústria leiteira.

Souza et al. (2010) estimaram em 4,6 bilhões de litros de leite as perdas ocasionadas pela mastite subclínica em propriedades brasileiras, o que representaria aproximadamente 2,3 bilhões de reais, levando-se em conta os dados de produção e os preços pagos aos produtores no ano de 2009, no Brasil.

Hogeveen et al. (2011) estimaram que a Holanda, a Suécia e os EUA tem uma perda econômica média decorrente da mastite entre US \$ 80 a \$ 125 por vaca. Estes mesmos autores ainda citaram ainda que estes custos podem variar muito entre as fazendas, como nas fazendas leiteiras neozelandesas, onde as estimativas de custo para a mastite variaram de € 17 a € 198 por vaca por ano.

Halasa et al. (2009), em estudo realizado ao longo de um período de um ano em 400 rebanhos leiteiros holandeses, estimaram que o custo anual médio da mastite causada por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* foi de 4.896 €, por vaca, com perdas diárias de leite de 0,54 a 0,62 litros por vaca.

Várias metodologias têm sido utilizadas para o estudo dos efeitos da mastite na produtividade e seu impacto financeiro na propriedade. Uma destas é o estudo da alteração da produção em 305 dias em lactação, associado ao aumento da média da CCS durante a lactação. Seguindo esta metodologia, demonstrou-se uma perda de 135 ± 20 kg de leite na primeira lactação, e uma perda de 270 ± 30 kg para todas as outras lactações (RAUBERTAS; SHOOK, 1982).

Hortet e Seegers (1998), visando demonstrar as perdas econômicas devido à mastite subclínica, fizeram uma revisão bibliográfica focando as relações entre a CCSt e as variações na produção leiteira. Verificaram que as perdas médias de produção foram de 0,4 kg de leite em vacas primíparas e de 0,6 kg em múltíparas, por cada aumento de 50.000 células somáticas por mL de leite.

Lopes et al. (2011) simularam o impacto econômico anual da mastite, tomando por referência uma vaca em lactação, em rebanhos com CCSt de 250.000 e 1.000.000 de células por mL de leite, considerando perdas na produção de 0%; 6%; 12% e 18%, respectivamente, para CCSt de 200.000; 500.000; 750.000 e 1.000.000, devido à presença de mastite subclínica e menor preço pago pela indústria. Os resultados apontaram perdas que variaram de R\$ 1.333,90 a R\$ 2.145,89 e de R\$ 0,2146 a R\$ 0,4311/kg de leite, para CCSt de 250.000 e 1.000.000 de células por mL de leite, respectivamente. Em outro estudo, Lopes et al. (2012) relataram alta representatividade das perdas

decorrentes por redução na produção de leite, representando 43,8% do impacto econômico, dependendo do nível de mastite subclínica no rebanho.

Além de todas as perdas causadas pela mastite, não se pode deixar de destacar que ela também pode ter impactos na saúde pública, devido à presença de agentes que podem transmitir graves doenças aos seres humanos, bem como causar intoxicações alimentares. Além disto, o leite pode conter resíduos de antibióticos e bactérias resistentes que podem ser propagadas na comunidade (DE VLIEGHER et al., 2012).

2.3 - Mastite bovina: etiologia e prevalência nos rebanhos leiteiros

A mastite é uma reação inflamatória da glândula mamária, geralmente associada a presença de micro-organismos, cuja nomenclatura originou-se do grego *masto*- glândula mamária e *itis* – inflamação (BLOOD; STUDDERT, 1999; NOTEBAERT; MEYER, 2006). Tem como causa a interação de fatores relacionados ao animal, patógenos e ambientes, que culmina com o processo inflamatório da glândula mamária em consequência a agressões físicas, químicas, térmicas ou microbianas (BRITO et al., 2000).

Em função da intensidade dos sinais clínicos, a mastite é classificada em clínica ou subclínica. A forma clínica apresenta os sinais característicos de inflamação, tais como o edema, hipertermia, endurecimento e dor da glândula mamária e/ou aparecimento de grumos, pus ou outras alterações das características do leite. A mastite subclínica se caracteriza por alterações na composição do leite, mas sem manifestações clínicas evidentes. Entre as principais alterações do leite, destacam-se o aumento da CCS, o aumento dos teores de Cl e de Na, aumento das proteínas séricas e diminuição dos teores de caseína, gordura, sólido total e lactose do leite. A enfermidade reduz a produção leiteira, chegando em muitos casos a causar perda de um ou mais quartos mamários (TOZZETI et al., 2008).

A infecção da glândula mamária ocorre majoritariamente por invasão canal do teto por micro-organismos, processo que se estende à cisterna da glândula e ao parênquima secretor. Esta invasão ocorre geralmente durante a ordenha, através das mãos do ordenhador ou outros materiais contaminados, podendo, no entanto, ocorrer quando os animais estão em ambientes contaminados, durante o período entre as ordenhas. O canal do teto se mantém aberto durante um período de uma a duas horas após a ordenha, o que facilita a penetração dos microrganismos ambientais (AIRES, 2010).

Os agentes causadores da mastite são classificados em contagiosos ou ambientais, de acordo com o modo de transmissão. Os patógenos contagiosos são mais adaptados ao animal e estão

geralmente associados com infecções subclínicas, enquanto que os patógenos ambientais são geralmente menos adaptados, considerados oportunistas, e estão geralmente associados a infecções intramamárias (IIM) clínicas (SCHUKKEN et al., 2009). Os agentes contagiosos são geralmente transmitidos entre os animais, através de equipamentos contaminados ou através das mãos contaminadas do ordenhador, enquanto que os ambientais são caracterizados pela transmissão do ambiente contaminado para o úbere da vaca (BRADLEY; GREEN, 2000).

Os principais patógenos contagiosos causadores de mastite em bovinos são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. Os patógenos ambientais são aqueles presentes em fezes, água contaminada, solo e cama dos bovinos, sendo *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. os mais comuns (TALBOT; LACASSE, 2005).

As bactérias *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *E. coli* e *S. uberis* normalmente causam maiores danos ao úbere que outros patógenos causadores de mastite, e por isto são denominados patógenos principais ou maiores (REYHER et al., 2012). Segundo Cremonesi et al. (2005), *S. aureus* e *S. agalactiae* são os agentes mais frequentemente isolados de casos de mastite, sendo responsáveis por aproximadamente 90% das IIM em bovinos leiteiros.

Ziech et al. (2013) estudaram a mastite em propriedades leiteiras localizadas em um município da região central do Rio Grande do Sul. Verificaram que 53% dos animais tiveram pelo menos um quarto positivo ao CMT, indicando presença da mastite subclínica. A partir da cultura de amostras de leite dos quartos afetados, isolaram 199 agentes, dos quais 30,7% foram identificados como *Corynebacterium* spp., 30,7% como *Staphylococcus* coagulase positiva, seguidos de *Staphylococcus* coagulase negativa (23,1%) e *S. agalactiae* (4,5%).

Peter et al. (2013) observaram em 274 propriedades leiteiras no sul do RS, médias de contagens de *S. aureus* e de *Staphylococcus* spp. de $4,8 \times 10^3$ UFC/mL e $5,9 \times 10^4$, UFC/mL, respectivamente. De acordo com os pesquisadores, estes resultados geram grande preocupação do ponto de vista de saúde pública, devido à ampla distribuição dos agentes e à sua grande patogenicidade.

Oliveira et al. (2011), em estudo realizado em rebanhos da bacia leiteira de Rondon, no Estado do Pará, verificaram que as bactérias isoladas a partir de casos de mastite clínica foram *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (25%), *S. aureus* (16,7%), *Streptococcus* spp. (8,3%) e *Corynebacterium* spp. (8,3%). Na etiologia da mastite subclínica, foram identificados *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (32,3%), *S. aureus* (17,7%), *Staphylococcus intermedius* (1,6%), *Streptococcus* spp. (4,8%), *Corynebacterium* spp. (4,8%) e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo associado com *S. aureus* (1,6%). Não houve crescimento de micro-organismos em 41,7%

das amostras provenientes de animais com mastite clínica e em 37,1% das provenientes de casos subclínicos.

Langoni et al. (2011) observaram em dez propriedades rurais localizadas no Estado de São Paulo, frequências de 29,52% para *Corynebacterium bovis*, 11,9% para *Streptococcus dysgalactiae* e de 10,48% para *S. aureus*. Em outro estudo realizado neste mesmo Estado, em cinco rebanhos leiteiros da região de Pirassununga, entre setembro a novembro de 2000, as frequências médias de mastite clínica e de subclínica em animais foram 7,46% e 63,68%, respectivamente (BUENO et al., 2002).

Costa (2008), em estudo sobre a epidemiologia da mastite em 35 rebanhos bovinos da região sul de Minas Gerais, verificou que a *Staphylococcus aureus* e *S. agalactiae* foram os dois principais patógenos associados aos casos de mastite clínica e subclínica, com prevalências de 34,29% e 21,82%, respectivamente, nos animais amostrados.

Oliveira et al. (2013) isolaram *S. aureus* em diferentes pontos de amostragem no ambiente de ordenha de propriedades leiteiras de São Paulo, verificando percentuais de positividade em amostras de leite individual de vacas entre 0 a 15,5%.

Motta et al. (2013) analisaram amostras de leite obtidas de vacas acometidas pela mastite, na bacia leiteira da região sudeste do Estado de São Paulo. Foram isolados 605 micro-organismos, com predomínio de enterobactérias e dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*. *Staphylococcus* spp. representou 13,06% dos agentes isolados, dos quais 65,82% foram classificados como *Staphylococcus* spp. coagulase positivos e 34,18% como *Staphylococcus* spp. coagulase negativos.

Em um estudo envolvendo oito fazendas leiteiras do Estado de São Paulo, no qual foram analisadas amostras de leite de quartos mamários dos animais afetados pela mastite, 18,1% das amostras analisadas apresentaram crescimento de microrganismos, sendo que os mais frequentemente foram *Staphylococcus* spp. (10,4%) e *Streptococcus* spp. (4,6%) (CASTELANI et al., 2013).

No Estado de Pernambuco, um levantamento apontou prevalência de 53,49% de mastite nos rebanhos estudados, observando a frequência de 27,91% para *Corynebacterium* spp., 20,16% para *Staphylococcus aureus*, 18,60% *Staphylococcus* spp. e 4,65% *Streptococcus* spp. (TEST; CHAVE, 2001).

Peixoto et al. (2013), também no Estado de Pernambuco, verificaram, em exames microbiológicos de 322 amostras de leite coletadas de quartos acometidos por mastite, que 48,4% (156/322) não apresentaram crescimento de micro-organismos, em 28,9% (93/322) houve crescimento de *Corynebacterium* spp., em 17,7% (57/322) e de *Staphylococcus* spp., em 2,2% (7/322).

Brito et al. (1999) descreveram que, em Minas Gerais, *S. agalactiae* encontra-se em 60% das propriedades das regiões da Zona da Mata e de Campos das Vertentes. Noutro estudo, Elias et al. (2012) observaram uma prevalência de 39,7% do *S. agalactiae* em propriedades localizadas em Minas Gerais.

Na cidade de Sacramento-MG, foi observada prevalência de 40% para a mastite entre os rebanhos, sendo que 70,3% dos agentes isolados de animais acometidos foram caracterizados bioquimicamente como pertencentes à espécie de *S. aureus* (SOUZA et al., 2013).

Oliveira et al. (2013b) estudaram a etiologia da mastite em uma população composta por 112 rebanhos com aproximadamente 6.000 vacas em lactação localizadas nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, tendo verificado que a prevalência para *S. aureus* e *S. agalactiae* foi de 93,0% e 41,0%.

Wilson et al. (1997) relataram que a maioria das IIM (>75%) é causada por *Streptococcus* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativa. Neste estudo, os pesquisadores observaram uma maior prevalência para *Staphylococcus* spp. (11,3%), *Streptococcus agalactiae* (10,1%), *Staphylococcus aureus*

Makovec e Ruegg (2003) relataram prevalências de 9,7% para *Staphylococcus aureus*, de 3,0% para *Streptococcus agalactiae*, 17,5% para *Staphylococcus* coagulase-negativo, 20,1% para *Streptococcus* spp., e de 6,7% para *Escherichia coli* entre 77.172 amostras de leite submetidas para exame microbiológico no Laboratório de Diagnóstico Veterinário de Wisconsin, entre os anos de 1994 e 2001.

Segundo Oliver et al. (2004), *Streptococcus agalactiae* foi a maior causa de casos de mastite na época em que não se utilizava tratamento antimicrobiano, o que levou ao desenvolvimento de mastites crônicas em muitos rebanhos. De acordo com Zadoks et al. (2011) este patógeno é uma das espécies de estreptococos identificadas em IIM e tem sido detectado em 31 a 48% de amostras de leite de tanque.

Em uma pesquisa realizada com o intuito de estudar a prevalência do *S. agalactiae* na América do Sul, observou-se que esta bactéria está presente em 60% dos rebanhos brasileiros, em 42% dos rebanhos Colômbia e em 11% nos uruguaios (KEEFE, 2012). Nos últimos anos essa bactéria está sendo considerada um patógeno re-emergente nos rebanhos leiteiros da Europa (RADTKE et al., 2012; ALMEIDA et al., 2013).

Embora o percentual de mastite causada por *S. agalactiae* em algumas pesquisas seja baixo, estudos realizados no Brasil demonstraram que esta bactéria continua a ser um dos patógenos mais importantes na etiologia da mastite bovina, o qual tem sido isolado em diferentes regiões do país com prevalências que variaram de 3,2% a 33% (SANTOS et al., 2007).

2.4 - A mastite e seu impacto na qualidade do leite

Segundo Guerreiro et al. (2005), o leite, por natureza, é um alimento rico em nutrientes, contendo proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e sais minerais e sua qualidade é um dos temas mais discutidos atualmente dentro do cenário nacional de produção leiteira.

A melhoria da qualidade do leite obtido no Brasil começou a tomar forma em 2002, através da Instrução Normativa nº51/2002, publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento –MAPA (BRASIL, 2002), que estabeleceu regras para sua estocagem, transporte e requisitos de qualidade. A IN51 foi revista em 29 de dezembro de 2011, através da publicação da Instrução Normativa nº 62 (IN62) (BRASIL, 2011) e posteriormente em 03 de maio de 2016 (IN 7) (BRASIL, 2016), visando basicamente adequar os prazos para os produtores se enquadrarem aos critérios estabelecidos pela Legislação. A legislação vigente estabelece os parâmetros que indicam a saúde da glândula mamária e a qualidade higiênico-sanitária do leite através da Contagem de Células Somáticas (CCS), com no máximo 500.000 cels/ml de leite e a Contagem Bacteriana Total (CBT), com limite máximo de 300.000 UFC/ml de leite.

O leite tem sua composição e qualidade alteradas quando oriundo de vacas com mastite. A intensidade das alterações depende da resposta inflamatória do animal, dos fatores de virulência do agente etiológico da doença e da extensão do tecido afetado (ZAFALON et al., 2005). A resposta imune pode variar entre diferentes agentes patogênicos e cada agente pode determinar alterações específicas no leite (BANNERMAN et al., 2004; LEITNER et al., 2006).

Segundo Philpot e Nickerson (1991), os leucócitos correspondem a 98 a 99% das células somáticas encontradas no leite. O processo inflamatório provoca a liberação de substâncias químicas devido à ação dos agentes patogênicos e da destruição de tecido secretor, o que induz a passagem de leucócitos do sangue para o interior da glândula. Estas células têm a função de combater os agentes patogênicos.

A CCS individual normal é de aproximadamente $68.000 \text{ células/mL}^{-1}$ no leite de uma vaca com todos os quartos mamaros sem nenhum tipo de infecção. Escores de CCS individual acima de 200.000 cel./mL de leite são indicativos de processo infeccioso na glândula mamária (LAEVENS et al., 1997; SCHEPERS et al., 1997; DJABRI et al., 2002).

A mastite é a principal causa do aumento da contagem de células do leite que, na maioria dos casos, é resultado de uma infecção bacteriana. Como resultado da inflamação, as paredes dos vasos sanguíneos se tornam dilatadas e diversas substâncias do sangue passam junto com os leucócitos para a luz da glândula, misturando-se ao leite. Entre estas substâncias podem ser citados

os íons Cl e Na e bicarbonatos que alteram as características físico-químicas e sensoriais do leite. Devido às lesões no tecido mamário, as células secretoras se tornam menos eficientes, isto é, com menor capacidade de produzir e secretar o leite. Isso explica a perda de qualidade e a redução da produção do animal (BRITO; BRITO, 2001).

A CCS é o instrumento mais preciso de avaliação da saúde da glândula mamária. É considerada normal, para tanque de mistura, a CCS menor ou igual a 200 mil células mL⁻¹; sendo que valores superiores a este limite são indicativos de mastite no rebanho (SANTOS; FONSECA, 2007). Segundo Viguier et al. (2009), o aumento da CCS é o principal indicador de mastite no rebanho.

De acordo com Machado et al. (2000), as células somáticas são normalmente, células de defesa do organismo que migram do sangue para o interior da glândula mamária com o objetivo de combater agentes agressores, mas podem ser também, células de descamação do epitélio glandular. Deste modo, a CCS de uma vaca permite a quantificação do grau de infecção da glândula mamária, e a avaliação periódica da CCSt do rebanho permite a determinação da incidência média de mastite no rebanho.

O monitoramento da CCS no leite de animais individuais ou no leite de tanque é uma ferramenta valiosa para a avaliação do nível de mastite subclínica no rebanho, para a estimativa das perdas quantitativas e qualitativas de produção do leite e derivados, como indicativo da qualidade do leite produzido na propriedade, sendo essencial para se estabelecer as medidas de prevenção e controle da mastite (MÜLLER, 2002).

Djabri et al. (2002) verificaram que a CCS em animais acometidos pela mastite apresenta variações que dependem do patógeno envolvido, podendo variar entre 105.000 células/mL⁻¹ em infecções acometidas por *Corynebacterium bovis*, até 1.151.000 células/mL⁻¹ em infecções causadas por *E. coli*. Neste mesmo estudo, verificaram que *S. aureus* e *S. uberis* induziram um contagens de 357.000 e 1.024.000 células/mL⁻¹, respectivamente.

RIBAS et al. (2014) avaliaram os ECS (escores de células somáticas) e suas relações com os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais em 1.950.034 amostras de leite do leite cru de tanques de expansão. Verificaram que altas CCSt influenciaram a composição do leite, afetando sua qualidade, alterando a permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula mamária e reduzindo a secreção dos componentes do leite sintetizados (proteína, gordura e lactose) pela ação direta dos patógenos ou de enzimas.

Schukken et al. (2009) relataram que as IIM causadas por *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), mais frequentes em novilhas quando comparado às vacas multíparas, resultaram em um aumento moderado da CCS. IIM ocasionadas por *Corynebacterium* causaram aumento

moderado da CCS, enquanto àquelas ocasionadas por *S. agalactiae*, *Streptococcus* spp. e *S. aureus* apresentaram impacto relevante na CCS.

De acordo com Haas et al., (2002), variações da CCS podem ser observadas durante o curso da infecção e em função do agente etiológico da mastite. Um exemplo é a mastite causada por coliformes, na qual CCS é baixa antes e depois da ocorrência da mastite clínica, enquanto que, no caso clínico de mastite por *S. aureus* e *Streptococcus*, a CCS aumenta no início da infecção e permanece elevada até a cura, e pode ocorrer de manter-se num nível elevado mesmo após a eliminação da mastite.

A análise de leite de tanque é amplamente aceita como ferramenta para a avaliação da qualidade do leite e monitoramento da saúde do úbere do rebanho (RYSANEK et al., 2007). Segundo Jayarao e Wolfgang (2003), a contagem bacteriana do leite do tanque pode fornecer uma base de informações significativas em relação às práticas de higiene de manejo de ordenha e de limpeza de equipamentos de ordenha. Além disso, a análise de leite de tanque é menos onerosa, menos trabalhosa e mais rápida do que a análise de leite de animais individuais. Por outro lado, segundo Jayarao et al. (2004), os resultados de cultura de leite de tanque têm sido criticados pela sua baixa sensibilidade em detectar patógenos contagiosos da mastite, como *S. agalactiae* e/ou *S. aureus* dentro do rebanho. O aumento da sensibilidade de detecção de *S. agalactiae* e/ou *S. aureus* pode ser alcançado com a realização de análises microbiológicas seriadas, repetindo-se a cultura durante um período de tempo, cultivando-se maiores volumes de leite ou utilizando-se de meios de cultura seletivos e enriquecidos.

Apesar da baixa sensibilidade de detecção, a cultura de leite de tanque possui alta especificidade para patógenos contagiosos, sendo uma ferramenta útil no monitoramento destes micro-organismos, uma vez que a presença de *S. agalactiae* ou *S. aureus* por meio de cultura microbiológica pode ser considerado um indicador confiável da presença destes patógenos no rebanho (GODDEN et al., 2002).

2.5 - Resistências aos antimicrobianos em patógenos causadores de mastite

Uma das principais preocupações atualmente no controle da mastite é a resistência dos patógenos aos antimicrobianos, fenômeno que vêm crescendo em importância (BRITO; BRITO, 2001).

BRITO et al. (2001) determinaram a concentração mínima inibitória (CMI) de alguns antimicrobianos para o *Staphylococcus aureus* isolados da mastite e verificaram que 100% das amostras foram susceptíveis à cefalotina, eritromicina, gentamicina, norfloxacin e oxacilina, 91% à

tetraciclina e à tilosina, 65% à ampicilina e à penicilina G. Todos os isolados testados foram susceptíveis à neomicina, exceto um que apresentou um padrão intermediário.

Zanette et al. (2010) pesquisaram o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em isolados de *S. aureus*, por meio da técnica de difusão em disco. Verificaram que os antibióticos com maior eficácia *in vitro* foram ciprofloxacino e sulfazotrim, com 97,44% e a vancomicina, com 94,87%. As drogas menos efetivas foram a penicilina, com 46,15% de resistência e tetraciclina, com 30,77%.

Saeki et al. (2011), também pesquisando sobre o perfil de sensibilidade aos antibióticos comerciais em isolados de *Staphylococcus aureus*, verificaram que os antibióticos mais eficientes foram a gentamicina (10 µg), cefalexina (30 µg) e ciprofloxacina (10 µg) com 100% de eficácia, seguidos de norfloxacino (94,6%).

Moroni et al. (2006), avaliaram a suscetibilidade aos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados do leite de vacas acometidas pela subclínica β-lactâmicos, na Itália. Demonstraram que as concentrações inibitórias mínimas (CIM) somente para certas penicilinas β-lactamase-resistentes (especificamente cloxacilina) ou combinações com penicilina (amoxicilina + clavulanato) foram consistentemente eficazes contra *Staphylococcus aureus*, enquanto que os outros derivados de β-lactâmicos e drogas de outros grupos farmacêuticos foram ambos moderadamente eficazes ou ineficazes.

