

I SIMPÓSIO DE QUALIDADE DO LEITE E DERIVADOS
16 a 19 de Agosto 2010, UFRRJ.

Mastite e Instrução Normativa 51

Guilherme Nunes de Souza

¹ Pesquisador da Embrapa Gado de Leite - Grupo de Saúde Animal e Qualidade do Leite - endereço eletrônico do autor: gnsouza@cnpql.embrapa.br

Introdução

Entre os indicadores de qualidade do leite estabelecidos na Instrução Normativa 51 (IN 51) (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 2002) podemos citar a contagem de células somáticas (CCS). A CCS é reconhecida como indicador de qualidade higiênico sanitário do leite cru, sendo utilizados para avaliar a saúde da glândula mamária. Dados da RBQL tem mostrado que desde o início da vigência da IN51 o percentual de amostras de leite que não atendem os limites de CCS não sofreram alterações significativas (MESQUITA et al., 2006; BARBOSA et al., 2008).

A redução da CCS passa necessariamente pela adoção de um programa de controle e prevenção da mastite. Para que a adoção de estratégias que promovam a redução da CCS e conseqüentemente a melhoria da qualidade do leite na fazenda, é necessário entender diferenças entre os patógenos da mastite. Entre os patógenos causadores de mastite, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* possuem posição de destaque e o isolamento e importância desses agentes em rebanhos bovinos leiteiros no Brasil tem sido relatado por diversos autores (COSTA et al., 1995; BRITO et al., 1999; FAGUNDES e OLIVEIRA, 2004; NADER FILHO et al., 2007).

O objetivo do texto é apresentar aspectos relacionados a importância econômica da mastite, CCS, epidemiologia e medidas de controle e prevenção da mastite que devem ser levados em consideração com objetivo de atender os limites estabelecidos na IN 51 para CCS.

Importância econômica

Entre as doenças do rebanho leiteiro, pode-se considerar que a mastite é responsável pelo maior impacto econômico. Estima-se que no Reino Unido, para um rebanho de 2,5

milhões de vacas e taxa de mastite clínica de 37,5 casos/100 vacas-ano, as infecções intramamárias induzem a ocorrência de um caso de mastite clínica a cada 34 segundos (LEIGH, 1999). O custo médio para cada caso de mastite clínica no Reino Unido foi estimado em 175 libras (KOSSAIBATI, 2000). Neste estudo, estimou-se uma perda de 168 milhões de libras por ano relacionado aos casos de mastite clínica. Em estudo mais recente realizado por BRADLEY e GREEN (2001), a taxa de mortalidade anual como consequência da mastite foi de 0,6% das vacas em lactação. No Brasil não há informações sobre a incidência de casos clínicos de mastite para se estimar economicamente a perda anual, mas VARGAS et al. (2004), mostraram que o custo de um caso de mastite clínica em novilhas foi de R\$ 353,94. O cálculo foi baseado no custo dos medicamentos e o descarte do leite considerando o período de carência recomendado pelo laboratório.

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

Contagem de células somáticas

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

Desde sua introdução no final dos anos sessenta e início dos anos oitenta, a CCS de vacas tem sido usada amplamente na América do Norte como ferramenta para monitorar os níveis de mastite em rebanhos leiteiros (DOHOO e LESLIE, 1991). O uso da CCS para monitorar a saúde do úbere tem provado ser uma ferramenta valiosa para prever vacas infectadas por *S. aureus* e *S. agalactiae* (KEHRLI, JR. e SHUSTER, 1994). Vários fatores podem influenciar a variação da CCS, sendo citados a ordem de parto, período de lactação, mês e estação do ano, entre outros, porém o estado de infecção é o principal fator responsável pela variação da CCS (HARMON, 1994). A CCS dos animais aumenta com o avanço da idade e período de lactação, porém vacas sem infecção intramamária apresentam pouca variação (HARMON, 1994). O efeito do período de lactação e ordem de parto sobre a CCS foi observado em estudos realizados por SCHEPERS et al. (1997) e LEAVENS et al. (1997). Porém, no estudo conduzido por SCHEPERS et al. (1997), a presença de patógenos primários (*S. aureus*, *S. dysgalactiae* e *S. uberis*) e secundários (*C. bovis* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo) foi significativa e predominante na variação da CCS de quartos mamários.

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

A mastite, e conseqüentemente a CCS, é reconhecida como uma doença fortemente relacionada ao manejo do rebanho (RENEAU, 1986) e que 90% dos casos de mastite é controlado com o manejo (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1996). Pensou-se que característica de rebanho seria a principal fonte de variação, mas existe uma grande variação de resposta entre os animais para características idênticas de manejo. Estudos têm

mostrado que a relativa importância do rebanho em explicar a variação da CCS é menor que a variação devido à vaca individualmente (KENNEDY et al., 1982, SCHEPERS et al., 1997, VECHE et al., 1989). SCHEPERS et al. (1997) mostraram que o componente de variação explicado por vacas individuais para a CCS é muito maior que o explicado para rebanho.

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

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

especificidade de quartos mamários infectados por patógenos primários (*S. aureus* e *S. agalactiae*), tendo como limite para CCS o valor de 200.000 células/ml.

Epidemiologia e classificação dos agentes da mastite

Dois padrões distintos são reconhecidos na epidemiologia da mastite (BRAMLEY e DODD, 1984; SCHUKKEN e KREMER, 1996; BRADLEY, 2002). O primeiro padrão é contagioso e a transmissão dos microrganismos de vaca para vaca é essencial para a