Hartwig et al. (2014) determinaram a Concentração Mínima Inibitória (CMI) do sulfato de cefquinoma, avaliando sua eficácia frente aos agentes bacterianos: *Staphylococcus* spp. (coagulase negativo), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Trueperella pyogenes*, *Nocardia* spp., *Corynebacterium* spp. e *Bacillus cereus*, isolados de amostras de leite de vacas que apresentavam mastite clínica ou subclínica. As CMIs para cada uma das bactérias testadas variaram em um intervalo de 0,014 a 115,781 µg.ml⁻¹, mas as CMIs obtidas para a maioria dos agentes bacterianos foram inferiores a 2 µg.ml⁻¹, com exceção da *Nocardia* spp. que somente foi inibida em concentrações maiores de antibióticos, e do *Staphylococcus aureus* que apresentou resistência a todas as concentrações de sulfato de cefquinoma avaliadas.

Diniz et al. (2010) avaliaram a resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus* provenientes de animais com histórico de mastite recorrente, através da concentração inibitória mínima (CIM). Verificaram 51,35% de isolados resistentes à oxacilina, salientando os problemas de insucesso do tratamento e da recorrência da infecção associado a estes isolados.

Santos et al. (2006) avaliaram a suscetibilidade aos antimicrobianos em *Staphylococcus* spp. isolados de vacas com mastites clínica ou subclínica, na região de Uberlândia-MG. Demonstraram que dois isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva foram resistentes à oxacilina

com CIM de 512 mg/mL e 1028 mg/mL, respectivamente, evidenciando uma elevada porcentagem de cepas resistentes, reforçando a importância do uso adequado e monitorado de antibióticos.

Schlegelová et al. (2002) determinaram a CIM de estirpes de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativo* (SCN), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* e *Bacillus cereus*, isolados de 111 amostras de leite de tanque de expansão, frente aos antimicrobianos amicacina, ampicilina, ampicilina + sulfabactan, cefalotina (CLT), cefotaxima, clindamicina, cloranfenicol (CMP), o co-trimoxazole, eritromicina (ERY), gentamicina, neomicina, norfloxacin, oxacilina, penicilina, estreptomicina (STR), tetraciclina (TTC) e vancomicina. A resistência contra um ou mais antimicrobianos foi encontrada em 93% de *S. aureus*, 40% dos SCN, 73% de *E. coli*, 88% de *E. faecalis*, 55% de *E. faecium*, e uma cepa *L. monocytogenes*. A maior parte dos micro-organismos, particularmente os enterococos, foram resistentes a STR, TTC, e ERY (MIC₅₀ 4 µg/mL). Alta resistência a CLT foi verificada para 11 estirpes de *E. coli* (MIC 256 µg/ml) que também foram resistentes a CMP (MIC₉₀ 16 µg/ml). O maior número de fenótipos de resistência foi encontrado para *E. coli* (16), seguido de SCN (12). Dezoito fenótipos de resistência idênticos foram demonstrados em *E. coli*, *E. faecalis* e *E. faecium*, *S. aureus* e SCN isolados a partir da mesma amostra de leite de tanque de expansão. Segundo os autores, os resultados demonstram o problema da resistência não apenas entre os agentes patogênicos, mas também entre bactérias indicadoras que podem se tornar disseminadoras de genes de resistência.

Bengtsson et al. (2009) relataram a resistência aos antimicrobianos em diversos patógenos causadores de mastite. Entre os isolados de *S. agalactiae*, dois eram resistentes à tetraciclina, um CIM elevadas (>8 mg/L) para a clindamicina, eritromicina (1 mg/L) e espiramicina (> 64 mg / L), indicando também a resistência adquirida a estes agentes antimicrobianos.

Guérin-Faubleé et al. (2002) analisaram a susceptibilidade a antimicrobianos em diferentes espécies de *Streptococcus* isolados de IIM, incluindo 50 cepas de *Streptococcus uberis*, 42 de *S. dysgalactiae* e oito de *S. agalactiae*. A resistência à tetraciclina foi a mais frequente (em particular para as estirpes de *S. dysgalactiae*). Todas as cepas de *S. dysgalactiae* e *S. agalactiae* foram suscetíveis β-lactâmicos, mas 44% das cepas de *S. uberis* mostraram uma elevada resistência a penicilina. Também se observou resistência elevada à estreptomicina (CIM >1024 mg/L) em 18%, 25% e 4,8% de *S. uberis*, *S. dysgalactiae* e *S. agalactiae*, respectivamente, enquanto que 10%, 0% e 4,8 foram resistentes à kanamicina. Todos as cepas de *S. dysgalactiae* e de *S. agalactiae* foram sensíveis à penicilina G. Oito cepas de *S. agalactiae* foram resistentes ao trimetoprim. Todos os isolados avaliados foram suscetíveis a cloranfenicol, rifampicina e rifaximina. Em geral, 48%, 7,1% e 0% de *S. uberis*, *S. dysgalactiae* e *S. agalactiae*, respectivamente foram sensíveis a todos os

antimicrobianos compostos testados. Altas prevalências de resistência foram observadas para tetraciclina e trimetoprim entre os isolados de *S. dysgalactiae* e *S. agalactiae*.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mastite é a enfermidade mais relevante na pecuária leiteira, acarretando prejuízos aos produtores, devido às perdas produtivas e despesas com tratamentos, e para as indústrias de laticínios, devido à perda de qualidade da matéria-prima. Pode ainda causar problemas à saúde do consumidor, seja pela presença de patógenos transmissíveis no leite e derivados, seja por resíduos de drogas administradas com intuito de tratar os animais afetados pela doença. Diante disto, ressalta-se que a mastite deve ser motivo de atenção e preocupação entre todos os segmentos envolvidos na cadeia leiteira, e que os estudos sobre a mesma devem ser permanentes, tendo em vista que sua epidemiologia é processo bastante dinâmico.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES, T. A. C. P. **Mastites em Bovinos : caracterização etiológica , padrões de sensibilidade e implementação de programas de qualidade do leite em explorações do Entre-Douro e Minho.** 2010. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2010.
- ALMEIDA, A. et al. Detection and discrimination of common bovine mastitis-causing streptococci. **Veterinary Microbiology**, v. 164, n. 3–4, p. 370–377, jun. 2013.
- BANNERMAN, D. D. et al. *Escherichia coli*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 11, n. 3, p. 463–472, 2004.
- BARBALHO, T.C.F.; MOTA, R. A. Isolation of bacterial agents associated with subclinical mastitis in bovine in the State of Pernambuco. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** v. 2, n. 2, p. 31-36, 2001.
- BENGTSSON, B. et al. Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. **Veterinary Microbiology**, v. 136, n. 1–2, p. 142–149, 2009.
- BRADLEY, A J.; GREEN, M. J. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 9, p. 1957–65, set. 2000.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, tipo B, Tipo C e Cru refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p.13, 29 set. 2002.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa 62 de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 30 dez. 2011.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa 07 de 03 de maio de 2016. Dispõe sobre alterações no regulamento técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 84 maio. 2016.
- BRITO, J. R. F. et al. Avaliação da eficiência do “Kit Embrapa Ordenha Manual” para melhorar a qualidade microbiológica do leite em pequenas propriedades de quatro regiões brasileira. Congresso Internacional Do Leite. **Anais...Resende: Embrapa Gado de Leite**, 2007
- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. E; VERNEQUE, R. DA S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 847–850, out. 2000.
- BRITO, M. A. V. P. et al. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina 1. v. 18, n. 1, p. 39–44, 1998.
- BRITO, M. A. V. P. et al. Concentração mínima inibitória de dez antibióticos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 5, p. 531–537, out. 2001.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. Qualidade do leite. In: **Produção de leite e a sociedade.** FEPMVZ, Belo Horizonte, MG. v. 1, p. 61–74. 2001

- BRITO, M. A. V et al. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arq. Bras. Med. Vet. ...**, v. 51, n. 2, p. 129–135, abr. 1999.
- BUENO, V. F. F. et al. Mastite bovina clínica e subclínica , na região de Pirassununga, SP: frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 4, n. 2, p. 47–52, 2002.
- CARVALHO, G. R. A Indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro. **Circular Técnica**. Juiz de Fora. 2010 . Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/870411/1/CT102.pdf>>.
- CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F. Impacto da Instrução Normativa 51 na qualidade do leite. 4 Encontro de pesquisadores em Mastites. **Anais...Botucatu - SP: FMVZ – UNESP**, 2007
- CASTELANI, L. et al. Avaliação da prevalência e etiologia da mastite bovina de oito fazendas leiteiras do estado de São Paulo. V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL. **Anais...Botucatu - SP: 2013**
- CAVAZOS, G. F. Useful ideas and principles for the implementation of reinforcement programs to keep milkers motivated. Proc. Natl. Mastitis Council., Fort Worth. **Anais...Madison: Natl. Mastitis Council. Inc**, 2003
- CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PEECUÁRIA DO BRASIL - CNA. PIB Cadeias do Agronegócio, GDP Supply Chains – Brazilian Agribusiness. **Relatório 4 trimestre de 2016**, 2017
- COENTRÃO, C. M. et al. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 283–288, 2008.
- COLDEBELLA, A. et al. Contagem de Células Somáticas e Produção de Leite em Vacas Holandesas Confinadas 1 Somatic Cells Count and Milk Yield in Confined Holstein Cows. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 623–634, 2004.
- COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M. **Mastite bovina : Controle e Prevenção**. Boletim Técnico. UFLA. Lavras, 2012.
- COSTA, G. M. et al. Population diversity of Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis in Brazilian dairy herds. **Research in veterinary science**, v. 93, n. 2, p. 733–5, out. 2012.
- COSTA, G. M. DA. **Mamite bovina em rebanhos leiteiros da região sul do estado de Minas Gerais**. Tese (Doutorado em Sanidade Animal). Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.
- CREMONESI, P. et al. Development of a Multiplex PCR Assay for the Identification of Staphylococcus Aureus Enterotoxigenic Strains Isolated from Milk and Dairy Products. **Molecular and Cellular Probes** v. 19, n. 5, p. 299–305, 2005.
- CULLOR, J. S.; TYLER, J. W.; SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 2006. p. 1784.
- DE HAAS, Y.; BARKEMA, H. W.; VEERKAMP, R. F. The effect of pathogen-specific clinical mastitis on the lactation curve for somatic cell count. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 5, p. 1314–1323, 2002.
- DE OLIVEIRA, J. M. B. et al. Fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Garanhuns, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 391–395, 2012.
- DE VliegHER, S. et al. Invited review: Mastitis in dairy heifers: nature of the disease, potential impact, prevention, and control. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 3, p. 1025–40, mar. 2012.
- DINIZ, C. M. et al. Resistência a oxacilina em Staphylococcus spp isolado de leite mastítico. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 69, n. 4, p. 482–488, 2010.
- DJABRI, B. et al. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: A meta-analysis. **Veterinary Research**, v. 33, n. 4, p. 335–357, 2002.

- DONG, F.; HENNESSY, D. A.; JENSEN, H. H. Factors determining milk quality and implications for production structure under somatic cell count standard modification. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 11, p. 6421–6435, nov. 2012.
- EDMONDSON, P. W. Estratégias para a produção de leite de alta qualidade. Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle da Mastite. **Anais...Ribeirão Preto: 2002**
- ELIAS, A. O. et al. Molecular detection of *Streptococcus agalactiae* in bovine raw milk samples obtained directly from bulk tanks. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 34–38, 2012.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Livestock Primary**. 2017.
- FONSECA, L.; SANTOS, M. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.
- GODDEN, S. et al. Field validation of a milk-line sampling device for monitoring milk component data. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 9, p. 2192–6, 2002.
- GONÇALVES, A. G. et al. Mastite, células somáticas e antibióticos no leite de vacas ordenhadas na região do alto pantanal sul-mato-grossense. 4 EPEX. **Anais...2013** Disponível em: <<http://www.uems.br/eventos/epex/>>
- GUÉRIN-FAUBLÉE, V. et al. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus* species isolated from clinical mastitis in dairy cows. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 19, n. 3, p. 219–226, 2002.
- GUERREIRO, P. K. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 1, p. 216–222, 2005.
- HALASA, T. et al. Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 2, p. 599–606, fev. 2009.
- HARTWIG, C. DE A. et al. Determinação da concentração mínima inibitória de sulfato de cefquinoma frente a agentes bacterianos associados a casos de mastite bovina. **Science And Animal Health**, v. 2, n. 2, p. 115–125, 2014.
- HOGVEEN H, et al. Economic aspects of mastitis: new developments. **N Z Vet J.**, v. 59, n.1, p. 16–23. 2011.
- HORTET, P.; SEEGERS, H. Review article Calculated milk production losses associated with elevated somatic cell counts in dairy cows : review and critical discussion. **Veterinary Research**, v. 29, p. 497–510, 1998.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário 2006**. Brasília. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acessado em 12 de julho de 2016.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatística de captação de leite 2015**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201404_2.shtm> Acessado em 15 de julho de 2017.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Abate de animais, produção de leite, couro e ovos 2016**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201504_2.shtm> Acessado em 15 de julho de 2017.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatística da Produção Pecuária 2017**. v. 1, n. 1, p. 1–78, mar. 2017. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria>> Acessado em 2 de outubro de 2017.

- JAYARAO, B. M. et al. Guidelines for Monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial Counts. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3561–3573, 2004.
- JAYARAO, B. M.; WOLFGANG, D. R. Bulk-tank milk analysis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 19, n. 1, p. 75–92, mar. 2003.
- KEEFE, G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 28, n. 2, p. 203–16, jul. 2012.
- LAEVENS, H. et al. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 12, p. 3219–3226, 1997.
- LANGONI, H. et al. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Colégio Brasileiro de Patologia Animal - CBPA, v. 31, n. 12, p. 1059-1065, 2011.
- LEITNER, G. et al. Interactions between bacteria type, proteolysis of casein and physico-chemical properties of bovine milk. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 6, p. 648–654, 2006.
- LOSINGER, W. C. et al. Economic impacts of reduced milk production associated with an increase in bulk-tank somatic cell count on US dairies. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. n. 226, p. 1652-1658, 2005.
- LOPES, M. A. et al. Influência Da Contagem De Células Somáticas Sobre O Impacto Economico Da Mastite Em Rebanhos Bovinos Leiteiros. **Arquivos Do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 493–499, 2011.
- LOPES, M. A. et al. Avaliação do Impacto Econômico da Mastite. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 477–483, 2012.
- MACHADO, P. F. et al. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 2, p. 359–361, 2000.
- MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍES, G. A. Composição do Leite de Tanques de Rebanhos Brasileiros Distribuídos Segundo sua Contagem de Células Somáticas. **Rev. bras. zootec.**, v. 29, n. 6, p. 1883–1886, 2000.
- MAGALHÃES, H. R. et al. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 415–421, abr. 2006.
- MAKOVEC, J. A; RUEGG, P. L. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 11, p. 3466–72, nov. 2003.
- MENDONÇA, J. F. M. . et al. Fatores de risco para mastite subclínica em rebanhos leiteiros localizados na região de Santos Dumont, estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 14, n. 3, p. 71, 2016.
- MORE, S. J. Global trends in milk quality: implications for the Irish dairy industry. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, p. 5–14, 2009.
- MORONI, P. et al. Susceptibilidade às drogas antimicrobianas de *Staphylococcus aureus* oriundos de mastites bovinas subclínicas na Itália. **American Dairy Science Association**, v. 89, p. 2973–2976, 2006.
- MOTTA, R. G. et al. Indicadores de qualidade microbiológica, físico-química e detecção de resíduos de antibióticos no leite de vacas de tanques de expansão individuais e tanques coletivos na região sudeste do estado de São Paulo. V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Cons elho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL. **Anais...Botucatu - SP: 2013.**

- MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. (G. T. dos Santos, Ed.) Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil. **Anais...Toledo-PR: II Sul- Leite**, 2002.
- NICKERSON, S. C. et al. Current concepts of bovine mastitis. National Mastitis Council Annual Meeting. **Anais...Madison**: 1996.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL - NMC. Current concepts of bovine mastitis. Current concepts of bovine mastitis. **Anais... Madison**: 1996. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000106&pid=S0031-1049200200140000100028&lng=es> Acessado em 18 de julho 2016.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL - NMC. **Recommended mastitis control program**. Madison National Mastitis Council, , 2000.
- NOTEBAERT, S.; MEYER, E. Mouse models to study the pathogenesis and control of bovine mastitis. A review. **The Veterinary quarterly**, v. 28, n. 1, p. 2–13, 2006.
- OLIVEIRA, C. M. C. et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 31, n. 2, p. 104–110, 2011.
- OLIVEIRA, C. A. F. DE et al. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* no leite e ambiente de ordenha em propriedades leiteiras do estado de São Paulo. V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Cons elho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL. **Anais...Botucatu - SP**: 2013
- OLIVEIRA, E. F. DE et al. Prevalência de patógenos contagiosos em rebanhos da associação dos criadores de gado holandês do estado de Minas Gerais, 2011-2012. V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Cons elho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL. **Anais...Botucatu - SP**: 2013b
- OLIVER, S. P. et al. Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 8, p. 2393–400, ago. 2004.
- OVIEDO-BOYSO, J. et al. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. **The Journal of infection**, v. 54, n. 4, p. 399–409, abr. 2007.
- PEIXOTO, A. F. et al. Etiologia da mastite bovina em propriedades rurais do município de lagoa do ouro (microrregião de Garanhuns). V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Cons elho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL. **Anais...Botucatu - SP**: 2013
- PEREIRA, M. N. et al. Indicadores de desempenho de fazendas leiteiras de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 4, p. 1033–1042, 2016.
- PETER, C. M. et al. Contagem de *staphylococcus aureus* e *staphylococcus sp.* E sua relação com a contagem bacteriana total (CBT) em unidades de produção leiteiras de municípios da região Sul do Rio Grande do Sul. V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Cons elho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL. **Anais...Botucatu - SP**: 2013
- PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. . **Vencendo a luta contra a mastite**. São Paulo: Westfalia Landtechnik do Brasil Ltda, 2002.
- PIETERSE, R.; TODOROV, S. D. Bacteriocins - exploring alternatives to antibiotics in mastitis treatment. **Brazilian journal of microbiology**. v. 41, n. 3, p. 542–62, jul. 2010.
- POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Effects of Somatic Cell Count and Milk Composition on Cheese Composition and Cheese Making Efficiency. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 7, p. 1711–1719, jul. 1988.

- RADTKE, A. et al. Multiple-locus variant-repeat assay (MLVA) is a useful tool for molecular epidemiologic analysis of *Streptococcus agalactiae* strains causing bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 157, n. 3–4, p. 398–404, jun. 2012.
- RAUBERTAS, R. F.; SHOOK, G. E. Relationship Between Lactation Measures of Somatic Cell Concentration and Milk Yield. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 3, p. 419–425, 1982.
- RÊGO, M. A. V. Case-Control Studies: a Brief Review. **Gaz. méd. Bahia**, v. 80:1, p. 101–110, 2010.
- REYHER, K. K. et al. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—A systematic review and meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 11, p. 6483–6502, nov. 2012.
- RIBAS, N. P. et al. Escore de Células Somáticas e sua Relação com os Componentes do Leite e Amostras de Tanque no Estado do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, n. 3, p. 14–23, 2014.
- RIBEIRO, M. G. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia. In: ANDRADE, S. F. (Ed.). **Manual de Terapêutica Veterinária**. Roca ed. São Paulo: 3, 2008. p. 936.
- RYSANEK, D.; BABAK, V.; ZOUHAROVA, M. Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw. milk contamination with mastitis pathogens. **Vet. Med.** v.52, p.223-230, 2007.
- SAEKI, E. K. et al. Mastite bovina por *staphylococcus aureus*: sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 3, p. 284–290, 2011.
- SANTOS, C. D. M.; LEAL, G. S.; ROSSI, D. A. Frequência e suscetibilidade a antibióticos de *staphylococcus* spp isolados de leite de vacas com mastites recorrentes de rebanhos da região de Uberlândia – mg. **Vet. Not.**, v. 12, n. 2, p. 83–88, 2006.
- SANTOS, E. M. P. et al. Streptococcus e gêneros relacionados como agentes etiológicos de mastite bovina Streptococcus and related genera as etiological agents of bovine mastitis. **Acta Scientiae Veterinariae.**, v. 35, n. July 2006, p. 17–27, 2007.
- SANTOS, M. V. DOS; FONSECA, L. F. L. DA. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007.
- SCHEPERS, A J. et al. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 8, p. 1833–1840, 1997.
- SCHLEGELOVÁ, J. et al. Prevalence of and resistance to anti-microbial drugs in selected microbial species isolated from bulk milk samples. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 49, n. 5, p. 216–225, 2002.
- SCHUKKEN, Y. H. et al. CNS mastitis: nothing to worry about? **Veterinary microbiology**, v. 134, n. 1–2, p. 9–14, 16 fev. 2009.
- SILVA, M. V. M. et al. A mastite interferindo no padrão de qualidade do leite: uma preocupação necessária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 3, n. 14, p. 1–10, 2010.
- SOUZA, G. N. et al. Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 57, n. SUPPL. 2, p. 251–260, 2005.
- SOUZA, G. N. et al. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1015–1020, 2009.

SOUZA, G. N. DE. **Fatores de risco para mastite bovina**. UFMG, 2005.

SOUZA, G. N. DE et al. Presença de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* nos rebanhos bovinos e os limites de contagem de células somáticas e contagem total de bactérias estabelecidos na Instrução Normativa 51. IV Congresso Brasileiro da Qualidade do Leite. Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite. **Anais...** Florianópolis, SC: 2010 Disponível em: <<http://www.cbql.com.br>> Acessado em 15 de agosto de 2016.

SOUZA, V. DE et al. Ocorrência DE *Staphylococcus aureus* em rebanhos leiteiros do estado de Minas Gerais. V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL. **Anais...** Botucatu - SP: 2013

TALBOT, B. G.; LACASSE, P. Progress in the development of mastitis vaccines. **Livestock Production Science**, v. 98, n. 1–2, p. 101–113, dez. 2005.

TOZZETI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. DE. PREVENÇÃO , CONTROLE E TRATAMENTO DAS MASTITES BOVINAS – REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, v. 10, n. 7, 2008.

TSENKOVA, R. et al. Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy: A new diagnostic tool. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 10, p. 2550–2557, 2001.

USDA. **Produção de leite USA**. 2012 Disponível em: <[http://www.ers.usda.gov/datafiles/Agricultural Baseline Projection Files/Dairy1-3.xls](http://www.ers.usda.gov/datafiles/Agricultural%20Baseline%20Projection%20Files/Dairy1-3.xls)>.

VARGAS, D. P. DE et al. Correlações entre contagem bacteriana total e parâmetros de qualidade do leite. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 241–247, 2013.

VEIGA, V. M. DE O. Retorno econômico de um programa de controle de mastite bovina em rebanhos no estado de Minas Gerais. In: **Controle integrado da mastite bovina**. Centro Nac ed. Juiz de Fora: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 1996. p. 97–110.

VIGUIER, C. et al. Mastitis detection: current trends and future perspectives. **Trends in biotechnology**, v. 27, n. 8, p. 486–93, ago. 2009.

VILELA, P. S.; NOGUEIRA, A. E. C. **Perfil do Produtor de Leite nas Mesorregiões da Zona da Mata e Campo das Vertentes de Minas Gerais**. Embrapa Gado de Leite. Belo Horizonte: p. 112, 2010.

WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; DAS, H. H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 10, p. 2592–8, out. 1997.

ZADOKS, R. N. et al. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 16, n. 4, p. 357–72, dez. 2011.

ZAFALON, L. F. et al. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos do leite como métodos auxiliares de diagnóstico na mastite subclínica bovina. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 25, n. 3, p. 159–163, 2005.

ZANETTE, E.; SCAPIN, D.; ROSSI, E. M. Suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de bovinos com suspeita de mastite. **Unoesc & Ciência – ACBS**, v. 1, n. 1, p. 65–70, 2010.

ZIECH, R. E. et al. Ocorrência e etiologia da mastite subclínica e avaliação da qualidade microbiológica do leite cru na região central do RS. V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL. **Anais...** Botucatu - SP: 2013

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

Artigo redigido conforme norma do periódico científico Archivos de Zootecnia (versão preliminar).

Artigo 1 - Contagem bacteriana total e contagem de células somáticas no leite do tanque como indicadores de perdas na produção de leite em rebanhos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil

- Artículo/Article
- Nota corta/Short note
- Revisión/Revisión
- Carta al Editor/Letter to the Editor
- In Memoriam



Área de sanidad animal/Area of animal health.

Contagem bacteriana total e contagem de células somáticas no leite do tanque como indicadores de perdas de produção de leite em rebanhos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil

Total bacterial count and bulk milk somatic cell count as indicators of milk production losses in dairy herds from Campos das Vertentes, Minas Gerais State, Brazil

Mesquita, A. M.¹; Costa. G. M.¹; Carvalho R.¹; Castro A. C. O.¹; Oliveira M. R.¹

¹Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Federal de Lavras, Brasil

alan.mesquita@dzo.ufla.br

Mastite.
Qualidade do leite.
Infecções Intramamárias.
Perdas de produção.
Sanidade animal.

Mastitis.
Quality of milk.
Intramammary infections.
Losses of production.
Animal health.

Resumo

A mastite bovina é a doença mais relevante em bovinos leiteiros em todo o mundo, ocasionando expressivos prejuízos aos produtores, à indústria láctea e consumidores. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto econômico da mastite bovina sobre a produção e economia em condições de explorações brasileiras. Para tal, foram estimadas as perdas de produção de leite e os prejuízos econômicos em relação às contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) e contagem bacteriana total (CBT), em rebanhos da região de Campos das Vertentes, uma importante bacia leiteira do Estado de Minas Gerais. Para se calcular as perdas de produção, utilizaram-se as médias de três CCSt, de 306 propriedades, obtidas em intervalos de 15 dias entre as coletas, sendo estimadas as perdas por meio da equação de regressão linear $y = -4,7908 + 0,0226x$, na qual a variável “x” representa a contagem de células somáticas do tanque (CCSt) e “y” a perda em % de produção de leite. As médias de CCSt e de CBT entre as propriedades amostradas foram de 482.650 cels/mL e 43.710 UFC/mL de leite, respectivamente, verificando-se que 35,6% dos estabelecimentos se encontravam acima dos limites estabelecidos pela legislação vigente para a CCSt e 7,84% para CBT. Os resultados demonstraram que a média de produção diária nas propriedades foi de 488,43 litros de leite e que estimativas de perdas médias diárias na produção devido à mastite foram de 6,80%. Não se observaram diferenças significativas quanto às perdas percentuais de produção em função da produção diária das propriedades. Os resultados obtidos evidenciam a necessidade de um controle mais efetivo da mastite, visando minimizar as perdas de produção leiteira e melhorar os índices econômicos, assim como elevar a sanidade do rebanho e a qualidade da matéria-prima ofertada.

Summary

Bovine mastitis is the most relevant disease in dairy cattle worldwide, causing significant losses to producers, the dairy industry and consumers. The objective of this study was to evaluate the economic impact of bovine mastitis on production and economy under Brazilian farm conditions. For this, milk production and economic losses were estimated in relation to bulk milk somatic cell counts (BMSCC) and total bacterial counts (TBC) in herds of the mesoregion of Campos das Vertentes, an important dairy region of Minas Gerais State. In order to calculate the production losses, were calculated the means of three BMSCC of 306 dairy herds, obtained at intervals of 15 days between the collections. The losses were estimated through the linear regression equation: $Y = -4.7908 + 0.0226x$, where the variable "x" represents the BMSCC, and “Y” represents the estimative of milk production losses. The mean values of BMSCC and TBC among the farms studied were 482,650 cells / mL and 43,710 CFU / mL of milk, respectively. About 35.6% and 7,84% of the establishments were above to the BMSCC and TBC limits established by the current legislation, respectively. The results showed that the average daily production in the farms was 488.43 liters of milk, and the average daily production losses due to mastitis among the farms were 6.80%. No significant differences were observed regarding the production losses as a function of the milk production scores of the properties. The results obtained evidenced the need for a more effective control of mastitis, aiming to minimize losses of milk production and to improve economic indexes, as well as to increase the sanity of the herd and the quality of the raw milk produced.

Introdução

A cadeia do leite e de seus derivados desempenham papel relevante na produção de alimentos e na geração de emprego e renda no Brasil, se configurando entre os principais setores do agronegócio nacional (Barbosa *et al.*, 2001). O Brasil é o 4º produtor mundial de leite e é responsável por 70% do volume total produzido pelo MERCOSUL, com uma captação de 23,17 bilhões de litros em

2016 (IBGE, 2017). Além disso, o país possui o segundo maior rebanho de vacas leiteiras do mundo, com cerca de 23 milhões de cabeças (FAO, 2017).

Dentro desta conjuntura, Minas de Gerais lidera a produção de leite nacional, sendo responsável por aproximadamente 26% do leite adquirido pela indústria láctea brasileira em 2016 (IBGE, 2017), destacando-se neste Estado a região do Campo das Vertentes, com uma produção estimada em 382,6 milhões de litros, em 2015 (IBGE, 2016). No entanto, apesar do sucesso alcançado pela cadeia do leite e seus derivados, ainda há entraves que precisam ser superados. Entre estes, é de grande relevância a elevada prevalência de mastite, uma patologia que compromete a qualidade e a eficiência do setor e que provoca as maiores perdas econômicas em sua cadeia produtiva (Brito e Brito, 2001; Keefe, 2012).

As lesões no tecido mamário causadas pela mastite reduzem a produção e secreção do leite pelas células secretoras do parênquima mamário, provocando alterações físico-químicas e microbiológicas no leite (Philpot e Nickerson, 2002). Os maiores impactos decorrente da mastite estão associados com a redução na quantidade e qualidade do leite produzido. Além disso, essa patologia causa aumentos substanciais nos custos de produção devido à substituição de matrizes, e também, impactos na saúde pública associadas à veiculação de agentes patogênicos e intoxicações alimentares devido ao consumo de leite contaminado sem pasteurização (Santos e Fonseca, 2007; Costa, 2014).

A mastite pode se apresentar nas formas clínica ou subclínica. A primeira apresenta sinais evidentes, como edema e aumento de temperatura do úbere, endurecimento, dor, grumos e pus no local e alterações das características do leite (Coser *et al.*, 2012). Já a forma subclínica, apesar de não apresentar sinais visíveis de inflamação no úbere, é caracterizada pelo aumento no número de células somáticas, elevação dos teores de cloro e sódio, além da diminuição dos níveis de caseína, lactose e gordura, afetando a qualidade e o volume do leite produzido (Cullor *et al.*, 2006).

A forma de apresentação subclínica favorece a disseminação da mastite nos rebanhos, além de causar uma falsa tranquilidade ao produtor em relação à inexistência de mastite em seu rebanho. Estimativas indicam que, para cada caso clínico desta enfermidade, ocorram 35 casos subclínicos (Santos e Fonseca, 2007). De acordo com Cassoli e Machado (2007), a prevalência de mastite subclínica no rebanho nacional foi estimada em 40%, causando perdas de 6% na produção de leite e uma menor remuneração em casos de pagamentos por qualidade.

A redução da produção leiteira em decorrência da mastite subclínica está associada com o aumento da CCS em resposta ao processo infeccioso (Tozzeti *et al.*, 2008). As células somáticas compostas por leucócitos, que migram do sangue para o interior da glândula mamária, com o objetivo de combater os agentes causadores da mastite, e também por células de descamação do epitélio glandular (Philpot e Nickerson, 2002).

Como resultado do processo inflamatório, as paredes dos vasos sanguíneos se tornam dilatadas e os leucócitos e outros elementos sanguíneos se concentram no leite. Entre estes, podem ser citados íons de cloro e sódio, que alteram as características sensoriais e físico-químicas do leite (Brito e Brito, 2001). Tsenkova *et al.* (2001) relataram que o aumento da CCS do leite é acompanhado de alteração no perfil das proteínas do leite e na concentração de íons, sendo um indicador geral da saúde da glândula mamária, utilizado como um sinalizador da presença da mastite subclínica, sendo aceita por isso, como teste padrão para determinar a qualidade do leite.

Outro ponto que se deve destacar em relação à qualidade do leite corresponde à contagem bacteriana total (CBT), a qual mede a microbiota do leite, que depende da carga bacteriana inicial e da taxa de multiplicação dos microrganismos, além de avaliação da higiene de ordenha e das condições de estocagem e transporte do leite cru, sendo uma importante ferramenta no controle da

qualidade da matéria-prima, permitindo inferir sobre os prováveis efeitos indesejáveis acerca do rendimento industrial de produtos lácteos. Além disso, o leite com elevada CBT representa risco para a saúde do consumidor, pelo potencial de veiculação de micro-organismos e toxinas microbianas resistentes à pasteurização (Vargas *et al.*, 2013).

Estudos prévios avaliaram a importância econômica da mastite (Magalhães *et al.*, 2006; Lopes *et al.*; 2011; Saeki *et al.*, 2011; Aguiar *et al.*, 2014). No entanto, há ainda poucos estudos sobre os impactos econômicos da mastite em condições de exploração brasileiras. Desta forma, no presente trabalho, foram estimadas, em função dos escores se de células somáticas no leite do tanque, as perdas de produção de leite e os prejuízos econômicos decorrentes da mastite em propriedades leiteiras da região do Campo das Vertentes, Minas Gerais.

Material e Métodos

No presente estudo, foram analisadas 306 propriedades rurais produtoras de leite, localizadas na bacia leiteira da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais. As propriedades integrantes do estudo eram vinculadas a um laticínio da região e ocupavam uma área aproximada 12.564 km², tendo um efetivo bovino estimado em 34.000 animais (FAEMG, 2006). Não foram aplicados critérios probabilísticos para a escolha das propriedades estudadas, sendo a inclusão das mesmas feitas com base no relacionamento prévio dos proprietários com um laticínio e a unidade de pesquisa.

Amostras de aproximadamente 40 mL de leite foram coletadas assepticamente no tanque de expansão, de cada propriedade após homogeneização. Estas após serem coletadas foram mantidas em frascos individuais estéreis, em recipientes isotérmicos a 4°C, até envio aos laboratórios integrantes de Rede Brasileira de Qualidade do Leite para realização da contagem de células somáticas do tanque (CCSt) e contagem bacteriana total (CBT).

Foram realizadas três análises de CCSt e CBT em cada propriedade, em intervalos de 15 dias, no período entre março e abril de 2017. Os valores de produção diária de leite em cada propriedade no período experimental foram obtidos junto ao laticínio que captou o leite produzido.

Após calcular a média da CCSt das três coletas realizadas nas propriedades amostradas, as perdas em % na produção de leite causadas pela mastite foram estimadas por meio da equação de regressão linear proposta pelo National Mastitis Council (NMC) (Nickerson *et al.*, 1996).

$$Y = - 4,7908 + 0,0226x.$$

onde:

“y” representa a porcentagem de perda na produção de leite;

“x” indica a quantidade de células somáticas no tanque (CCSt).

Após os cálculos das perdas percentuais na produção de leite, estas foram convertidas em perdas quantitativas diárias de leite (PDL), para cada produtor, através do cálculo da diferença entre a produção diária sem perdas devido a CCSt e a real produção diária da propriedade. A seguir, foram estimadas as perdas anuais em litros de leite e impacto econômico anual.

Para análise dos prejuízos econômicos, as perdas quantitativas de leite foram multiplicadas pelo valor do leite pago, através da fórmula seguinte:

$$\text{Prejuízos econômicos} = (\text{Dias} \times (\text{PDL}) \times (\text{preço L/leite}))$$

Onde:

PDL = Perda diária de leite estimada para cada produtor;

Dias = período de tempo avaliado;

Preço L/leite = preço pago para a venda do leite.

Os valores pagos pelo leite foram obtidos por avaliações realizadas pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA) Leite – ESALQ – USP em 06 de junho de 2017.

Para avaliar se havia diferenças entre os níveis de perdas nos diferentes estratos de produção, as propriedades foram agrupadas da seguinte forma: produtores que produziam diariamente menos de 100 L/dia; produtores que produziam entre 101 e 500 L/dia; produtores que produziam entre 500 e 1000 L/dia e propriedades que produziam acima de 1000 L/dia.

As perdas médias de produção e as estimativas de perdas econômicas anuais foram calculadas de forma descritiva. Fez-se a comparação entre as médias dos agrupamentos das produções das propriedades para CCSt, CBT e % de perdas correlacionadas com CCSt, pelo teste de Análise de Variância, com um nível de significância de 5%. Também foi calculada a correlação de *Pearson* entre as variáveis CCSt e CBT. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SPSS 20.0®.

Resultados e Discussão

A produção diária média de 548 litros verificada entre as propriedades (Tabela 1) foi superior à média nacional que é de 52 litros/dia, e também acima da média do Estado de Minas Gerais, que foi estimada em 184 litros/dia (IBGE, 2006), mas próxima dos resultados encontrados por Pereira *et al.* (2016), que verificaram produção média diária de leite de 770 ± 697 L/dia, em propriedades no Estado de Minas Gerais. Segundo estes autores, a baixa média de produção diária pode ser reflexo da metodologia censitária utilizada pelo IBGE, que inclui fazendas de gado de corte que comercializam algum excedente de leite dos bezerras, o que pode não traduzir a realidade das fazendas leiteiras, sendo que os resultados neste estudo corroboram para esta teoria.

Na avaliação da perda de produção devido a CCSt (Tabela 1) observou-se uma perda média de 6,27% na produção total nas propriedades estudadas, e ao se comparar os diversos estratos de produção, não foram observadas diferenças estatísticas entre eles ($p > 0,05$), demonstrando que os níveis de perdas de produção são semelhantes nos diferentes estratos de produção. Estes resultados corroboram os obtidos por Magalhães *et al.* (2006), os quais observaram perdas de 1,02 a 21,15%, correspondentes a CCSt entre 171.000 e 2.488.000 cels/mL. Segundo Edmondson (2002), à medida que a CCS é reduzida, a produção de leite aumenta, em razão da menor incidência de lesões nos tecidos do úbere.

Veiga (1996) avaliou as perdas de produção em 12 rebanhos com um número médio de 30 vacas em lactação e uma produção mínima de 7 kg/vaca/dia, tendo verificado, em função das CCS individual, que as perdas de produção devido à mastite foram da ordem de 7,6%. Estes resultados foram próximos aos encontrados no presente estudo. Este mesmo autor após o levantamento das perdas de produção, implementou um programa de controle estratégico para redução da CCS, verificando que seis meses após a implantação do mesmo as perdas foram reduzidas para 3,1%, demonstrando com isso o retorno econômico decorrente do controle da mastite nos rebanhos.

Tabela 1 – Contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) e contagem bacteriana total (CBT) e estimativas de perdas de produção de leite entre produtores amostrados em função dos escores de produção (Bulk milk somatic cell counts (BMSCC), total bacterial counts (TBC) and estimates of losses of milk production between producers sampled according to production scores)

Produção diária	N	Média (L)	CCStx1000 cels/mL	CBTx1000 UFC/mL	Estimativas de perdas de produção (%)
≤100 L	60	63,25	453,83	41,22	5,71
101 – 500 L	162	242,11	485,88	46,16	6,36
501 – 1000 L	44	664,74	501,54	43,19	6,59
>1001 L	40	1966,81	489,84	35,93	6,39
Todos os produtores	306	548,00	482,65	41,62	6,27

Não se observaram diferenças estatísticas entre as médias de CCSt, CBT e estimativas de perdas de produção pelo teste de ANOVA ($p > 0,05$).

Bueno *et al.* (2002) estimaram o percentual de redução na produção através do somatório dos produtos entre o percentual de quartos afetados, e valores de redução na produção, em rebanhos leiteiros da região de Pirassununga, SP, os quais encontraram um percentual de redução que variou entre 3,82% e 10,79%, resultados estes próximos dos encontrados neste estudo.

A média da CCSt entre todas as propriedades amostradas foi de 482.650 cels/mL de leite (Tabela 1), demonstrando que, na média, o leite captado pelo laticínio está em conformidade com a legislação vigente, a Instrução Normativa (IN) 07 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2016), que regulamenta um máximo de 500.000 cels/mL de leite. No entanto, estes escores de CCSt ainda se encontram muito aquém daqueles aceitos no mercado internacional, sobretudo na União Europeia, onde os limites máximos são inferiores a 400.000 cels./mL, mas com tendências a diminuir nos próximos anos, já que nos países escandinavos e Austrália, a média nacional de CCSt foi de 200.000 a 250.000 cels/mL (More, 2009). Outro aspecto importante é que CCSt acima de 200.000 cels/mL já é indicativo de perdas de produção e na qualidade do leite, indicando mastite subclínica em níveis elevados no rebanho (Barbosa *et al.*, 2002; Coldebella *et al.*, 2004; Magalhães *et al.*, 2006). De acordo com Silva *et al.* (2010) altos índices de CCSt causam inúmeros prejuízos às indústrias de laticínios por afetarem de forma direta a composição do leite, reduzindo o rendimento industrial e o tempo de vida de prateleira do leite e seus derivados.

Para a variável CBT pode-se observar que todos os estratos de produção (Tabela 1) estavam dentro dos limites estabelecidos pela IN 07, que determina que a contagem máxima seja inferior a 300.000 UFC/mL de leite. Estes resultados traduzem o esforço do laticínio por parte de sua equipe de assistência técnica aos produtores, sendo corroborados pelos resultados de Brito *et al.* (2007) que relataram a redução imediata de CTB de 883.000 para 74.000 UFC/mL em trabalho realizado em diferentes regiões brasileiras (Pernambuco, Sergipe, Alagoas, Minas Gerais, Goiás, São Paulo e Rio Grande do Sul), depois de serem implantadas medidas básicas de higiene da ordenha e limpeza dos

utensílios. No entanto, se contrapõem àqueles obtidos por Souza *et al.* (2008), que verificaram uma média para CBT de 892.000 UFC/mL em rebanhos localizados em Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo.

Nossos resultados apontaram que 2,61% das propriedades analisadas ainda se encontravam acima do limite de 300.000 UFC/mL e que 35,62% dos produtores estavam fora dos parâmetros legais para CCSt. Estes produtores além de terem perdas de produção também prejudicam os laticínios que adquirem este leite de qualidade inferior. Leites com alta CCSt apresentam aumento da atividade proteolítica, decorrente principalmente da atividade da plasmina. Ocorre ainda que o leite proveniente de vacas com mastite apresenta menor teor de caseína devido à redução da sua síntese e à ocorrência de proteólise, comprometendo o rendimento do leite usado na fabricação de queijos e outros lácteos derivados (Andrade, 2008).

Na Tabela 2, pode-se observar as médias de CCSt das propriedades que não estavam em conformidade com a legislação vigente de acordo com os estratos de produção. As contagens médias foram bastante elevadas nos diferentes estratos, verificando-se que 107 produtores estavam em inconformidade com este quesito, correspondendo a 35,62% das propriedades amostradas. Estes resultados foram similares aos encontrados por Souza *et al.* (2005), que ao avaliarem as características e práticas de manejo associadas à CCSt em 175 rebanhos leiteiros, observaram que 51% dos rebanhos apresentavam contagens acima de 500.000 cels/mL de leite.

Tabela 2 – Contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) e contagem bacteriana total (CBT) em propriedades que apresentavam CCSt superior a 500.000 cels/mL, em função dos estratos de produção (Bulk milk somatic cell counts (BMSCC) and total bacterial counts (TBC) on properties that had somatic cell counts above 500,000 cells / mL, according to production scores)

Produção diária	N	Média (L)	CCSt x1000 cels/mL	CBT x1000 UFC/mL
≤100 L	17	66	839	82
101 – 500 L	62	266	777	65
501 – 1000 L	14	576	911	105
>1001 L	14	1671	801	37
Total dos produtores com CCSt >500.000	107	456	806	69

Pode-se observar pelos dados da Tabela 3 que apenas 15,35% das propriedades apresentavam $CBT \geq 100.000$ UFC/mL. No entanto, somente 2,61% das mesmas estavam em inconformidade com a IN 07, que estabelece contagens inferiores a 300.00 UFC/mL para o leite do tanque. Nestas propriedades ($CBT \geq 100.000$ UFC/mL), as CCSt eram mais elevadas, demonstrando existir correlação entre as variáveis ($r=0,63$). Este resultado é corroborado por Lopes Júnior *et al.* (2012) que verificaram uma correlação entre CCS e CTB maior que 0,60. A correlação entre CCSt e CBT

verificada em nosso estudo, ainda que de baixa intensidade, demonstra que existe a associação entre o fenômeno inflamatório da glândula mamária, indicado pelos escores de CCSt, e a eliminação de bactérias no leite em decorrência da mastite. Outra possível explanação para esta associação seria a existência de fatores determinantes comuns para o incremento dos níveis de mastite no rebanho e, conseqüentemente da CCSt, e o aumento da CBT. Um destes fatores poderia ser a falha de higiene na ordenha (falhas na limpeza de equipamentos de ordenha; uso de água de má qualidade microbiológica nos processos de limpeza e desinfecção; falhas na anti-sepsia de tetos, dentre outros).

Segundo Vargas *et al.* (2013), a elevação da CBT pode ser ocasionada pela contaminação tanto por utensílios que entram em contato com o leite, pele de tetos e úbere, como pela glândula mamária infectada, principalmente por estreptococos causadores de mastite subclínica, o que, explicaria o aumento simultâneo da CBT e CCSt. Também no estudo realizado por Benites *et al.* (2003), verificou-se que nas mastites ocasionadas por bactérias do gênero *Streptococcus* houve um incremento na contagem bacteriana dos quartos afetados significativamente maior em relação às contagens observadas nos quartos afetados por *Staphylococcus* ou por *Corynebacterium*.

Tabela 3 – Contagem bacteriana total (CBT) e contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) em propriedades que apresentavam CBT superiores a 100.000 UFC/mL, em função dos estratos de produção (Total bacterial counts (TBC) and bulk milk somatic cell counts (BMSCC) in properties that had TBC counts above 100,000 CFU / mL, according to production scores)

Produção diária	N	Média (L)	Média de CBT X 1000 UFC/mL	Média de CCSt X 1000 cels/mL
≤100 L	5	55	259	694
101 – 500 L	14	256	278	849
501 – 1000 L	2	534	507	1382
>1001 L	2	3232	256	482
Total dos produtores com CBT >100.000 UFC/mL	24	495	285	819

O impacto da mastite na produção, estimado por meio da CCSt, teve uma relevância significativa nas propriedades estudadas, visto que na média os produtores perderam anualmente 8.884 litros de leite, o que representou perdas anuais de 2.718.581,64 de litros, equivalentes a R\$ 3.833.200,11 de acordo com os preços pagos pelo laticínio em junho de 2017 (Tabela IV). No estrato de maior produção (>1001 L/dia), que responde por 52,1% da produção captada pelo laticínio, as perdas de produção foram estimadas em 1.317.579,60, o que corresponde a R\$ 1.857.787,24.

Os resultados do nosso estudo apontaram uma estimativa de perdas de R\$0,083 para cada litro de leite produzido. No estudo realizado por Lopes *et al.* (2011), no qual estimou-se que o impacto

econômico anual da mastite, tomando por referência uma vaca em lactação, foram estimadas perdas anuais médias de R\$ 0,2146 e de R\$0,4311/kg de leite produzido para os escores de CCSt de 250.000 e 1.000.000 de céls./mL de leite, respectivamente. Esta diferença, em relação ao nosso estudo, pode estar relacionada com a metodologia utilizada pelos autores supracitados, na qual se contabilizaram, no cálculo do impacto econômico, os custos com medidas preventivas e terapêuticas, incluindo o descarte de vacas cronicamente acometidas, descarte de leite, além do total em perdas na produção em decorrência da queda de produção.

É importante salientar que a mastite além de causar perdas para o produtor em função de menor produção dos animais afetados, gastos com medicação, descarte de leite de animais em tratamento, descarte e óbitos eventuais de animais e os custos inerentes às medidas de controle, causa perdas para a indústria, em função das alterações na composição do produto, representadas principalmente pela diminuição dos teores de caseína e gordura, e diminuição da vida de prateleira dos produtos. Tais fatos, demonstram a necessidade de um controle mais efetivo da mastite nos rebanhos da região estudada, não somente visando proporcionar maior renda para os produtores, mas também à oferta de matéria-prima de melhor qualidade para os laticínios. Estudos prévios demonstraram a viabilidade econômica da adoção destas práticas. Em um destes estudos, Lopes *et al.* (2012) verificaram que as despesas com as medidas preventivas para a mastite representaram, no máximo, 19,7% dos custos totais relativos ao impacto econômico da doença, o que demonstra vantagens em

Tabela 4 - Estimativas anuais de perdas econômicas e de produção de leite em função dos estratos de produção (Annual estimates of economic and milk production losses according to production scores)

Produção diária	N	Produção estimada anual	Produção corrigida p/ CCST <200.000 cels/mL	Perdas de leite devido a CCSt (L)	Perdas (R\$)
<100 L/dia	60	1.157.514,60	1.221.438,60	63.924,00	90.132,84
101–500 L/dia	162	11.962.463,94	12.767.898,78	805.434,84	1.135.663,12
501–1000 L/dia	44	8.920.807,28	9.452.450,48	531.643,20	749.616,91
>1001 L/dia	40	23.995.028,40	25.312.608,00	1.317.579,60	1.857.787,24
Todos os produtores	306	46.035.814,22	48.754.395,86	2.718.581,64	3.833.200,11

Conclusões

Conclui-se que, em função dos escores de CCSt, que os produtores têm uma perda média de 6,27% de sua produção diária de leite, o que resulta em um impacto econômico negativo anual elevado. Os escores médios de CCSt verificados, embora próximos dos limites legais, demonstram a necessidade de um controle mais efetivo da mastite, pois uma parcela considerável dos produtores ainda se encontra acima dos limites permitidos pela legislação vigente.

Considerando-se a importância econômica e de saúde pública da mastite bovina, torna-se indispensável à proposição estratégias de controle para a doença que sejam de baixo custo, atendendo assim aos interesses dos produtores em melhorar a produtividade e a rentabilidade de seus sistemas de produção, bem como atendendo às demandas dos laticínios por matéria prima de melhor qualidade e maior rendimento industrial, maior vida de prateleira, melhor qualidade dos produtos, e dos consumidores quanto à qualidade e segurança alimentar.

Referências Bibliográficas

- AGUIAR, D. et al. Prevalência e etiologia da mastite em bovinos leiteiros da Ilha de São Luís, estado do Maranhão, Brasil. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 36, n. 4, p. 389–395, 2014.
- ANDRADE, N. J. DE. **Higiene na Indústria de Alimentos**. Revista Hi ed. São Paulo: Varela, 2008.
- BARBOSA, C. P.; BENEDETTI, E.; RIBEIRO, S. C. DE. Relação entre CCS e os resultados do CMT, no diagnóstico de mastite bovina. **Biosci J.**, v. 18, n. 1, p. 93–102, 2002.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa 07 de 03 de maio de 2016. Dispõe sobre alterações no regulamento técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 84 maio. 2016.
- BRITO, J. R. F. et al. **Avaliação da eficiência do “Kit Embrapa Ordenha Manual” para melhorar a qualidade microbiológica do leite em pequenas propriedades de quatro regiões brasileira**. COGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE. **Anais...**Resende: Embrapa Gado de Leite, 2007
- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. E; VERNEQUE, R. DA S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 847–850, out. 2000.
- BRITO, M. A. V. P. et al. Concentração mínima inibitória de dez antibióticos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 5, p. 531–537, out. 2001.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. Qualidade do leite. In: **Produção de leite e a sociedade**. FEPMVZ, Belo Horizonte, MG. v. 1p. 61–74.2001
- BUENO, V. F. F. et al. Mastite bovina clínica e subclínica , na região de Pirassununga, SP: frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 4, n. 2, p. 47–52, 2002.
- CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F. **Impacto da Instrução Normativa 51 na qualidade do leite**. 4 Encontro de pesquisadores em Mastites. **Anais...**Botucatu - SP: FMVZ – UNESP, 2007
- COENTRÃO, C. M. et al. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 283–288, 2008.
- COLDEBELLA, A. et al. Contagem de Células Somáticas e Produção de Leite em Vacas Holandesas Confinadas 1 Somatic Cells Count and Milk Yield in Confined Holstein Cows. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 623–634, 2004.
- COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M. **Mastite bovina : Controle e Prevenção** Boletim Técnico. UFLA. Lavras, 2012.
- COSTA, G. M. et al. Population diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in

- Brazilian dairy herds. **Research in veterinary science**, v. 93, n. 2, p. 733–5, out. 2012.
- CULLOR, J. S.; TYLER, J. W.; SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 2006. p. 1784.
- DE VliegHer, S. et al. Invited review: Mastitis in dairy heifers: nature of the disease, potential impact, prevention, and control. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 3, p. 1025–40, mar. 2012.
- DONG, F.; HENNESSY, D. A.; JENSEN, H. H. Factors determining milk quality and implications for production structure under somatic cell count standard modification. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 11, p. 6421–6435, nov. 2012.
- FEDERAÇÃO DE AGRICULTURA DO ESTADO DE MINAS GERAIS - FAEMG. **Diagnóstico da pecuária leiteira do estado de Minas Gerais em 2005: relatório de pesquisa**. Belo Horizonte, 2006. 156p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS -FAO. **Livestock Primary**. 2017.
- FONSECA, L.; SANTOS, M. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.
- GODDEN, S. et al. Field validation of a milk-line sampling device for monitoring milk component data. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 9, p. 2192–6, 2002.
- HALASA, T. et al. Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 2, p. 599–606, fev. 2009.
- HARTWIG, C. DE A. et al. Determinação da concentração mínima inibitória de sulfato de cefquinoma frente a agentes bacterianos associados a casos de mastite bovina. **science and animal health**, v. 2, n. 2, p. 115–125, 2014.
- HOGVEEN, H. et al. C s f c m r. **NMC Annual Meeting Proceedings**, p. 36–48, 2011.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário 2006**. Brasília. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acessado em 12 de julho de 2016.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatística de captação de leite 2015**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201404_2.shtm> Acessado em 15 de julho de 2017.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Abate de animais, produção de leite, couro e ovos 2016**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201504_2.shtm> Acessado em 15 de julho de 2017.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatística da Produção Pecuária 2017**. v. 1, n. 1, p. 1–78, mar. 2017. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria>> Acessado em 2 de outubro de 2017.
- KEEFE, G. Update on control of Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae for management of mastitis. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 28, n. 2, p. 203–16, jul. 2012.
- LANGONI, H. et al. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 31, n. 12, p. 1059-1065, 2011.
- LOPES, M. A. et al. Influência Da Contagem De Células Somáticas Sobre O Impacto Economico Da Mastite Em Rebanhos Bovinos Leiteiros. **Arquivos Do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 493–

499, 2011.

LOPES JÚNIOR, et al. Relationship between Total Bacteria Counts and Somatic Cell Counts from Mammary Quarters Infected by Mastitis Pathogens. **Ciência Rural**, v. 42, n 4, p. 691–96, 2012.

MAGALHÃES, H. R. et al. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 415–421, abr. 2006.

MORE, S. J. Global trends in milk quality: implications for the Irish dairy industry. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, p. 5–14, 2009.

NICKERSON, S. C. et al. **Current concepts of bovine mastitis**. National Mastitis Council Annual Meeting. **Anais...**Madison: 1996

OLIVER, S. P. et al. Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 8, p. 2393–400, ago. 2004.

OVIDO-BOYSO, J. et al. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. **The Journal of infection**, v. 54, n. 4, p. 399–409, abr. 2007.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. . **Vencendo a luta contra a mastite**. São Paulo: Westfalia Landtechnik do Brasil Ltda, 2002.

PIETERSE, R.; TODOROV, S. D. Bacteriocins - exploring alternatives to antibiotics in mastitis treatment. **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 41, n. 3, p. 542–62, jul. 2010.

RADTKE, A. et al. Multiple-locus variant-repeat assay (MLVA) is a useful tool for molecular epidemiologic analysis of *Streptococcus agalactiae* strains causing bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 157, n. 3–4, p. 398–404, jun. 2012.

SAEKI, E. K. et al. Mastite bovina por *staphylococcus aureus*: sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 3, p. 284–290, 2011.

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

SOUZA, G. N. et al. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1015–1020, 2009.

SOUZA, G. N. DE. **fatores de risco para mastite bovina**. UFMG, 2005.

SOUZA, G. N. DE et al. **Presença de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* nos rebanhos bovinos e os limites de contagem de células somáticas e contagem total de bactérias estabelecidos na Instrução Normativa 51**. IV Congresso Brasileiro da Qualidade do Leite. Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite. **Anais...**Florianópolis, SC: 2010 Disponível em: <<http://www.cbql.com.br>>

TOZZETI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. DE. Prevenção , Controle e Tratamento das Mastites Bovinas – Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletônica De Medicina Veterinária**, v. 10, n. 7, 2008.

TSENKOVA, R. et al. Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy: A new diagnostic tool. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 10, p. 2550–2557, 2001.

VARGAS, D. P. DE et al. Correlações entre contagem bacteriana total e parâmetros de qualidade do leite. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 241–247, 2013.

VEIGA, V. M. DE O. RETORNO ECONÔMICO DE UM PROGRAMA DE CONTROLE DE MASTITE BOVINA EM REBANHOS NO ESTADO DE MINAS GERAIS. In: **Controle integrado da mastite bovina**. Centro Nac ed. Juiz de Fora: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 1996. p. 97–110.

Artigo redigido conforme norma do periódico científico Pesquisa Veterinária Brasileira (versão preliminar).

Artigo 2 - Prevalências, relação com qualidade do leite e resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* isolados de tanques de expansão em rebanhos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil, em 2017

Prevalências, relação com qualidade do leite e resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* isolados de tanques de expansão em rebanhos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil, em 2017

Alan Andrade Mesquita², Christiane M. B. M. da Rocha³, Fabio R. P. Bruhn⁴, Dircéia Aparecida da Costa Custódio³, Mirian Sílvia Braz³, Geraldo Márcio da Costa^{*3}

ABSTRACT.- Mesquita A. A., Rocha C. M. B. M., Bruhn F. R. P., Custódia D. A. C., Braz M. S., Costa G. M. da, [Prevalence, milk quality and resistance to antimicrobials relationships in *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* isolated from bulk milk in the dairy herds from Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brazil, in 2017] Prevalência, relação com qualidade do leite e resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* isolados de tanques de expansão em rebanhos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil, em 2017. **Pesquisa Veterinária Brasileira XXX.** Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras/MG. * Autor para correspondência: gmcosta@dmv.ufla.br

Bovine mastitis is the most frequent disease worldwide in dairy herds, causing high economic losses to producers and industry, as well as having implications for public health due to the zoonotic potential of some agents involved in its etiology and the presence of antimicrobial residues in milk. Considering the multifactorial aspect of the disease, the knowledge of the agents involved in its etiology and the profiles of antimicrobial susceptibility is very importance. This study evaluated the prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in dairy herds from region of Campos das Vertentes, Minas Gerais/State, and its relation with the bulk milk somatic cell counts (BMSCC), total bacterial counts (TBC), and daily production. In addition, analyses of the resistance of these pathogens to the antimicrobials most commonly used in the treatment of mastitis in dairy herds were done. The study involved 306 dairy herds, totaling approximately 34,000 animals and covering an area of approximately 12,564 km². A prevalence survey of *S. aureus* and *S. agalactiae* pathogens was carried out through microbiological analyzes of milk samples from bulk milk. For the detection of *S. aureus*, the modified Baird-Parker Agar medium was used for the detection of *S. agalactiae*, the modified Edwards Agar medium, enriched with 5% defibrinated sheep blood. The disc diffusion technique was used to evaluate antimicrobial resistance. Our results showed high prevalence of *S. aureus* (70.3%) and *S. agalactiae* (67.0%) in dairy farms in the studied region. No variation was observed in the distribution of *S. aureus* and *S. agalactiae* as a function of the daily production of the studied properties. There were associations between BMSCC and the presence of pathogens *S. aureus* and *S. agalactiae*, and also between CBT and the presence of *S. agalactiae*, demonstrating the negative interference of these pathogens in these quality issues. High levels of resistance and multiresistance were observed for *S. aureus* and *S. agalactiae* pathogens in the studied herds. The results indicate the need for more effective control measures for contagious mastitis pathogens in the region studied and more judicious use of the antimicrobials in order to reduce the problem of resistance to them.

INDEX TERMS: Mastitis, mastitis pathogens, bulk milk analysis, antibiotics, multiresistance.

RESUMO.- A mastite bovina é a doença de maior frequência mundial em rebanhos leiteiros, acarretando grandes prejuízos econômicos aos produtores e à indústria. Além disso tem implicações na saúde pública devido ao potencial zoonótico de alguns agentes envolvidos em sua etiologia e à presença de resíduos de antimicrobianos no leite. Considerando o aspecto multifatorial da doença, o conhecimento dos agentes envolvidos em sua etiologia e os perfis de suscetibilidade aos antimicrobianos é de suma importância. Neste estudo, se avaliou a prevalência de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* em rebanhos na região do Campo das Vertentes, Minas Gerais e a sua relação com os índices de contagem de células somáticas do tanque de expansão (CCSt), contagem bacteriana total (CBT) e produção diária, além de analisar a resistência destes patógenos aos antimicrobianos mais comumente utilizados no tratamento da mastite em rebanhos leiteiros. O estudo envolveu 306 propriedades, totalizando aproximadamente 34.000 animais e abrangendo uma área aproximada 12.564 km². Foi realizado um levantamento de prevalência dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae*, através de análises microbiológicas de amostras de leite de tanque de expansão. Para a detecção de *S. aureus* utilizou-se o meio seletivo Ágar Baird-Parker modificado e para a detecção de *S. agalactiae*, o meio seletivo Ágar Edwards modificado, enriquecido com 5% de sangue ovino desfibrinado. Foi utilizada a técnica de difusão em discos para a avaliação de resistência aos antibióticos. Os resultados apontaram altas prevalências dos patógenos *S. aureus*

(70,3%) e *S. agalactiae* (67,0%) nas propriedades leiteiras da região de Campos das Vertentes. Não se observaram variações nas distribuições dos patógenos *S. aureus* e nem *S. agalactiae* em função da produção diária das propriedades estudadas. Verificaram-se associações entre a CCSt e a presença dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae*, e também entre a CBT e a presença de *S. agalactiae*, demonstrando a interferência negativa destes patógenos nestes quesitos de qualidade. Níveis elevados de resistência e de multirresistência foram observados para os patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* nos rebanhos estudados. Os resultados apontam a necessidade de medidas mais efetivas de controle para os patógenos contagiosos na região estudada e do uso mais criterioso dos antimicrobianos, visando minimizar o problema da resistência aos mesmos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Mastite, patógenos da mastite, análise leite do tanque, antibióticos, multirresistência.

INTRODUÇÃO

A mastite é um processo inflamatório causado geralmente pela presença de micro-organismos no interior da glândula mamária. Apesar dos inúmeros esforços para o seu controle, esta doença representa um dos principais entraves para a bovinocultura leiteira, sendo considerada a principal causa de prejuízos econômicos para esse setor em âmbito mundial (Freitas et al. 2005).

As perdas econômicas decorrentes da mastite estão associadas com a diminuição na produção do animal acometido pela enfermidade, que ocasiona gastos decorrentes da elevação dos custos com mão-de-obra, gastos com medicamentos, descarte de leite de animais afetados, serviços veterinários e com a morte ou o descarte precoce de animais (Oviedo-boyso et al. 2007; Lopes et al. 2011; Lopes et al. 2012). Os prejuízos econômicos também decorrem da perda de qualidade do leite, uma vez que esta doença promove alterações na composição do leite e está associada com o aumento da contagem de células somáticas (CCS), acarretando em preços inferiores pagos ao produtor, assim como o descarte do produto que apresenta resíduos de antimicrobianos (Langoni et al. 2001).

As bactérias envolvidas na etiologia da mastite podem colocar em risco a saúde humana, podendo ocasionar toxi-infecções alimentares aos consumidores de produtos lácteos (Coser et al. 2012; Forsythe 2013). Além disto, o leite pode conter bactérias resistentes que podem ser transmitidas aos seres humanos (De Vlieghe et al. 2012).

A mastite, nas formas clínica ou subclínica, é geralmente ocasionada por bactérias gram-positivas dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, e também por bactérias gram-negativas, principalmente os coliformes (Ruegg 2012). Dentre estas bactérias, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus uberis*, estão associados normalmente com os danos mais graves à glândula mamária que os promovidos por outros micro-organismos, sendo, por isso, denominados patógenos principais ou maiores (Reyher et al. 2012).

A identificação dos patógenos causadores da mastite bovina pode ser realizada por meio da cultura ou de testes moleculares em amostras de leite coletadas de quartos individuais, pools de quartos afetados ou amostras do leite de tanque de expansão. Vários estudos apontam a aplicabilidade deste recurso no monitoramento dos agentes causadores da mastite bovina (Brito et al. 1998; Carneiro 2009; Ribas et al. 2014).

As bactérias *S. aureus* e *S. agalactiae* são os patógenos mais frequentemente isolados na mastite bovina em rebanhos bovinos brasileiros, com tendência crescente para a resistência aos antimicrobianos (Brito et al. 2001). Estudos prévios apontaram que, em Minas Gerais, Estado em que se produziu cerca de 26% do leite adquirido pela indústria em 2016 (IBGE 2017), *S. agalactiae* estava presente em 60% das propriedades avaliadas na Zona da Mata (Brito et al. 1999) e 39,7% de fazendas de diferentes municípios do Estado (Elias et al. 2012). Oliveira (2013), ao estudar a etiologia da mastite em aproximadamente 6.000 vacas em lactação provenientes de 112 rebanhos de propriedades localizadas em Minas Gerais e no Rio de Janeiro, verificaram prevalências de *S. aureus* e *S. agalactiae* em 93,0% e 41,0% dos animais avaliados, respectivamente. Cunha et al. (2015), em um estudo realizado no município de Viçosa, na Zona da Mata mineira, observaram uma prevalência de mastite subclínica de 55,4% nos rebanhos leiteiros avaliados. Os agentes etiológicos mais frequentemente isolados nesse estudo foram *Corynebacterium* sp. (32,99%), *S. aureus* (28,35%) e *S. agalactiae* (13,66%).

A mastite causada por *S. aureus* e *S. agalactiae* resulta em grandes variações na composição do leite e na CCS, sendo observado valores médios de CCS de 440.000 e de 640.000 células/mL, respectivamente, em animais portadores destes patógenos (Wilson et al. 1997). A presença destes patógenos no leite é indicativo de matéria-prima de qualidade inferior, com componentes alterados, principalmente dos indicadores de qualidade do leite, como CBT e CCS (Peter et al. 2013). O aumento da CCS, que é decorrente principalmente da passagem de leucócitos para o interior da glândula mamária, é um indicador da ocorrência de inflamação intramamária e uma ferramenta empregada para monitorar os níveis de mastite em rebanhos leiteiros (Souza et al. 2009).

A mastite bovina é a doença que mais demanda a utilização de antimicrobianos, que são administrados, principalmente, para o tratamento dos casos clínicos e na terapia da vaca seca (Erskine et al. 2004). A antibioticoterapia executada de forma indiscriminada é um fator determinante para a seleção de cepas

resistentes, potencialmente mais perigosas para a saúde pública (OIE, 2010). De acordo com Santos et al. (2006), o incremento da resistência bacteriana, geralmente está associado ao uso indiscriminado de antimicrobianos, decorre de mecanismos de transferência e alteração gênica, como mutação, conjugação, transdução e transformação. Rajala-Schultz et al. (2009) relataram que o tratamento no período seco, associado com contagem elevadas de células somáticas e com um histórico de mastite, tem potencial para a seleção de cepas resistentes a antimicrobianos.

Estudos indicam que *S. aureus* e *S. agalactiae* apresentam grande variação nos perfis de resistência aos antibióticos, assim como a ocorrência de múltipla resistência entre algumas cepas. O fenômeno da resistência, associado ao uso indiscriminado de antibióticos e a falhas no manejo, é o maior entrave para o sucesso da antibioticoterapia no combate à mastite (Medeiros 2015), podendo disseminar cepas resistentes no ambiente e causar sérios problemas de saúde pública (Santos et al. 2006). Desta forma, é enfatizado o uso mais criterioso destes medicamentos, bem como a importância da realização de testes de antibiograma para a escolha dos fármacos mais adequados para o tratamento e prevenção da mastite bovina (Diniz et al. 2010; Jain et al. 2012; Costa et al. 2013).

A elevada prevalência e o impacto econômico e sanitário da mastite nos rebanhos brasileiros requerem o monitoramento periódico dos patógenos envolvidos nesta enfermidade e de seus perfis de suscetibilidade aos antimicrobianos. *S. aureus* e *S. agalactiae* possuem uma posição de destaque na etiologia da mastite, visto que tanto a incidência quanto a prevalência desses agentes em rebanhos bovinos leiteiros no Brasil foram mais elevadas quando comparadas aos demais agentes causadores desta doença (Cremonesi et al. 2005; Nader Filho et al. 2007). Além disto, é importante que seja estudada a resistência dessas bactérias aos antimicrobianos comumente empregados no combate à mastite, permitindo o monitoramento da dinâmica de resistência e a adoção de protocolos terapêuticos mais efetivos para o combate da mastite. O monitoramento periódico dos agentes envolvidos na etiologia da mastite bovina e dos perfis de suscetibilidade aos antibióticos é de suma importância uma vez que se verificam variações espaciais e temporais nestes quesitos.

Neste estudo, avaliou-se a prevalência de *S. aureus* e *S. agalactiae* em rebanhos na região do Campo das Vertentes, Minas Gerais, e a sua relação com os índices de CCSt, CBT e produção diária, além de analisar a resistência destes patógenos aos antimicrobianos mais comumente utilizados no tratamento da mastite em rebanhos leiteiros.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 306 amostras de leite provenientes de tanques de expansão de propriedades rurais, localizadas na bacia leiteira da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, totalizando aproximadamente 34.000 animais e abrangendo uma área aproximada 12.564 km² (FAEMG, 2006). Não foram aplicados critérios probabilísticos para a escolha das propriedades estudadas, sendo a inclusão das mesmas feitas com base no relacionamento prévio dos proprietários com um laticínio e a unidade de pesquisa.

Foi realizado um estudo de prevalência, em caráter descritivo, dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* nessas propriedades. Para isso, foram utilizadas amostras de aproximadamente 40 mL de leite, coletadas assepticamente nos tanques de expansão após homogeneização. As amostras foram acondicionadas em frascos esterilizados, armazenadas -20°C até serem avaliadas.

Para a detecção de *S. aureus*, uma alíquota de 50µL de cada amostra foi semeada em placa de Petri contendo o meio seletivo *Ágar Baird-Parker* modificado, sendo incubada a 37°C durante 24-48h. As amostras que apresentaram crescimento de colônias sugestivas foram submetidas à diferenciação fenotípica. Foram consideradas positivas para *S. aureus* as colônias que, após incubação, apresentaram coloração cinzenta escura a preta, aspecto lustroso e forma convexa, com 1-5 mm de diâmetro, com um halo claro com 2-5 mm de largura em sua periferia.

Para a detecção de *S. agalactiae*, uma alíquota de 50µL de cada amostra de leite foi semeada em placas de Petri com meio seletivo *Ágar Edwards* modificado, enriquecido com 5% de sangue ovino desfibrinado. As placas foram incubadas por 24-48h, a 37°C. Foram consideradas positivas as colônias com coloração azulada, aspecto brilhante e forma convexa, com 1-5 mm de diâmetro, com ou sem zona opaca na periferia das colônias.

Foram selecionadas cinco colônias sugestivas de cada um dos agentes de interesse (*S. aureus* e *S. agalactiae*) que foram submetidas a testes confirmatórios de acordo com NMC (2000) e estocadas em BHI contendo glicerol (15% v/v) a -20°C até a realização dos testes.

Para a realização de testes de susceptibilidade a antibióticos, foram selecionados, ao acaso, três isolados de *S. aureus* de 99 propriedades diferentes positivas para *S. aureus* e três isolados provenientes de 93 propriedades positivas para *S. agalactiae*. Os três isolados de cada agente provenientes de cada fazenda foram utilizados para compor um pool de bactérias a ser utilizado nos testes de antibiogramas.

Os testes de resistência aos antibióticos *in vitro* foram realizados através do método de difusão por discos, de acordo com as especificações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2013). Para isso, as amostras mantidas em cada BHI foram transferidas para tubos de ensaio com 2 mL de caldo *Muller Hinton* e incubadas a 37°C por 18-24 horas, sendo posteriormente diluídas em solução salina esterilizada até que fosse obtida uma turbidez equivalente a 0,5 da escala padrão de *McFarland*. A seguir, as amostras foram semeadas sobre a superfície de placas com meio cultura contendo o Ágar *Mueller-Hinton*, sendo este suplementado com 5% de sangue ovino para os testes de suscetibilidade envolvendo *S. agalactiae*. Foram testados os antibióticos: ampicilina, cefalotina, cefotaxima, cefoperazona, ceftiofur, cloranfenicol, enrofloxacino, florfenicol, gentamicina, lincomicina, neomicina, nitrofurantoína, novobiocina, polimixina B, penicilina G, oxacilina, sulfazotrim, tetraciclina, estreptomina e ciprofloxacina. Amostras de *S. aureus* (ATCC-25923) e de *Escherichia coli* (ATCC 25992) foram utilizadas como controle dos testes de antibiograma.

Os resultados dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos foram avaliados de acordo com os padrões definidos pelo CLSI (2008) e do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLSI, 2003). As bactérias avaliadas foram classificadas como sensíveis e resistentes, de acordo com padrões definidos previamente pelo CLSI e NCCLSI, obtendo-se os índices de resistência percentuais para cada antimicrobiano testado. Amostras que apresentaram resultados intermediários foram consideradas resistentes para realização dos cálculos estatísticos. A partir desses resultados, foi calculado o Índice de Resistência Múltipla (MAR) de acordo com Krumperman (1983).

Para a avaliação da correlação entre a presença do *S. aureus* e *S. agalactiae* com os índices de CCSt, CBT e produção diária de leite, foram utilizados os dados mais recentes de qualidade do leite coletados pelo laticínio que adquiriu o leite das propriedades avaliadas. Esses dados foram obtidos a partir de análises quinzenais realizadas nos laboratórios integrantes de Rede Brasileira de Qualidade do Leite. Os resultados das cinco análises recentes de cada propriedade foram utilizados para a obtenção das médias aritméticas de CCSt e de CBT. Estas, por sua vez, foram correlacionadas com presença/ausência dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* nas propriedades. As relações entre a presença/ausência de *S. aureus* e *S. agalactiae* e os índices de CCSt, CBT e a produção diária de leite das propriedades foram avaliadas por meio do teste do X^2 de *Pearson*, com nível de significância de 5,0%.

Para se verificar a existência de diferença na distribuição das variáveis quantitativas (produção de leite, CCST e CBT) e entre variáveis qualitativas (presença de *S. aureus* e *S. agalactiae*) foi utilizado o teste não paramétrico de *Mann-Whitney*, uma vez que não se observou normalidade na distribuição dos dados pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*.

As análises estatísticas foram realizadas no software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, Chicago, EUA) versão 20.0 para Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção diária média de leite entre os rebanhos estudados foi de 486 litros de leite, demonstrando maior produtividade em relação à média nacional de produção por propriedades que gira em torno de 40,9 litros/dia (IBGE 2006), e superior à média de produção do Estado de Minas Gerais que é próxima de 184 litros (FAEMG, 2009).

Os resultados do presente estudo apontaram uma elevada prevalência dos patógenos *S. aureus* (70,3%) e *S. agalactiae* (67,0%) nas propriedades estudadas (306). Os rebanhos analisados, 47,71% apresentavam ambos os agentes, 89,54% apresentavam um dos dois agentes e apenas 10,45% das propriedades estudadas eram negativas para ambos os agentes (Tabela 1).

Nossos resultados são corroborados por estudos prévios citados na literatura. Brito et al. (1999) verificaram prevalências de 77,80% para *S. aureus* e de 60% para *S. agalactiae* ao analisarem 6315 amostras de leite, originárias de 48 rebanhos bovinos localizados na Zona da Mata e Campo das Vertentes do Estado de Minas Gerais. Noutro estudo, envolvendo 112 rebanhos localizadas nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, com aproximadamente 6.000 vacas em lactação, Oliveira et al. (2013) verificaram prevalências para *S. aureus* e *S. agalactiae* de 93,0% e 41,0%, respectivamente. Arcuri et al. (2006) avaliaram a qualidade microbiológica do leite em 24 rebanhos, situados nas regiões Sudeste de Minas Gerais e Norte do estado do Rio de Janeiro, observando a presença do *S. aureus* e *S. agalactiae* em 22 e 12 dos 24 rebanhos, respectivamente, uma prevalência de 91,66% para o *S. aureus* e 50% para *S. agalactiae*, constatando também uma alta prevalência destes patógenos nos rebanhos estudados.

Prevalências elevadas de infecções intramamárias nos rebanhos com o envolvimento destes agentes, ditos contagiosos, estão geralmente associadas ao aumento dos escores de CCSt, o que endossa o fato de as contagens médias serem de 483.000 cels/mL entre os rebanhos e cerca de 50% das propriedades apresentam contagens superiores a 400.000 cels/mL de leite. As altas prevalências verificadas em nosso trabalho para *S. aureus* e *S. agalactiae* (Tabela 1), demonstram que as medidas de controle para as mastites contagiosas não estão sendo corretamente aplicadas, constatação corroborada por Brito et al. (1999) e Rodrigues et al. (2017). Tal fato salienta a necessidade da adoção de medidas específicas para o controle destes patógenos contagiosos que impactam a produtividade dos rebanhos e a qualidade do leite produzido, sobretudo na CCSt.

Tabela 1 – Prevalência de *Staphylococcus aureus* e de *Streptococcus agalactiae* no leite de tanques de expansão de rebanhos bovinos leiteiros da região do Campo das Vertentes, MG, no ano de 2017

Fatores	Unidade	Valores	%	IC
<i>S. aureus</i>	Presente	215	70,3	
	Ausente	91	29,7	(24,9-35,1)
<i>S. agalactiae</i>	Presente	205	67,0	
	Ausente	101	33,0	(28,0-38,5)
Presença de ambos os agentes	Presente	146	47,71	
Ausência de ambos os agentes	Ausente	32	10,45	
Presença de um ou de ambos os agentes	Presente	274	89,54	

As análises de CCSt e de CBT foram compiladas nas Tabelas 2 e 3, de acordo com a produção diária de leite das propriedades. Os resultados demonstram que a qualidade da matéria-prima entre os produtores amostrados está dentro dos padrões exigidos pela Instrução Normativa 07 (IN 07), que seria até 500.000 cel./mL de leite e CBT de 300.000 UFC/mL de leite. Entre as propriedades estudadas 92,16% apresentaram CBT \leq 100.000 UFC/mL, sendo que apenas 7,84% apresentavam contagens acima de 300.000 UFC/mL.

Tabela 2- Contagens de células somáticas no leite de tanques de expansão (CCSt) de rebanhos bovinos da região de Campos da Vertente/MG, 2017

Produção diária	CCSt x 1.000 (cels/mL)				Total rebanhos
	≤200	201-500	501-1.000	≥1.000	
≤100	10 (16,67%)	33 (55,00%)	12 (20,00%)	5 (8,33%)	60
100-500	18 (11,11%)	81 (50,00%)	55 (33,95%)	8 (4,94%)	162
500-1000	3 (6,98%)	28 (65,12%)	8 (18,60%)	4 (9,30%)	43
≥1000	3 (7,32%)	22 (53,66%)	13 (31,71%)	3 (7,32%)	41
Total	34 (11,11%)	164 (53,59%)	88 (28,76%)	20 (6,54%)	306

Tabela 3- Contagem bacteriana total (CBT) no leite de tanques de expansão de rebanhos bovinos da região de Campos da Vertente/MG, 2017

Produção diária	CBT x 1.000 (UFC/mL)				Total rebanhos
	≤10	11-50	51-100	≥101	
≤100	18 (30,00%)	29 (48,33%)	7 (11,29%)	6 (9,68%)	60
100-500	45 (27,77%)	86 (53,08%)	17 (10,56%)	14 (8,70%)	162
500-1000	14 (32,56%)	24 (55,81%)	3 (6,98%)	2 (4,65%)	43
≥1000	11 (27,50%)	23 (56,09%)	5 (12,50%)	2 (5,00%)	41
Total	89 (29,08%)	161 (52,61%)	32 (10,46%)	24 (7,84%)	306

Nossos resultados apontaram que 35,3% das propriedades amostradas apresentavam CCSt acima de 500.000 cel./mL e que 50% das mesmas apresentam contagens superiores a 400.000 cels/mL de leite. Estas observações também estão em concordância com Rodrigues et al. (2017) que verificaram uma média anual geométrica de CCST em rebanhos do Sudeste do Brasil de 518.000 cels/mL de leite, com um intervalo de confiança entre 491.000 e 546.000 cels/mL de leite, resultados próximos aos encontrados no nosso estudo, que foi de 483.000 cels/mL.

Escores de CCSt acima de 200.000 cels/mL já são indicativas de perdas de produção e qualidade do leite, indicando mastite subclínica em níveis elevados no rebanho (Barbosa et al. 2002; Coldebella et al. 2004; Magalhães et al. 2006). Segundo Silva e Nogueira (2010) altos índices de CCSt causam inúmeros prejuízos às indústrias de laticínios por afetarem de forma direta a composição do leite e, conseqüentemente, diminuírem o tempo de vida de prateleira do leite e seus derivados.

Os resultados obtidos para CCSt demonstram que melhorias no controle da mastite precisam ser adotadas nestas propriedades, uma vez que os escores de CCSt observados em grande parte das propriedades estão acima daqueles aceitos no mercado internacional, sobretudo na União Europeia, onde os limites máximos são inferiores a 400.000 cels./mL, mas com tendências a diminuir nos próximos anos, já que nos países escandinavos a média nacional de CCSt foi de 200.000 a 250.000 cels/mL (More 2009).

Rodrigues et al. (2017) constataram, em função da análise histórica das CCSt em rebanhos da região Sudeste do país, que aproximadamente, 40 a 50% dos rebanhos leiteiros desta mesma região não alcançarão o limite de 400.000 cels/mL de leite para CCSt previstos na legislação (IN 07/2016) para os próximos anos. Segundo estes autores, para se alcançar este valor seria necessário além de um programa de controle de mastite, abater uma quantidade grande de vacas com infecções crônicas de mastite subclínica.

Os resultados apresentados na Tabela 4 demonstram que nas propriedades com menores índices de CCSt a prevalência dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* é geralmente baixa, podendo se observar que 23,53% das propriedades com CCSt abaixo de 200.000 não apresentavam nenhum dos dois agentes, enquanto que nas propriedades com CCSt acima de 1.000.000 apenas 10% eram isentas destes patógenos., verificando-se que nestas propriedades as prevalências para *S. aureus* e *S. agalactiae* forma de 85% e 65%, respectivamente.

Tabela 4 – Prevalência dos patógenos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, em função das contagens de células somáticas (CCSt), no leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017

Variável	CCSt x 1.000 (cels/mL)				Total
	≤200	201-500	501-1000	>1000	
Presença de <i>S. aureus</i>	19 (55,88%)	114 (69,51%)	66 (75,00%)	17 (85,00%)	216 (70,30%)
Presença de <i>S. agalactiae</i>	15 (44,12%)	112 (68,29%)	65 (73,86%)	13 (65,00%)	205 (66,99%)
Presença de ambos os agentes	8 (23,53%)	76 (46,34%)	50 (56,82%)	12 (60,00%)	146 (47,71%)
Ausência de ambos os agentes	8 (23,53%)	15 (9,15%)	7 (7,95%)	2 (10,00%)	32 (10,46%)

Na Tabela 5, pode-se observar que as propriedades que apresentaram CBT acima de 100.000 UFC/mL tinham níveis mais elevados de co-infecção por *S. aureus* e *S. agalactiae* (87,50%), enquanto que apenas 38,20% das propriedades que tinham CBT abaixo de 10.000 UFC/mL apresentavam os dois patógenos conjuntamente.

Tabela 5 – Prevalências dos patógenos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, nos diversos escores de contagem bacteriana total (CBT), no leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017

Variável	CBT x 1.000 (UFC/mL)				Total
	≤10	11-50	51-100	≥101	
Presença de <i>S. aureus</i>	59 (66,29%)	120 (75,00%)	22 (40,00%)	15 (62,50%)	215 (70,59%)
Presença de <i>S. agalactiae</i>	51 (57,30%)	111 (69,38%)	26 (47,27%)	17 (70,83%)	205 (66,99%)
Presença de ambos os agentes	34 (38,20%)	85 (53,13%)	33 (60,00%)	21 (87,50%)	173 (56,54%)
Ausência de ambos os agentes	13 (14,61%)	15 (9,38%)	2 (3,64%)	2 (8,33%)	32 (10,46%)

A prevalência de *S. aureus* foi maior que a de *S. agalactiae* em todas as faixas de produção, exceção para a faixa de 500-1000 litros/dia, na qual se observou a menor prevalência para *S. aureus* (60,47%), enquanto a prevalência de *S. agalactiae* foi de 67,44% (Tabela 6). No extrato de produção > 1000 L/dia foi que se observou a menor prevalência para *S. agalactiae*, no entanto não se verificou diferença representativa para nenhuma das faixas de produção ($p>0,05$).

Não foi observada relação entre a presença dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* entre si ($p=0,601$), ou seja, eles podem estar presentes nos rebanhos independentes um do outro. Não houve relação entre a produção diária de leite e presença dos patógenos (*S. aureus* e *S. agalactiae*) ($p>0,05$), o que demonstra que os mesmos estão igualmente distribuídos entre os rebanhos, independente da faixa de produção (Tabela 7). Não se verificou associação entre a produção diária e a CBT e nem entre a produção diária com a CCSt ($p>0,05$), demonstrando que o nível de produção das propriedades não influenciou nestes quesitos (Tabela 7).

Verificou-se associação entre as variáveis CCSt e a presença do *S. aureus* ($p=0,003$), CCSt e a presença do *S. agalactiae* ($p=0,002$), e CBT com a presença do *S. agalactiae* no rebanho ($p=0,009$), indicando que estes agentes quando presentes nos rebanhos interferem negativamente na CCSt e que a presença de *S. agalactiae* está relacionada com incremento na CBT. Rebanhos afetados por *S. agalactiae* apresentaram contagens médias de 46.000 UFC/mL, enquanto em rebanhos afetados por *S. aureus* esta média foi de 40.000 UFC/mL (Tabela 7).

Segundo Vargas et al. (2013), a elevação da CBT é influenciada pela higienização de todos os utensílios que entram em contato com o leite, ordenhadeira, tanque de expansão, limpeza de tetos e úbere, bem como pela sanidade da glândula mamária, principalmente quando esta se encontra infectada por estreptococos causadores de mastite subclínica. Estes fatos explicam o aumento simultâneo da CBT nos rebanhos afetados por *S. agalactiae*, conforme verificado em nosso estudo. Tal observação é corroborada por Zadoks et al. (2004), que relataram que a elevação da contaminação bacteriana do leite, medido por meio da CBT de tanques de expansão, pode ser influenciada pela glândula mamária infectada, principalmente por *S. agalactiae*.

Lopes Júnior et al. (2012) verificaram relação entre CCS, CBT e patógenos da mastite, encontrando uma correlação entre CCS e CBT maior que 0,60 para todos os agentes estudados, no qual o coeficiente angular das regressões lineares para *S. agalactiae* (0,542) foi o maior em relação aos outros patógenos da mastite, seguido de *S. aureus* (0,503), sugerindo que a intensidade do processo inflamatório, aferida pela CCSt, foi associada com a carga de bactéria (CBT) presente no leite do animal acometido pela mastite.

Tabela 6 - Variações nas prevalências de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* e inadequações com relação à contagem de células somáticas no leite do tanque (CCSt) e contagem bacteriana total (CBT), em função da escala de produção diária de leite, no leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017

Produção diária (L)	N(%)	Presença de <i>S. aureus</i> N(%)	Presença de <i>S. agalactiae</i> N(%)	CCSt>500.000 cels/mL N(%)	CBT>100.000 UFC/mL N(%)
≤100	62 (20,26%)	46 (73,02%)	43 (68,25%)	19 (30,16%)	1 (1,59%)
100-500	163 (52,94%)	115 (70,55%)	111 (68,10%)	64 (53,27%)	5 (1,63%)
500-1000	42 (14,05%)	26 (60,47%)	29 (67,44%)	12 (27,91%)	1 (2,33%)
>1000	39 (12,75%)	28 (71,79%)	22 (56,41%)	14 (35,90%)	1 (2,56%)
Todas as propriedades	306 (100%)	215 (70,30%)	205 (67,00%)	109 (35,62%)	8 (2,61%)

Tabela 7 - Relações entre as variáveis quantitativas: produção diária de leite, contagem de células somáticas no leite do tanque (CCST) e contagem bacteriana total (CBT), em rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG positivos para *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, em 2017

Variáveis	<i>S. aureus</i>		Valor de p	<i>S. agalactiae</i>		Valor de p
	Positivo	Negativo		Positivo	Negativo	
Prevalência n (%)	70,3 (215)	29,7 (91)		67,0 (205)	33,00 (101)	
Média de Produção diária (L)	467	528	0,223	460	538	0,216
CCSt média (cels/mL)	503.000	434.000	0,003*	503.000	442.000	0,002*
CBT média (UFC/mL)	40.000	38.0000	0,867	46.000	38.000	0,009*

Relações significativas através do teste de *Mann-Whitney*, com nível de significância de 5%.

Os resultados dos testes de antibiograma (Tabela 8) demonstraram que índices de resistência dos isolados de *S. aureus* aos antimicrobianos testados variaram entre 2% e 72%. Os antimicrobianos mais eficientes no combate ao *S. aureus* foram sulfazotrim com 98% dos isolados sensíveis, florfenicol (97%), cloranfenicol (95%), nitrofurantoína (94%) e ciprofloxacino (91%). Os maiores índices de resistência foram observados para a polimixina B (72%), penicilina G (69%), ampicilina (60%), estreptomina (58%) e tetraciclina (49%). Os Índices de Resistência Múltipla (MAR) para os isolados variaram entre 0,00 e 0,76, com média de 0,30, tendo sido observado que 84% dos isolados apresentaram multirresistência aos antimicrobianos.

Os resultados dos testes de antibiogramas para *S. agalactiae* (Tabela 8) demonstraram a resistência global dos isolados variou de 1% a 97%. Os antimicrobianos mais efetivos nos testes *in vitro* foram florfenicol com 99%

dos isolados sensíveis, sulfazotrim (85%), nitrofurantóina (76%), ciprofloxacina (75%) e ampicilina (63%). Os antimicrobianos para os quais se observaram as maiores taxas de resistência foram a novobiocina (97%), oxacilina (97%), polimixina B (96%), estreptomina (96%) e lincomicina (95%). Os Índice de Resistência Múltipla (MAR) variaram entre 0,10 e 0,90, com média de 0,61. Todas as amostras analisadas apresentaram multirresistência aos antibióticos testados.

No Brasil, os perfis de sensibilidade de amostras de *S. aureus* e de *S. agalactiae* isolados de bovinos acometidos por infecções intramamárias (IIM) foram previamente avaliados em diferentes estudos.

Riedner et al. (1987) submeteram 187 amostras de *S. aureus* isoladas em Santa Maria/RS ao antibiograma e verificaram que gentamicina, cloranfenicol e sulfazotrim apresentaram os melhores resultados, enquanto penicilina e ampicilina foram as drogas menos efetivas.

Langoni et al. (1991) submeterem 285 amostras de *S. aureus* isolados no município de Jaboticabal/SP a testes de antibiograma, tendo verificado que cefaloridina, gentamicina e cloranfenicol foram as drogas mais efetivas e que penicilina, ampicilina e sulfazotrim foram aquelas para as quais se verificaram as maiores taxas de resistência.

Cardoso et al. (2000), no período de 1994 a 1997, isolaram e submeteram ao antibiograma 127 amostras de *S. aureus* provenientes de 23 municípios do Estado de Minas Gerais. Os antibióticos mais efetivos *in vitro* foram cefotaxima (100%), enrofloxacina (98,4%), gentamicina (98,4%), rifampicina (96,1%), cloranfenicol (90,4%), sulfazotrim (86,6%) e novobiocina (85,8%). Os fármacos para os quais se observaram os maiores índices de resistência foram a polimixina B (8,7%), ampicilina (28,6%) e penicilina G (29,1%).

Donatele et al. (2002) avaliaram a suscetibilidade a antibióticos em 180 cepas de *S. aureus*, isoladas de mastite subclínica, provenientes de rebanhos do Estado do Rio de Janeiro, verificando elevados índices de resistência para os antibióticos β -lactâmicos (82,9%) e tetraciclina (24,4%), sendo que os maiores índices de sensibilidade foram obtidos para sulfazotrim e gentamicina.

Resultados discordantes do nosso estudo foram relatados por Freitas et al. (2005) que verificaram índices de resistência superiores a 50% para gentamicina, lincomicina, tetraciclina e oxacilina em isolados de *S. aureus* provenientes de rebanhos leiteiros do Estado de Pernambuco.

Segundo os resultados de Santos et al. (2006), os estafilococos geralmente apresentam resistência a vários antibióticos, incluindo os β -lactâmicos, aminoglicosídeos, cloranfenicol, quinolonas, macrolídeos e oxacilina. Semelhante aos nossos resultados, Coelho et al. (2007) observaram elevados índices de resistência à penicilina (67,7%) e à ampicilina (64,4%) para *S. aureus*. No entanto, a gentamicina apresentou maior efetividade frente aos isolados testados, com apenas 12,5% dos isolados resistentes.

Nunes et al. (2007) avaliaram a resistência 234 patógenos de mastite, isolados em propriedades produtoras de leite em Portugal, observando níveis elevados de resistência para a penicilina (78,7%) e para ampicilina (65,6%) em isolados de *S. aureus*, resultados semelhantes aos observados em nosso estudo. Estes autores citam que estes resultados podem ser reflexos da pressão seletiva sobre estirpes resistentes, devido à antibioticoterapia mal direcionada.

Fontana et al. (2010) avaliaram a resistência de cepas de *S. aureus* isoladas de 174 vacas leiteiras, de nove propriedades diferentes no município de Jataí-GO, tendo observado 100% de resistência para a oxacilina, penicilina e ampicilina, resultados estes acima dos resultados encontrados neste estudo. Estes autores relataram que o uso indiscriminado de drogas antimicrobianas tem contribuído para o elevado índice de resistência aos antibióticos.

Os resultados deste presente trabalho corroboram com os resultados de Costa et al. (2013), os quais avaliaram o perfil de resistência em 352 isolados de *S. aureus*, provenientes de 35 rebanhos leiteiros localizados na região sul do Estado de Minas Gerais, observando que o maior índice de resistência foi para polimixina B (82%), seguido pelos β -lactâmicos, ampicilina e penicilina, com índices de resistência de 80,92 e 80,45%, respectivamente. Estes mesmos autores ainda observaram multirresistência com índice MAR que variou entre 0,2 a 0,5, diferente do presente estudo que apontou índice MAR variando entre 0,00 e 0,76.

Duarte et al. (2004) estudaram 85 isolados de *S. agalactiae* obtidos de mastite clínica e subclínica em rebanhos nacionais e avaliaram o perfil de resistência aos antimicrobianos gentamicina, tetraciclina e eritromicina, observando que todos os isolados foram resistentes à gentamicina, enquanto 44,7% e 10,5% foram resistentes a tetraciclina e eritromicina, respectivamente. Estes resultados foram discrepantes dos obtidos no presente estudo, no qual observamos índices de resistência de 51% para gentamicina e de 77% para tetraciclina para os isolados de *S. agalactiae*.

Silva (2015) pesquisou a resistência a antibióticos utilizados no controle da mastite em cepas de *S. agalactiae* isoladas de rebanhos bovinos de diferentes regiões brasileiras. O estudo apontou índices de resistência de 26,23% para a eritromicina, 47,54% para tetraciclina, 3,28% para a gentamicina, 98,36% para a sulfonamida e de 29,51% para a clindamicina. Todos os isolados foram susceptíveis a penicilina, ceftiofur e cefalotina. Os resultados deste estudo diferiram do nosso trabalho, principalmente no que se refere ao índice de resistência para a gentamicina que alcançou 51% em nosso estudo.

De acordo com os dados da Tabela 9, pode-se observar que das 99 amostras de *S. aureus* analisadas 48 foram resistentes a mais de cinco antimicrobianos, ou seja, 48,48% das bactérias de *S. aureus* foram resistentes a, no mínimo, cinco antibióticos. Quando se observa os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos para *S. agalactiae*, das 93 amostras analisadas 89 foram resistentes a mais de cinco antibióticos testados, ou seja, 95,70% das amostras analisadas foram resistentes a pelo menos cinco antimicrobianos entre os 20 testados.

Nossos resultados apontaram para índices globais de resistência e de multirresistência mais elevados para *S. agalactiae* em relação ao *S. aureus*. Diferentes trabalhos se referem à maior dificuldade de tratamento das infecções intramamárias ocasionadas por *S. aureus* em função não somente do incremento dos índices de resistência aos antimicrobianos, mas também pelos mecanismos de escape ao sistema imune e próprios antimicrobianos no interior da glândula infectada, tais como a invasão intracelular, formação de biofilmes, produção de leucotoxinas, proteases de IgA, etc (Novick et al. 2001; Deleo et al. 2009). Por outro lado, temos verificado uma dificuldade crescente com relação ao tratamento das mastites ocasionadas por *S. agalactiae*, inclusive com a falência de protocolos clássicos de blitzterapia, o que em parte pode estar associado com os índices elevados de resistência observados em nosso estudo e na nossa rotina laboratorial (dados não mostrados).

As variações nos resultados dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos verificados para os agentes testados no presente estudo em relação aos estudos prévios encontrados na literatura, podem ser justificados por variações espaciais e temporais quanto ao isolamento dos isolados, bem como devido as diferentes metodologias empregadas nos ensaios de suscetibilidade (CIM, difusão em discos), quanto à origem dos isolados (mastite clínica ou subclínica, isolados de tanques de expansão), e à pressão de seleção, decorrente do uso seletivo e ou indiscriminado de antimicrobianos.

Estes resultados demonstram que há uma alta resistência aos principais antibióticos utilizados no tratamento da mastite entre as amostras estudadas, necessitando de um acompanhamento constante nestes perfis de suscetibilidade, visando a escolha mais criteriosa dos antimicrobianos de forma a obter taxas de cura mais altas e minimizar o advento da resistência aos fármacos.

O monitoramento periódico e permanente dos patógenos envolvidos na etiologia da mastite bovina e de seus índices de resistência aos antibióticos é fundamental, uma vez que estes processos são bastante dinâmicos, verificando-se variações espaciais e temporárias nestes parâmetros. Segundo Myllys et al. (1994), a resistência aos antimicrobianos é um fator importante no estabelecimento e disseminação de clones bacterianos em um rebanho, tendo estreita associação com mudanças no manejo, tais como a utilização de tratamento antibiótico sistemático, estabulação e a introdução de ordenhadeira mecânica, fatores que atuam como forças seletivas sobre patógenos causadores de mastite.

Tabela 8 – Resultados dos testes de suscetibilidade a antimicrobianos em amostras de *Staphylococcus aureus* e de *Streptococcus agalactiae* isoladas de leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017

Antibióticos	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Streptococcus agalactiae</i>		
	N de amostras resistentes	% de amostras resistentes	IC 95% (Lim. Inferior – Lim. Superior)	N de amostras resistentes	% de amostras resistentes	IC 95% (Lim. Inferior – Lim. Superior)
Ampicilina	59	60	(49,8-68,7)	34	37	(27,5-46,7)
Cefalotina	24	24	(16,9-33,5)	62	67	(56,6-75,4)
Cefoperazona	28	28	(20,4-37,8)	79	85	(76,3-90,8)
Cefotaxima	35	35	(26,6-45,2)	82	88	(80,1-93,3)
Ceftiofur	25	25	(17,7-34,6)	73	78	(69,1-85,6)

Continua...

Tabela 8 – Resultados dos testes de suscetibilidade a antimicrobianos em amostras de *Staphylococcus aureus* e de *Streptococcus agalactiae* isoladas de leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017

Antibióticos	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Streptococcus agalactiae</i>		
	N de amostras resistentes	% de amostras resistentes	IC 95% (Lim. Inferior – Lim. Superior)	N de amostras resistentes	% de amostras resistentes	IC 95% (Lim. Inferior – Lim. Superior)
Ciprofloxacina	9	9	(4,9-16,4)	23	25	(17,1-34,4)
Cloranfenicol	5	5	(2,2-11,3)	41	44	(34,4-54,2)
Enrofloxacino	17	17	(11,0-25,8)	44	47	(37,5-57,4)
Estreptomicina	57	58	(47,7-66,3)	89	96	(89,5-98,3)
Florfenicol	3	3	(1,0-8,5)	1	1	(0,0-4,0)
Gentamicina	21	21	(14,3-30,3)	47	51	(40,6-60,5)
Lincomicina	34	34	(25,7-44,1)	88	95	(88,0-97,3)
Neomicina	31	31	(23,0-41,0)	76	82	(72,6-88,3)
Nitrofurantóina	6	6	(2,8-12,6)	22	24	(16,2-33,2)
Novobiocina	45	45	(36,0-55,3)	90	97	(96,0-100)
Oxacilina	38	38	(29,4-48,2)	90	97	(90,9-98,9)
Penicilina G	68	69	(57,9-76,1)	80	86	(77,5-91,7)
Polimixina B	71	72	(62,2-79,7)	89	96	(89,5-98,3)
Sulfazotrim	2	2	(0,6-7,1)	14	15	(9,2-23,7)
Tetraciclina	49	49	(39,9-59,2)	72	77	(67,9-84,7)

Tabela 9 – Resistência múltipla em amostras de *Staphylococcus aureus* e de *Streptococcus agalactiae* isoladas do leite de tanques de expansão de rebanhos leiteiros da região de Campos da Vertente/MG, 2017

Patógenos	Número de antibióticos aos quais as amostras foram resistentes					
	0	1	2	3	4	>5
<i>S. aureus</i>	7	7	15	8	14	48
<i>S. agalactiae</i>	0	0	2	0	2	89

CONCLUSÕES

Nosso estudo apontou altas prevalências dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* em propriedades leiteiras da região de Campos das Vertentes. Em grande parte das propriedades foi observada a co-infecção por estes agentes.

Foi observada a relação entre CCSt e a presença dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae*, e também relação entre a CBT e *S. agalactiae*, indicando que a presença destes patógenos interfere negativamente nestes dois quesitos de qualidade.

Não se observou variações nas distribuições dos patógenos *S. aureus* e nem *S. agalactiae* em função da produção diária das propriedades estudadas.

Níveis elevados de resistência foram observados para os patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* nos rebanhos estudados. O fenômeno da multirresistência foi observado para ambos os agentes, em níveis mais elevados para *S. agalactiae* em relação ao *S. aureus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arcuri E. F., Brito M. A.V. P., Brito J. R. F., Pinto S. M., Ângelo F. F., & Souza G. N. 2006. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 58 (3): 440–46.
- Barbosa C. P., Benedetti E., & Ribeiro S. C de. 2002. Relação entre ccs e os resultados do CMT, no Diagnóstico de Mastite Bovina. *Biosci J.* 18 (1): 93–102.
- Brito M.A.V.P., Brito J.R.F., Silva M.A.S., & Carmo R.A.. 2001. Concentração mínima inibitória de dez antibióticos para amostras de *staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia* 53 (5): 531–37.
- Brito M. Aparecida V. P., Brito J. R. F., Maria H. & Souza. 1998. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina 1 18 (1): 39–44.
- Brito, M. A. V, Brito J.R, Ribeiro M.T., & Veiga V.M.O.. 1999. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arq. Bras. Med. Vet.* 51 (2): 129–35.
- Cardoso H.F.T.; Costa, G.M. & Silva, N. 2000. Susceptibilidade a antibióticos de *Staphylococcus aureus* isolados de leite bovino no Estado de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.22, n.5, p. 199-206.
- Carneiro D. M. V. F. 2009. Detecção microbiológica e molecular de *staphylococcus aureus* em amostras de leite bovino obtidas de tanques de expansão: correlação com a presença de antibióticos. Tese de doutorado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu. 120p.
- CLSI. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Disk & Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard.
- Coelho S. M. O., Moraes R. A. M., Soares L. C., Pereira I. A., Gomes L. P., & Souza M. M. S.. 2007. Mapeamento do perfil de resistência e detecção do gene *mecA* em *staphylococcus aureus* e *staphylococcus intermedius* oxacilina-resistentes isolados de espécies humanas e animais. *Ciência Rural* 37 (1): 195–200.
- Coldebella A., Machado P. F., Garcia C., Demétrio B., Justiniano P., Júnior R., Meyer P. M., C. H. Corassin, & Cassoli L. D.. 2004. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas. *Revista Brasileira Zootecnia* 33 (3): 623–34.
- Coser S. M., Lopes M. A., & Costa G. M. 2012. Mastite Bovina : Controle E Prevenção. *Boletim Técnico UFLA. Lavras.*
- Costa G. M., Barros R. A., Custódio D. A. C., Pereira U. P., Figueiredo D. J. & Silva N. 2013. Resistência a antibióticos em *staphylococcus aureus* isolados de mastite em bovinos leiteiros de Minas Gerais , Brasil. *Arq. Inst. Biol.* 80 (3): 297–302.
- Cremonesi P., Luzzana M., Brasca M., Morfi S., Lodi R., Vimercati C., Agnellini D., Caramenti G., P. Moroni, & Castiglioni B. 2005. Development of a multiplex pcr assay for the identification of *staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk & dairy products. *Molecular & Cellular Probes* 19 (5): 299–305.
- Cunha A. F., Bragaça L. J., Quintao L. C., Coelho K. S., Souza F. N., & Cerqueira M. M. O. P.. 2015. Prevalence, etiology and risk factors of subclinical mastitis in dairy cattle of Viçosa-MG. *Acta Veterinaria Brasilica* 9 (2): 48–54.
- Freitas M. F. L., Pinheiro Júnior J. W., Stamford T. L. M., Rabelo S. S. de A., Silva D. R. da, Silveira Filho V. M. da, Santos F. G. B., Sena M. J., & Mota R A. 2005. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus*. *Arq. Inst. Biol.* 72: 171–77.
- 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).
- Deleo F. R., Chambers H. F. & Chambers H. F.. 2009. Reemergence of antibiotic-resistant. *Journal of Clinical Investigation* 119 (9): 2464–74.
- Diniz C. M., Melo R. T. de, Mendonça E. P., Coelho L. R., Fonseca B. B. & Rossi D. A.. 2010. Resistência a oxacilina em *staphylococcus* spp isolado de leite mastítico. *Rev Inst Adolfo Lutz* 69 (4): 482–88.

- Donatele D. M., Motta O. V. & Folly M. M.. 2002. Perfil antimicrobiano de linhagens de *staphylococcus* spp. coagulase positiva na mastite subclínica de vacas leiteiras nas regiões norte e noroeste do estado do Rio de Janeiro. *Rev Napgama* 5 (2): 3–6.
- Duarte R. S., Bellei B. C. & Brito M. A. V. P.. 2004. Phenotypic and molecular characteristics. *Journal of Clinical Microbiology* 42 (9): 4214–22.
- Edmondson P. W. 2002. Estratégias para a produção de leite de alta qualidade. In Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle Da Mastite, 61–69. Ribeirão Preto.
- Elias A. O., Cortez A., Bragão P. E., Silva R. C. da & Langoni H. 2012. Molecular detection of *streptococcus agalactiae* in bovine raw milk samples obtained directly from bulk tanks. *Research in Veterinary Science* 93 (1): 34–38.
- Erskine R., Cullor J., Schaellibaum M., Yancey B. & Zecconi A. 2004. Bovine mastitis pathogens & trends in resistance to antibacterial drugs. NMC Annual Meeting Proceedings, no. Mic: 1–15.
- Fontana V. L. D. S., Almeida M. J. S. M. G., Leite C. Q. F., Mirta E. T., Fusco A. M., Fontana S. C. A. P., Souza C. M. de & Eurides A. 2010. Etiologia da mastite bovina subclínica, sensibilidade dos agentes às drogas antimicrobianas e detecção do gene da β - lactamase em *Staphylococcus aureus* agentes à estas drogas. *Veterinária e Zootecnia* 17 (4): 568–76.
- Federação de Agricultura do Estado de Minas Gerais - FAEMG. Diagnóstico da pecuária leiteira do estado de Minas Gerais em 2005: relatório de pesquisa. Belo Horizonte, 2006. 156p.
- Forsythe S. J. 2013. *Microbiologia Da Segurança Dos Alimentos*. 2nded. Nebraska: Artmed.
- IBGE. 2006. Censo Agropecuário 2006. Ibge. Censo Agropecuário 2006. Brasília.
- IBGE 2017. 2017. Estatística Da Produção Pecuária 2017. 1 (1). Brasília: 1–78.
- Jain B., Tewari A., Bhandari B.B. & Jhala M.K. 2012. Antibiotic resistance and virulence genes in *streptococcus agalactiae* isolated from cases of bovine subclinical mastitis. *Vet. Arhiv* 82 (5): 423–32.
- Krumperman P. H. 1983. Multiple antibiotic resistance indexing of *escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods . Multiple antibiotic resistance indexing of *escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied & Environmental Microbiology* 46 (1): 165–70.
- Langoni H., Pinto M.P., Domingues P.F. & Listoni F.J.P. 1991. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.43, n.6, p.507-515.
- Langoni H., Domingues P. F., Molero Filho J. R., & Baldini S.. 2001. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em búfalos. *Ars Veterinaria* 17 (3): 213–17.
- Lopes M. A., Demeu F. A., Abreu L. R. de & Franco Neto A.. 2011. Influência da contagem de células somáticas sobre o impacto economico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros. *Arquivos Do Instituto Biológico* 78 (4): 493–99.
- Lopes M. A., Demeu F. A. & Franco Neto A. 2012. Avaliação do impacto econômico da mastite. *Arquivos Do Instituto Biológico* 79: 477–83.
- Lopes Júnior J. E. F., Lange C. C., Brito M. A. V. P., Santos F. R., Silva M. A. S., Moraes L. C. D. de & Souza G. N. de. 2012. Relationship between total bacteria counts & somatic cell counts from mammary quarters infected by mastitis pathogens. *Ciência Rural* 42 (4): 691–96.
- Magalhães H. R., El Faro L., Cardoso V. L., Paz C. C. P. de, Cassoli L. D. & Machado P. F.. 2006. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça holandesa. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35 (2): 415–21.
- Medeiros M. 2015. Agentes causadores de mastite e resistência bacteriana. *Revet.* 2(1):45-60.
- More S. J. 2009. Global trends in milk quality : implications for the irish dairy industry. *Irish Veterinary Journal* 62: 5–14.
- Myllys V., Honkanen-Buzalski T., Huovinen P., Sandholm M. & Nurmi E. 1994. Association af changes in the bacterial ecology of bovine mastitis with changes in the use of milking machines & antibacterial drugs. *Acta Veterinaria Sc&inavica* 35 (4): 363–69.
- Nader Filho A., Ferreira L.M., Amaral L.A., Rossi Junior O.D. & Oliveira R.P. 2007. Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico por cepas de *staphylococcus aureus* isoladas na mastite bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia* 59
- NMC. 2000. Recommended Mastitis Control Pogram. Madison: National Mastitis Council.
- Novick R. P., Schlievert P. & Ruzin A. 2001. Pathogenicity and resistance Islands of *Staphylococci*. *Microbes & Infection* 3 (7): 585–94. doi:10.1016/S1286-4579(01)01414-9.
- Nunes S. F., Cavaco L. M. & Vilela C. L. 2007. Antimicrobial Susceptibility Traits of Subclinical Bovine Mastitis Pathogens in Portugal. *Revista Portuguesa de Ciencias Veterinarias* 102 (October): 275–80.
- OIE. 2010. Risk Assessment for antimicrobial resistance arising from the use of antimicrobials in animals. In *Terrestrial Animal Health Code*. World Organization for Animal Health, 1–6. Paris: Ibid. http://www.oie.int/eng/nor-mes/Mcode/en_sommaire.htm%3E.
- Oliveira E. F. de, Brito M. A. V., Lange C. C., Mendonça L. C. & Meurer I. R. 2013. Prevalência de patógenos

- contagiosos em rebanhos da associação dos criadores de gado holandês do estado de Minas Gerais, 2011-2012. *Veterinária e Zootecnia* 20 (1). Botucatu - SP: 265-68.
- Oliveira S. P. de. 2013. Principais Patógenos Isolados Nas Glândulas Mamárias Das Vacas Da Fazenda Experimental Da PUC Minas E Sua Correlação Com a Produção Diária de Leite E Contagem de Células Somáticas Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Betim, 39p.
- Oviedo-Boyso J., Valdez-Alarcón J. J., Cajero-Juárez M., Ochoa-Zarzosa 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.
- Peter C. M., Picoli T., Ponzilacqua B., Latosinski G., Zani J. L. & Fischer G. 2013. Contagem de *staphylococcus aureus* e *staphylococcus* spp. e sua relação com a contagem bacteriana total (CBT) em unidades de produção leiteiras de municípios da região sul do Rio Grande Do Sul. In V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite Do Cons Elho Brasileiro de Qualidade Do Leite – CBQL, 330-31. Botucatu - SP.
- Rajala-Schultz P. J., Torres A. H., DeGraves F. J., Gebreyes W. A. & Patchanee P. 2009. Antimicrobial resistance and genotypic characterization of coagulase-negative staphylococci over the dry period. *Veterinary Microbiology* 134 (1-2): 55-64.
- Reyher K.K., Haine D., Dohoo I.R. & Revie C.W. 2012. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—A Systematic Review & Meta-Analysis. *Journal of Dairy Science* 95 (11).
- Riedner S., Albuquerque A. J. D. & Badke M. R. T. 1987. Prevalência da mastite em Dois Tombos de Santa Maria-RS. *Revista Científica do Centro de Ciências Rurais*, v.17, p.261-273.
- Ribas N. P., Junior P. R., Andrade U. V. C., Valotto A., Jesus C. P. de & Almeida M. C. 2014. Escore de células somáticas e sua relação com os componentes do leite em amostras de tanque no estado do Paraná. *Archives of Veterinary Science* 19 (3): 14-23.
- Rodrigues L. G., Aquino M. H. C., Silva M. R., Mendonça L. C., Mendonça J. F. M., Souza G. N. & Rodrigues L. G. 2017. A time series analysis of bulk tank somatic cell counts of dairy herds located in Brazil and the United States. *Ciência Rural* 47 (4): 1-6.
- Ruegg P. L. 2012. New perspectives in udder health management. *veterinary clinics of north America - Food Animal Practice* 28 (2): 149-63.
- Santos C. D. M., Leal G. A. & Rossi D. A. 2006. Frequência e suscetibilidade a antibióticos de staphylococcus spp isolados de leite de vacas com mastites recorrentes de rebanhos da região de uberlândia – mg. *Vet. Not.* 12 (2): 83-88.
- Silva M. V. M. & Nogueira J. L. 2010. Mastite: controle e profilaxia no rebanho bovino. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária* 3 (15): 13.
- Silva J. R. 2015. Avaliação da virulência e susceptibilidade a antibióticos em streptococcus agalactiae isolados de mastite bovina de rebanhos brasileiros. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras. 120p.
- Souza F.N., Blagitz M.G., Batista C.F., Sucupira M.C.A. & Della Libera A.M.M.P. 2009. Tratamento e controle dos principais patógenos da mastite bovina. *Cadernos Técnicos de Veterinária E Zootecnia* (January): 1-26.
- Vargas D. P., Nörnberg J. L., Mello R. O., Sheibler R. B., Milani M. P. & Mello F. C. B. 2013. Correlações entre contagem bacteriana total e parâmetros de qualidade do leite. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária* 20 (4): 241-47.
- Wilson D. J., Gonzalez R. N. & Das H. H. 1997. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence & Effects on Somatic Cell Count & Milk Production. *Journal of Dairy Science* 80 (10).
- Zadoks R. N., Gonzalez R. N., Boor K. J. & Schukken Y. H. 2004. Mastitis-causing streptococci are important contributors to bacterial counts in raw bulk tank milk. *Journal of Food Protection* 67 (12): 2644-50.

Fatores de risco para contagens elevadas de células somáticas no leite do tanque em rebanhos de bovinos da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil: um estudo de caso-controle

Alan Andrade Mesquita², Geraldo Marcio da Costa^{*3}, Christiane M. B. M. da Rocha³, Mirian Silvia Braz³, Fabio R. P. Bruhn⁵

ABSTRACT.- Mesquita A. A., Costa G. M., Rocha C. M. B. M., Braz M. S., Bruhn F. R. P. **[Risk factors for high bulk milk somatic cell counts in dairy herds from Campos das Vertentes region, Minas Gerais State, Brazil: a case-control study]** Fatores de risco para contagens elevadas de células somáticas no leite do tanque em rebanhos de bovinos leiteiros da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais, Brasil: um estudo de caso-controle. *Pesquisa Veterinária Brasileira XXX*. Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras/MG. * Autor para correspondência: marciocostavet@gmail.com

High bulk milk somatic cell counts (BMSCC) are indicative of failures related to the control of mastitis in the herd, which compromises the quality of the milk and generates great losses for the producers and for the industry. A case-control study was carried out in dairy herds in the Campos das Vertentes region of Minas Gerais State, Brazil, in order to contribute to the knowledge of the risk factors involved with elevated BMSCC. The study involved 46 dairy herds, of which 30 were considered cases (CCSt \geq 700,000 cels/mL of milk) and 16 control farms (CCSt \leq 200,000 cels / mL of milk). Sixteen qualitative variables and four quantitative variables were analyzed. The results showed that the risk factors for BMSCC \geq 700,000 cels / mL of milk were the presence of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* pathogens in bulk milk, non-use of pre and post-dipping, non-use of disposable paper towel for drying of mammary glands, non-monitoring of mastitis by means of CMT or individual somatic cell counts (SCC), non-implementation of the milking line and therapy of dry cows and failures in hygiene of teats and udders before milking. Moderate correlations were also observed between elevation of BMSCC and counts of *S. aureus* and *S. agalactiae* in bulk milk, and moderate correlation between *S. aureus* counts and *S. agalactiae* counts. Failures with regard to the maintenance and use of milking equipment, including manual pressure application in milking assemblies, unregulated milking vacuum pressure, vacuum loss during milking, and maintenance failures of milking machine and bulk milk tank were also pointed out as important risk factors of BMSCC elevation. The results of this study provided subsidies for the elaboration of prevention and control programs for mastitis, allowing the adaptation of the BMSCC within the levels required by current legislation, enabling the improvement of raw material quality and greater gains for producers and industry.

INDEX TERMS: Somatic cell counts, Risk factors, Mastitis, Brazil., case-control study.

RESUMO

Altas contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) são indicativas de falhas relacionadas com o controle da mastite no rebanho, o que compromete a qualidade do leite e gera grandes perdas para os produtores e para a indústria. Visando identificar os fatores de risco envolvidos com a CCSt elevada, foi realizado um estudo de caso-controle em rebanhos bovinos leiteiros da região de Campos das Vertentes, em Minas Gerais. O estudo envolveu 46 propriedades, das quais 30 foram consideradas casos (CCSt \geq 700.000 cels/mL de leite) e 16 propriedades controles (CCSt \leq 200.000 cels/mL de leite). Foram analisadas 16 variáveis qualitativas e 4 variáveis quantitativas. Os resultados demonstraram que os fatores de risco para valores de CCSt \geq 700.000 cels/mL de leite foram a presença dos patógenos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, não utilização do pré e de pós-dipping, não utilização de papel toalha descartável para a secagem dos tetos, não monitoramento da mastite por meio do CMT ou CCS individual, não implementação da linha de ordenha e da terapia de vacas secas e falhas na higiene de tetos e de úbere antes da ordenha. Também se observou correlações moderadas entre elevação da CCSt e as contagens de *S. aureus* e *S. agalactiae* no leite do tanque, e correlação moderada entre contagem de *S. aureus* e contagem de *S. agalactiae*. Falhas com relação à manutenção e utilização dos equipamentos de ordenha, aplicação de pressão manual nos conjuntos da ordenha, pressão de vácuo da ordenha desregulada, perda de vácuo durante a ordenha e falhas de manutenção da ordenhadeira e do tanque de expansão foram também apontadas como fatores de risco para elevação da CCSt. Os resultados deste estudo possibilitaram identificar fatores de risco importantes para contagens elevadas de CCSt, fornecendo subsídios

para a elaboração de programas de prevenção e controle para a mastite e para a melhoria da qualidade do leite, gerando maiores ganhos para os produtores e para a indústria.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Contagem de células somáticas, Fatores de risco, Mastite, Brasil., Estudo caso-controle.

INTRODUÇÃO

Atualmente, verifica-se crescente preocupação dos consumidores quanto à qualidade, funcionalidade e aos riscos associados com os produtos adquiridos para a sua alimentação (Carvalho 2010). Essa tendência tem elevado o consumo de leite e derivados, tendo ocorrido um aumento de 42,6% na aquisição anual per capita desses produtos entre 2000 e 2015, perfazendo um total de 174 litros de produtos lácteos/ano consumidos por habitante no Brasil (IBGE 2016). O elevado valor nutricional do leite, devido à riqueza em proteínas, gorduras, carboidratos, vitaminas e sais minerais, têm contribuído para este aumento no consumo de lácteos (Ribeiro 2008).

Esta maior preocupação com a qualidade ocasionou mudanças na legislação, visando adequar à produção leiteira às exigências do mercado consumidor. Nesse sentido, foram criadas as Instruções Normativas IN51 (Brasil 2002), IN62 (Brasil 2011) e a IN7 (Brasil 2016), que regulamentam a produção e os parâmetros de qualidade do leite produzido no Brasil. A sua adoção fez com que ocorressem mudanças na forma de pagamento pelo leite adquirido pelos laticínios, sendo introduzidas bonificações para produtos com maiores porcentagens de constituintes nutricionais e índices superiores de qualidade, indicados principalmente por reduções na contagem bacteriana total (CBT) e na contagem de células somáticas do leite do tanque (CCSt) (Guerreiro et al., 2005).

O leite proveniente de rebanhos com valores elevados de CBT e CCSt resulta na produção de derivados de pior qualidade (Politis e Ng-Kwai-Hang 1988). Alterações na composição do leite decorrentes de infecções das glândulas mamárias, denominadas mastites, reduzem o valor nutricional dos produtos e criam problemas em seu processamento, podendo gerar produtos fora dos padrões de qualidade desejados. Valores elevados de CCSt também estão diretamente relacionados com a queda no rendimento da produção dos derivados lácteos (Santos e Fonseca 2006; Lopes et al. 2012). Além disso, o aumento na CBT decorrente da infecção intramamária (IIM) ocasionada por certos patógenos da mastite, tais como o *Streptococcus agalactiae*, diminui o prazo de validade do leite (Barbano e Santos 2006).

Entre os parâmetros de qualidade do leite, a CCSt é um ótimo indicativo da saúde da glândula mamária. Quando ocorre a infecção bacteriana e o processo inflamatório se instala, a contagem de células somáticas do leite (CCS) pode alcançar valores elevados devido ao aumento do número de leucócitos que migram para as glândulas mamárias para combater os agentes infecciosos (Dong et al. 2012). Nesse sentido, a realização de avaliações periódicas da CCS permite determinar a frequência média de mastite no rebanho (Machado et al. 2000).

Segundo o *National Mastitis Council* (NMC 1996) a prevalência da mastite no rebanho tem uma relação direta com a CCSt. Contagens de 200.000 cels/ml de leite apontam que, aproximadamente, 6% dos quartos mamários do rebanho estão infectados e, quando esta atinge 1.500.000 cels/ml de leite, é indicativo de que cerca de 48% dos quartos mamários do rebanho podem estar acometidos pela mastite.

A mastite é uma doença multifatorial, desta forma características específicas dos animais, assim como do ambiente onde ocorre a ordenha e dos procedimentos de manejo são considerados fatores de risco importantes para ocorrência da mesma (Omoro et al. 1996). Entre os primeiros podem ser citados o número de parições, o estágio da lactação, a produtividade individual (Souza 2005). Fatores de risco relacionados o manejo da ordenha, tais como a realização de ordenha manual ou mecânica, a não anti-sepsia de tetos antes e após os procedimentos, estão associados à ocorrência de IIM com valores elevados de CCSt (Brito et al. 1998).

De acordo com Cavazos (2003), o funcionamento inadequado dos equipamentos de ordenha, o não treinamento e a falta de motivação dos ordenhadores também estão associados com o aumento da CCSt. Para o controle e a prevenção de mastite, e conseqüentemente redução da CCSt, devem também ser feitos periodicamente testes microbiológicos laboratoriais para se avaliar os patógenos presentes e monitorar os índices de infecção do rebanho, auxiliando na adoção das alternativas de controle mais indicadas em conformidade com os agentes presentes nos rebanhos (NMC 2000).

No que se refere aos agentes causadores da mastite, embora dezenas de agentes possam estar envolvidos, *S. aureus*, *Streptococcus uberis*, *S. agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Escherichia coli* são os agentes são os mais comuns (Ranjan et al. 2006) e geralmente estão associados com quadros mais graves de mastite (Reyher et al. 2012). Segundo Keefe (2012), *S. agalactiae* e *S. aureus* são considerados principais patógenos de mastite por causa de seu grande impacto na produção e na qualidade do leite, principalmente na CCSt. O principal método de propagação para esses agentes patogênicos dentro do rebanho se dá pelas vacas infectadas, as quais atuam como reservatórios destes patógenos. De acordo com Brito et al. (1999), entre essas bactérias, denominadas patógenos

principais ou maiores, *S. aureus* e *S. agalactiae* são os agentes mais frequentemente isolados de casos de mastite, sendo responsáveis por aproximadamente 26% das infecções intramamárias em bovinos leiteiros, em Minas Gerais.

Considerando o aspecto multifatorial da mastite, o estudo dos fatores de risco para a doença é de grande importância, considerando que os fatores intervenientes na doença são muito dinâmicos e variam entre rebanhos. Uma das alternativas para a realização deste tipo de estudo são os Estudos de Caso Controle (ECC), que engloba avaliações epidemiológicas observacionais, longitudinais, retrospectivas e analíticas. O objetivo dos ECC é gerar hipóteses para investigações futuras para doenças cujos fatores de risco não são completamente conhecidos ou para estudos confirmatórios para testar hipóteses pré-estabelecidas através da investigação de fatores suspeitos (Rêgo 2010).

Apesar de haver diversos estudos focando aspectos relativos à CCSt e seu impacto na qualidade do leite e estudos relativos aos fatores de risco para a mastite em rebanhos bovinos leiteiros brasileiros (Vilela e Nogueira 2010; Costa et al. 2012; Mendonça et al. 2016), verifica-se uma carência de estudos recentes sobre os fatores de risco para o incremento da CCSt. Tais estudos podem auxiliar na adoção de políticas públicas para o controle da mastite e a melhoria da qualidade do leite, resultando em maior produtividade para os produtores, maior rendimento para a indústria láctea e maior segurança alimentar para o consumidor. Desta forma, visando contribuir com o conhecimento dos fatores que contribuem para a ocorrência da mastite nos rebanhos bovinos leiteiros da região de Campos das Vertentes/MG e a adoção de medidas mais efetivas para mitigar as elevadas CCSt verificadas em rebanhos desta região, foi realizado um estudo de caso-controle para o levantamento dos principais fatores de risco relacionados com a elevação da CCSt.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo caso-controle para testar a associação de variáveis biológicas e do manejo sanitário e de ordenha com a CCSt dos rebanhos. A CCSt foi considerada como a variável dependente. Assim para a realização do estudo, foram selecionadas, ao acaso, 46 propriedades produtoras de leite localizadas na bacia leiteira da região de Campos das Vertentes, em Minas Gerais. As propriedades analisadas totalizaram uma área aproximada 12.564 km² e possuíam aproximadamente 1600 animais no total (FAEMG 2006), sendo que 30 foram consideradas casos e as demais propriedades (16), como controles. As fazendas selecionadas como casos apresentaram CCSt \geq 700.000 cels/mL de leite, valores que indicam uma prevalência elevada de mastite no rebanho. As propriedades consideradas controles, por sua vez, apresentavam CCSt \leq 200.000 cels/mL de leite, indicando baixa prevalência da mastite e qualidade superior do leite.

Foram levantadas informações sobre os fatores de risco relacionados com escores elevados de CCSt, ou seja, as variáveis biológicas, do manejo sanitário e de ordenha. Também foram considerados fatores de risco a serem testados, a presença ou ausência dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* nas amostras de leite obtidas nos tanques de expansão destas propriedades.

Para as avaliações foram utilizados os resultados das três últimas análises de CCSt de cada propriedade, foram utilizados os dados de qualidade do leite fornecidos pelo laticínio que foram obtidos junto aos laboratórios integrantes de Rede Brasileira de Qualidade do Leite.

As variáveis independentes foram levantadas por aplicação de um questionário e observação *in loco* por meio de visita técnica às propriedades. Todos os dados foram obtidos por uma equipe treinada, constituída pelos técnicos assistencialistas do laticínio que recebe o leite das propriedades estudadas. Os critérios de decisão para a escolha das variáveis testadas foram aqueles que ofereciam explicação biológica coerente para o aumento da CCSt.

Na entrevista, foram levantadas as seguintes variáveis independentes: uso do teste de *Tamis* ou também conhecido como teste de caneca de fundo preto; realização do pré-*dipping* e do pós-*dipping*; secagem dos tetos com papel toalha descartável após o pré-*dipping*; realização mensal do *California Mastitis Test* (CMT); a utilização de linha de ordenha para animais identificados com mastite clínica e subclínica; a adoção de terapia de vacas secas e tratamento de casos clínicos. Além disso, foi avaliado se as propriedades possuíam vacas com problemas de hiperqueratose; se o escore corporal de todos os animais indicava boa nutrição do rebanho e se havia animais com estresse térmico em algum momento da ordenha.

Em relação à ordenha foram avaliados: a limpeza dos tetos e do úbere antes da ordenha; o emprego de pressão manual durante a ordenha; a ocorrência de entradas de ar nos conjuntos de ordenha durante a ordenha; a pressão de vácuo da ordenhadeira em conformidade com o recomendado pelo fabricante; a realização de manutenções periódicas e regulagens nas ordenhadeiras e tanques de expansão e a limpeza automática da ordenhadeira e de tanques de expansão. Também foi verificado se a duração do período de ordenha era superior a 2 horas e 30 minutos após a chegada dos animais na sala de espera e se a rotina de ordenha era tranquila, sem presença de cães ou algum tipo de estresse aos animais.

Para avaliar qualitativa e quantitativamente a presença de *S. aureus* e/ou de *S. agalactiae*, amostras de aproximadamente 40 mL de leite foram coletadas diretamente no tanque de expansão nas propriedades estudadas e submetidas a análises microbiológicas, utilizando-se meios seletivo-indicadores para a identificação destes patógenos. Para o *S. aureus*, foi utilizado Ágar *Baird-Parker* modificado, e para *S. agalactiae* foi empregado Ágar *Edwards* modificado enriquecido com 5% de sangue ovino. Após a identificação da presença dos patógenos nas propriedades, estimou-se a concentração dos mesmos em UFC/mL de leite, através do cultivo de diluições seriadas das amostras positivas nos meios seletivos empregados. As colônias sugestivas dos agentes de interesse foram submetidas a testes confirmatórios, de acordo com Chair et al. (2004).

Foram realizadas análises descritivas de todas as variáveis levantadas. Para variáveis quantitativas, foi feito o teste de normalidade dos dados de *Kolmogorov-Smirnov*. Testes não paramétricos foram utilizados, incluindo o Coeficiente de *Spearman* para testar as correlações e Teste *Mann-Whitney* para comparações de médias ranqueadas, considerando nível de significância de 5%.

Para testar as associações, análises univariadas foram realizadas por meio do teste de Qui-quadrado de *Pearson*, com nível de significância de 5%. Em etapa seguinte, foram calculadas as razões de chances (*Odds Ratio*), com intervalo de confiança de 95%.

Para realizar os testes de correlações entre as variáveis quantitativas CCSt, produção diária de leite, contagem de *S. aureus* e contagem de *S. agalactiae*, empregou-se o teste não paramétrico de *Spearman's*, com níveis de significância de 1% e 5%.

As análises estatísticas foram realizadas no software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, Chicago, EUA) versão 20.0 para Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as propriedades-caso (CCSt ≥ 700.000 cels/mL), 80% apresentavam o patógeno *S. agalactiae* e 76,6% a presença do *S. aureus*, enquanto que nas propriedades-controle (CCSt ≤ 200.000 cel./mL) somente 18,75% foram positivas para *S. aureus* e 50% foram positivas para *S. agalactiae*. Os resultados demonstraram que presença destes patógenos no rebanho é um fator de risco de grande importância para o aumento da CCSt (Tabela 1). A presença do patógeno *S. aureus* aumentou em cerca de 14 vezes o risco de ter uma CCSt acima de 700.000 cels/mL de leite ($p=0,00$), enquanto que a presença do patógeno *S. agalactiae* aumentou esse risco em quatro vezes ($p=0,035$).

A presença de *S. aureus* e/ou de *S. agalactiae* tem uma estreita associação com a elevação da CCSt do rebanho, devido a sua natureza contagiosa e por causarem predominante mastites subclínicas, impactando negativamente a qualidade do leite (Jayarao et al. 2004; Keefe 2012). Segundo Philpot e Nickerson (2002) a elevação da CCSt se deve ao incremento das infecções intramamárias, sobretudo das mastites subclínicas, que ocorre na presença destes patógenos.

A mastite, devido ao processo inflamatório, desencadeia a liberação de citocinas pro-inflamatórias que induzem a passagem de leucócitos do sangue para o interior da glândula, ocasionando com isso o aumento da CCS individual e conseqüente aumento da CCSt. Devido às lesões no tecido mamário, às células secretoras podem se tornar menos eficientes, isto é, com menor capacidade de produzir e secretar o leite (Brito e Brito, 2001).

A maioria das variáveis estudadas foram confirmadas como fatores de risco para CCSt acima de 700.000 cels/mL de leite (Tabela 1). Tal fato pode ser observado para as variáveis *pré-dipping* (OR= 0,163; $p=0,026$), secagem dos tetos com papel toalha descartável (OR=0,061 e $p=0,001$) e *pós-dipping* (OR= 0,071; $p=0,001$). A implantação destas práticas reduziu o risco em ter elevadas CCSt, indicando que são fatores protetivos. Na não utilização de *pré-dipping*, secagem dos tetos com papel descartável e *pós-dipping* aumentaram o risco de altas CCSt em 6,1, 16,4 e 14,08 vezes, respectivamente.

Apenas as variáveis tratamento de vacas com mastite clínica, realização do teste da caneca de fundo escuro (Teste Tamis) e limpeza automática de ordenha, não foram correlacionados com os escores de CCSt, sugerindo que a utilização destas medidas não reflete na CCSt (Tabela 1 e 2). Os procedimentos de limpeza e sanificação dos equipamentos de ordenha tem impacto mais marcante na contagem bacteriana total (CBT) em relação à CCSt, embora possam propiciar novas IIM e conseqüentemente aumento da CCSt quando existem falhas crônicas neste quesito.

Souza et al. (2005) observaram características do rebanho e práticas de manejo associadas à elevadas CCSt, em 175 rebanhos leiteiros, localizados na Zona da Mata de Minas Gerais, verificando que a realização do Teste Tamis não foi correlacionada com a CCSt, resultado este corroborado pelo presente estudo. Este mesmo autor observou também que os fatores associados à alta CCSt foram a não adoção de linha de ordenha e a não realização de *pré* e *pós-dipping*, em concordância com os nossos resultados.

Os fatores de risco para a mastite foram estudados por Mendonça et al. (2016) em 186 rebanhos com CCSt superior a 400.000 células/mL, localizados da Zona da Mata, Minas Gerais. Os resultados apontaram que os

principais fatores de risco para alta CCSt nos rebanhos foram relacionados ao manejo inadequado: não realizar o Teste de Tamis, alimentar as vacas antes e durante a ordenha e não realizar pós-dipping.

Nosso estudo apontou que a variável realização do Teste Tamis não foi associada com a CCSt, entretanto, o que se esperava era exatamente o contrário. A execução deste teste permite identificar os animais acometidos pela mastite clínica para o pronto tratamento e o descarte do leite dos mesmos que geralmente vai apresentar elevada CCS. Desta forma, era esperado que a execução do mesmo fosse um fator de proteção contra CCSt elevada. Na prática, entretanto, se observa que o teste muitas vezes é executado fora das recomendações e muitas vezes os animais positivos não recebem qualquer tratamento e nem o leite dos quartos acometidos pela mastite clínica é descartado. Tal fato, pode justificar os resultados aqui obtidos.

No presente estudo, a imersão dos tetos em solução desinfetante após a ordenha, pós-dipping, o tratamento de vacas secas e a segregação de animais no momento da ordenha, também conhecido como linha de ordenha, foram constatados como fatores de proteção para o incremento da CCSt em concordância com os trabalhos de Allore et al. (1998) e Berry e Hillerton (2002). Entretanto, diferente dos resultados obtidos por estes pesquisadores, o tratamento precoce de casos clínicos de mastite não foi observado como fator de risco. Isto pode ter ocorrido pelo fato que quase a totalidade das propriedades estudadas tinha esse manejo presente, tanto as propriedades com CCSt baixas quanto aquelas com altas CCSt, mas a frequência e a forma como esta medida era implementada não foram avaliadas.

Nas propriedades que realizavam o monitoramento da mastite por meio do CMT, terapia de vaca seca e a linha de ordenha foi observado efeito protetivo ($p < 0,05$), sendo que a não utilização destas práticas aumentou o risco de se ter CCSt acima de 700.000 cels/mL em 100, 10 e 8,4 vezes, respectivamente (Tabela 1).

Oliveira et al. (2012) realizaram o levantamento dos fatores de risco associados com a mastite bovina ($CCS > 200.000$ cels/mL) em 21 propriedades da microrregião de Garanhuns, Pernambuco, observando que os fatores de risco associados à enfermidade foram a não utilização da terapia da vaca seca, não utilização da secagem dos tetos com papel toalha e não aplicação do pré-dipping, resultados estes que corroboraram os obtidos o presente estudo.

Nossos resultados demonstram que a deficiência na adoção de procedimentos que visem ao controle e à prevenção da mastite nos rebanhos, exceção para Teste Tamis e tratamento de casos clínicos, contribuem para o incremento da CCSt e a manutenção da mastite nos rebanhos estudados.

Segundo Lopes et al. (2011) CCSt elevada pode determinar perdas econômicas diretas ao produtor, já que grande parte dos laticínios já adota o sistema de pagamento por qualidade do leite, fato que tem influência direta no impacto econômico da mastite. Noutro estudo, Lopes et al. (2012) verificaram que as despesas com a prevenção da mastite representam um custo muito menor em relação às medidas curativas e às perdas produtivas ocorridas pela CCSt elevada, o que demonstra vantagens em se investir nas boas práticas de manejo de ordenha, o que irá contribuir significativamente para diminuição da CCSt e, conseqüentemente, para reduzir o impacto econômico da mastite.

Nossos resultados demonstraram que todas variáveis estudadas relacionadas aos equipamentos foram confirmadas como fatores de risco para CCSt acima de 700.000 (Tabela 2). Para a variável manutenção da ordenhadeira e do tanque de resfriamento do leite, foi observada uma associação completa, ou seja, todos os produtores que tinham algum tipo de falha na manutenção ou regulagem da ordenhadeira e/ou no tanque de resfriamento do leite tinham uma CCSt ≥ 700.000 , e todos os produtores que não apresentavam nenhum problema com estes equipamentos tinham a CCSt ≤ 200.000 ($p = 0,000$), demonstrando que estas variáveis tem forte associação com a CCSt.

Tabelas 1 – Variáveis relacionadas com o manejo sanitário associadas com valores de contagens de células somáticas no leite do tanque ($CCSt \geq 700.000$ cels/mL)

Variáveis	Categorias	Rebanhos		Valor p*	Odds Ratio (IC 95%)
		Casos	Controles		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	7	13	0,000	14,23 (3,13-64,70)
	Presente	23	3		
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Ausente	6	8	0,035	4,00 (1,06 - 15,07)
	Presente	24	8		
Teste de Tamis	Realiza	16	4	0,117	-
	Não realiza	14	12		

Continua...

Tabelas 1 – Variáveis relacionadas com o manejo sanitário associadas com valores de contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) \geq 700.000 cels/mL

Variáveis	Categorias	Rebanhos		Valor p*	Odds Ratio (IC 95%)
		Casos	Controles		
Pré-dipping	Realiza	16	14	0,026	0,163 (0,03-0,084)
	Não realiza	14	2		
Secagem dos tetos com papel toalha descartável	Realiza	9	14	0,001	0,061 (0,01-0,32)
	Não realiza	21	2		
Pós-dipping	Realiza	10	14	0,001	0,071 (0,01-0,37)
	Não realiza	20	2		
CMT	Realiza	5	17	0,000	0,01 (0,00-0,10)
	Não realiza	27	1		
Linha de ordenha	Realiza	2	6	0,015	0,119 (0,02- 0,68)
	Não realiza	28	10		
Terapia de vaca seca	Realiza	20	17	0,012	0,10 (0,01-0,83)
	Não realiza	12	1		
Tratamento de casos clínicos	Realiza	27	17	0,290	-
	Não realiza	5	1		
Higiene dos tetos antes da ordenha	Boa	14	17	0,000	0,05 (0,01-0,39)
	ruim	18	1		

*Valores de $p \leq 0,05$ foram significativas através do teste do χ^2 de Pearson (95%).

As variáveis que estão relacionadas aos equipamentos como pressão no conjunto de ordenhas e perda de vácuo durante a ordenha foram observadas também como fatores de risco. A presença destas variáveis nas propriedades ocasionou aumento nos riscos de CCSt \geq 700.000 cels/mL em 8,90 e 6,65, respectivamente (Tabela 2).

Coentrão et al. (2008) estudaram os fatores de risco para mastite subclínica (CCS > 200.000 cels/mL de leite) em 2.657 vacas, de 24 rebanhos de Minas Gerais, entre os períodos de novembro de 2005 e junho de 2006, observando que os principais fatores de risco para mastite subclínica foram relacionados com as rachaduras ou fissuras nas partes de borracha do equipamento de ordenha, inadequação das teteiras, deficiência na manutenção dos pulsadores, falta de treinamento dos ordenadores e a não utilização de diagnóstico microbiológico para mastite. Grande parte dos fatores de risco apontados por estes pesquisadores está relacionada ao funcionamento inadequado e à falta de manutenção da ordenhadeira, corroborando os resultados do nosso trabalho.

O equipamento de ordenha desregulado ou com defeito, a falta de treinamento dos funcionários e a não realização de procedimentos recomendados em programas de controle e prevenção da mastite foram os fatores de risco encontrados por Brito et al. (2002) e Cavazos (2003) para CCS elevadas, sendo que essas variáveis interagem e influenciam na frequência do aumento da CCSt do rebanho e, conseqüentemente, na presença da mastite.

Tabelas 2 – Variáveis relacionadas aos equipamentos de ordenha associadas com valores de contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) \geq 700.000 cels/mL

Variáveis	Categorias	Rebanhos		Valor p*	Odds Ratio (IC 95%)
		Casos	Controles		
Limpeza automática da ordenha	Possui	18	6	0,217	-
	Não possui	12	10		
Pressão nos conjuntos da ordenha	Realiza	11	1	0,021	8,90 (1,05-76,04)
	Não realiza	21	17		
Pressão de vácuo da ordenha	Normal	22	17	0,036	0,13 (0,02-1,11)
	Desregulado	10	1		
Perda de vácuo durante a ordenha	Sim	9	1	0,055	6,65 (0,77-57,63)
	Não	23	17		
Manutenção ordenhadeira e tanque de expansão	Bom	0	16	0,000	Indefinido
	Ruim	30	0		

*Valores de $p \leq 0,05$ foram significativas através do teste do χ^2 de Pearson (95%).

Quanto às variáveis quantitativas, foi observada correlação entre as CCSt e concentração dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* no leite (Tabela 3), desta forma, não somente a presença dos mesmos é um fator de risco para elevadas CCSt (Tabela 1), mas também suas concentrações no leite do tanque, decorrente a severidade e da frequência das IIM ocasionadas por estes patógenos. O aumento das contagens destes agentes no leite do tanque geralmente está associado com prevalências mais elevadas de mastites dos mesmos no rebanho, desta forma, o que se espera é que com o aumento da população destas bactérias no leite ocorra concomitante aumento nas CCSt.

Souza et al. (2009) avaliaram o efeito de patógenos da mastite sobre a CCS, em 3.987 amostras de leite, de 2.657 animais, oriundos de 24 rebanhos leiteiros localizados nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. Verificaram a CCS foram 264.000 cels/mL para amostras de leite sem crescimento bacteriano. Quando foi isolado *S. agalactiae*, a média de CCS foi 1.520.000 cels/mL de leite, sendo que em 50,0% das amostras a CCS foi \geq 23.000 cels/mL. Estes mesmos autores também observaram que a presença do *S. aureus* foi responsável pela segunda maior elevação da CCS, com média de 966.000 células/mL. Estes resultados corroboram os do presente estudo, demonstrando que estes patógenos quando presentes no rebanho tem grande impacto na CCSt.

Tabela 3 - Variáveis quantitativas associadas com valores de contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt) \geq 700.000 cels/mL

Variáveis	Controles ¹			Casos ²		
	Mediana	Q ₁ -Q ₃	Min-Máx	Mediana	Q ₁ -Q ₃	Min-Máx
CCSt (cels/mLx10 ³)	162,25	130,25-190,79	51-209	934,00	786,96-1118,21	707-1573
Produção diária de leite (L)	224,50	139,50-323,00	52-3673	290,58	168,98-566,75	59-1736
Contagem de <i>S. aureus</i> (UFC/mL)	0	0,00-0,00	0-1400	110,00	9,00-1325,00	0-83000
Contagem de <i>S. agalactiae</i> (UFC/mL)	525	0,00-2380,00	0-3800	3650	52,75-25250,00	0-166000

1 – Propriedades com CCSt abaixo de 200.000 cels/mL de leite; 2-Propriedades com CCSt acima de 700.000 cels/mL de leite.

Tabela 4 – Correlações contagens de células somáticas no leite do tanque (CCSt), produção diária de leite, contagem de *Staphylococcus aureus* e contagem de *Streptococcus agalactiae*

Variáveis	CCSt	Produção diária de leite	Contagem de <i>S. aureus</i>	Contagem de <i>S. agalactiae</i>
CCSt	1,000	0,194	0,400¹	0,320²
Produção diária de leite	0,194	1,000	0,110	-0,075
Contagem de <i>S. aureus</i>	0,400²	0,110	1,000	0,406¹
Contagem de <i>S. agalactiae</i>	0,320¹	-0,075	0,406¹	1,000

1- Correlação de Spearman com nível de significância de 0,01; 2- Correlação com nível de significância de 0,05.

Os resultados para correlação entre produção diária de leite e contagem de *S. aureus* ($p=0,467$) e entre produção diária de leite e contagem de *S. agalactiae* ($p=0,627$) não foram significativos, demonstrando que a produção diária das fazendas não influencia nas concentrações destes patógenos no leite (Tabela 4). No entanto, observaram-se correlações moderadas entre CCSt e contagem de *S. aureus* ($p = 0,006$) e contagem de *S. agalactiae* ($p = 0,032$), indicando que quanto maior a concentração dos patógenos maior será a CCSt. Também foi observada uma correlação moderada ($p=0,006$) entre contagem de *S. aureus* e contagem de *S. agalactiae* ($p=0,06$), demonstrando que quando presentes conjuntamente suas concentrações são influenciadas entre si.

Botaro et al. (2013) avaliaram a existência de correlação entre o número de UFC/mL de *S. aureus* e a CCS em amostras de leite de quartos mamários individuais, tendo verificado ausência de relação de dependência entre as variáveis ($p=0,1948$). Esta diferença em relação aos nossos resultados pode ser devido a diferenças nas amostras analisadas, uma vez que nosso estudo foi realizado em leite proveniente de tanques de expansão. Entretanto, outros estudos apontaram aumento na taxa de eliminação de *S. aureus* no leite de animais cronicamente afetados por *S. aureus* concomitantemente com o incremento da CCS (Sears et al. 1990; Shoshani et al. 2000).

Cortinhas (2013), estudando a relação entre CCS e contagem de patógenos da mastite em rebanhos do Estado de São Paulo, encontrou uma mediana para contagem de *S. aureus* e *S. agalactiae* de 180 e 300 UFC/mL, respectivamente, e média de 300 e 13.041 UFC/mL para *S. aureus* e *S. agalactiae*, apontando para uma baixa correlação positiva entre contagem de *S. aureus* com a CCS, e também moderada correlação positiva entre a contagem de *S. agalactiae* com a CCS ($r=0,49$). Estes resultados corroboram os obtidos em nosso estudo que também apontou correlação positiva entre a CCSt e a contagem destes patógenos no leite.

Djabri et al. (2002) observaram que um único quarto mamário infectado com *S. aureus* e *S. agalactiae* resultou em 357.000 cels/mL e 857.000 cels/mL de leite, respectivamente, corroborando para a observação de que a presença destes dois patógenos tem correlação direta com a CCS. A presença destes patógenos, considerados patógenos maiores, também foram relacionados com incremento na CCS por Reis et al. (2011). A correlação entre concentração dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* com a CCSt demonstra este parâmetro pode ser indicativo da presença e da concentração destes patógenos no rebanho, podendo ser utilizado como indicativo da mastite subclínica, conforme relatado por Deb et al. (2013).

Os resultados do presente estudo apontaram que as práticas de prevenção e de controle da mastite relacionadas com o manejo de ordenha, manutenção de equipamentos de ordenha e de monitoramento da mastite tem estreita correlação com os níveis de CCSt no rebanho, justificando investimentos na implementação destas práticas, conforme observado por Lopes et al. (2011). Estes pesquisadores relataram que as despesas com prevenção da mastite, onde se incluem realização de cultura e antibiograma, monitoramento da CCSt e CCS individual, realização *pré-dipping* e *pós-dipping*, vacinação, tratamento de vacas secas e manutenção de ordenhadeira representaram, no máximo, 10,8% do impacto econômico associado com a CCSt elevada no rebanho, salientando o retorno econômico decorrente da implantação destas medidas que irão contribuir significativamente para diminuição da CCSt e a melhoria da qualidade do leite.

Os resultados deste estudo servirão para fornecer subsídios para a elaboração de estratégias para a resolução dos problemas sanitários que influenciam na CCSt, principal a mastite, melhorando a produtividade dos rebanhos envolvidos, e não menos importante, a qualidade da matéria-prima e, com isso, gerar maior lucratividade aos produtores e para a indústria.

CONCLUSÃO

Os resultados do experimento permitem concluir que a presença e a concentração dos patógenos *S. aureus* e *S. agalactiae* são fatores de risco relevantes para CCSt ≥ 700.000 cels/mL de leite.

Também se observou correlações moderadas entre CCSt e contagem de *S. aureus* e contagem de *S. agalactiae*, resultando que quanto maior a concentração dos patógenos maior será a CCSt, e correlação moderada entre contagem de *S. aureus* e contagem de *S. agalactiae*, demonstrando que quando presentes conjuntamente suas concentrações são influenciadas entre si.

A não utilização das medidas clássicas de controle e de prevenção da mastite relacionadas ao manejo e higiene de ordenha, *pré* e *pós-dipping*, utilização de papel toalha descartável para a secagem dos tetos, monitoramento do rebanho por meio do CMT, implementação da linha de ordenha, terapia de vacas secas e falhas com relação à higiene de tetos e de úbere, foi apontada como fatores de risco relevantes para CCSt \geq 700.000 cels/mL de leite.

Entre as variáveis relacionadas aos equipamentos foram apontadas como fatores de risco para CCSt \geq 700.000 cels/mL de leite: realizar pressão nos conjuntos da ordenha, pressão de vácuo da ordenha desregulada, perda de vácuo durante a ordenha e falhas na manutenção da ordenhadeira e tanque de expansão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allore H.G., Erb H. N., Schruben L. W. & Oltenacu P. A. 1998. A simulation of strategies to lower bulk tank somatic cell count below 500,000 per milliliter. *J. Dairy Sci.* 81 (3): 694–702.
- Barbano D.M., Ma Y. & Santos M.V. 2006. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. *Journal of Dairy Science* 89 (March):15–19.
- Berry E.A. & Hillerton J.E. 2002. The effect of selective dry treatment on new intramammary infections. *Journal of Dairy Science* 85 (1):112–21.
- Botaro B. G., Cortinhas C. S., Março L. V., Moreno J. F. G., Silva L. F. P., Benites N. R. & Santos M. V. 2013. Detection & enumeration of staphylococcus aureus from bovine milk samples by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Dairy Science* 96 (11): 6955–6964.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, tipo B, Tipo C e Cru refrigerado. *Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, p.13, 29 set. 2002.*
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62 de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. *Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, 30 dez. 2011.*
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 07 de 03 de maio de 2016. Dispõe sobre alterações no regulamento técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. *Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, 84 maio. 2016.*
- Brito J.R.F., Brito M.A.V.P., Arcuri E.F. 2002. Como (re) conhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 8p. (Circular Técnica 70).
- Brito M.A.V.P., Brito J.R.F., Silva M.A.S., & Carmo R.A.. 2001. Concentração mínima inibitória de dez antibióticos para amostras de *staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia* 53 (5): 531–37.
- Brito M. Aparecida V. P., Brito J. R. F., Maria H. & Souza. 1998. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina 1 18 (1): 39–44.
- Brito, M. A. V, Brito J.R, Ribeiro M.T., & Veiga V.M.O.. 1999. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arq. Bras. Med. Vet.* 51 (2): 129–35.
- Carvalho G. R. 2010. A indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro. 102. *Circular Técnica. Juiz de Fora.*
- Cavazos G. F. 2003. Useful ideas & principles for the implementation of reinforcement programs to keep milkers motivated. In *Proc. Natl. Mastitis Counc., Fort Worth, 23–37. Madison: Natl. Mastitis Counc. Inc.*
- Chair S.P.O. 2004. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection & determination of milk quality. In: *NMC - National Mastitis Council. 4 ed. Verona – USA. 46p.*
- Coentrão C. M., Souza G. N., Brito J. R. F., Paiva M. A. V. E. & Lilenbaum W. 2008. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria E Zootecnia* 60 (2): 283–88.
- Cortinhas C. S. 2013. Qualidade do leite cru e práticas de manejo em fazendas leiteiras. Tese de doutorado em Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, Pirassununga. 127p.
- Costa G. M., Paiva L. V., Figueiredo H. C. P., Figueira A. R., Pereira U. P. & Silva N. 2012. Population diversity of *staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in brazilian dairy herds. *Research in Veterinary Science* 93 (2): 733–35.
- Costa G. M. da. 2008. Mastite bovina em rebanhos leiteiros da região sul do estado de Minas Gerais. Tese de doutorado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 123p.
- Deb R., Kumar A., Chakraborty S., Verma A. K., Tiwari R., Dhama K., Singh U. & Kumar S. 2013. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: A Review. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 16 (23): 1653–61.

- Djabri B., Bareille N., Beaudeau F. & Seegers H. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: A Meta-Analysis. *Veterinary Research* 33 (4): 335–57.
- Dong F., Hennessy D.A. & Jensen H.H. 2012. Factors determining milk quality & implications for production structure under somatic cell count standard modification. *Journal of Dairy Science* 95 (11): 6421–35.
- Federação de Agricultura do Estado de Minas Gerais - FAEMG. 2006. Diagnóstico da pecuária leiteira do estado de Minas Gerais em 2005: relatório de pesquisa. Belo Horizonte 156p.
- Fonseca L. & Santos M. 2006. Qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo: Lemos Editorial.
- Guerreiro P. K., Machado M. R. F., Braga G. C., Gasparino E. & Franzener A. S. M. 2005. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. *Ciência e Agrotecnologia* 29 (1): 216–22.
- IBGE. 2006. Censo Agropecuário 2006. Ibge. Censo Agropecuário 2006. Brasília.
- IBGE 2017. 2017. Estatística Da Produção Pecuária 2017. 1 (1). Brasília: 1–78.
- Jayarao B.M., Pillai S.R., Sawant A. A., Wolfgang D.R. & Hegde N.V. 2004. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *Journal of Dairy Science* 87 (10): 3561–73.
- Keefe G. 2012. Update on control of *staphylococcus aureus* and *streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 28 (2): 203–16.
- Lopes M. A., Demeu F. A., Abreu L. R. de & Franco Neto A. 2011. Influência da contagem de células somáticas sobre o impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros. *Arquivos Do Instituto Biológico* 78 (4): 493–99.
- Lopes M. A., Demeu F. A. & Franco Neto A. 2012. Avaliação do impacto econômico da mastite. *Arquivos Do Instituto Biológico* 79: 477–83.
- Machado P. F., Pereira A. R. & Sarríes G. A. 2000. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Rev. Bras. Zootec.* 29 (6): 1883–86.
- Mendonça J. F. M., Brito M. A. V. P., Mendonça L. C., Souza, G. N. Lange C. C., Brito J. R. F. & Monteiro D. L. 2016. Fatores de risco para mastite subclínica em rebanhos leiteiros localizados na região de Santos Dumont, estado de Minas Gerais, Brasil. *Revista de Educação Continuada Em Medicina Veterinária E Zootecnia Do CRMV-SP* 14 (3): 71.
- NMC. 1996. Current Concepts of Bovine Mastitis. In *Current Concepts of Bovine Mastitis*, Madison. p64.
- NMC. 2000. Recommended Mastitis Control Program. Madison: National Mastitis Council.
- Oliveira J.M.B., Vanderlei D.R., Moraes W.S., Brandespim D.F., Mota R.A., Oliveira A.A.F., Medeiros E.S. & Pinheiro Júnior J.W. 2012. Fatores de risco associados à mastite bovina na Microrregião Garanhuns, Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32(5):391-395.
- Omoro A.O., McDermott J.J., Arimi S.M., Kyule M.N. & Ouma D. 1996. A longitudinal study of milk somatic cell counts and bacterial culture from cows on smallholder dairy farms in Kiambu District, Kenya. *Prev. Vet. Med.* 29:77-89.
- Philpot W. N. & Nickerson S. 2002. Vencendo a luta contra a mastite. São Paulo: Westfalia Landtechnik do Brasil Ltda.
- Politis I. & Ng-Kwai-Hang K.F. 1988. Effects of somatic cell count & milk composition on cheese composition & cheese making efficiency. *Journal of Dairy Science* 71 (7): 1711–19.
- Ranjan R., Swarup D., Patra, Nandi R.C.D. 2006. Bovine protothecal mastitis: a review. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Sciences, Nutrition & Natural Resources*, v.1, n.17, p.1-7.
- Rêgo M. A. V. 2010. Case-Control Studies: A Brief Review. *Gaz. Méd. Bahia* 80:1: 101–10.
- Reis C.B.M., Barreiro J.R., Moreno J.F.G., Porcionato M.A.F. & Santos M.V. 2011. Evaluation of somatic cell count thresholds to detect subclinical mastitis in gyr cows. *Journal of Dairy Science* 94 (9): 4406–12.
- Reyher K.K., Haine D., Dohoo I.R. & Revie C.W. 2012. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—A Systematic Review & Meta-Analysis. *Journal of Dairy Science* 95 (11): 6483–6502.
- Ribeiro M G. 2008. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia. In *Manual de Terapêutica Veterinária*, edited by S. F. Andrade, Roca, 936. São Paulo: 3.
- Sears P.M., Smith B.S., English P.B., Herer P.S. & Gonzalez R.N. 1990. Shedding pattern of *staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *Journal of Dairy Science* 73 (10): 2785–89.
- Santos M. V. & Fonseca L. F. L. 2007. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. Barueri: Manole, 150p.
- Shoshani E., Leitner G., Hanochi B., Saran A., Shpigel N. Y. & Berman A. 2000. Mammary infection with *staphylococcus aureus* in cows: progress from inoculation to chronic infection and its detection. *Journal of Dairy Research* 67 (2): 155–69.
- Souza G. N., Brito J. R. F., Moreira E. C., Brito M. A. V. P. & Bastos R. R. 2005. Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiros da Zona Da Mata de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia* 57 (SUPPL. 2): 251–60.
- Souza G. N., Brito J. R. F., Moreira E. C., Brito M. A. V. P. & Silva M. V. G. B. 2009. Variação da contagem de células

somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia* 61 (5): 1015–20.

Souza G. N. de. 2005. Fatores de Risco Para Mastite Bovina. Tese de doutorado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 87p.

Vilela P. S & Nogueira A. E. C. 2010. Perfil do produtor de leite nas mesorregiões da Zona da Mata e Campo das Vertentes de Minas Gerais. Polo de Excelência de Leite e derivados de Minas Gerais; Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. Livro técnico. Belo Horizonte. 112p.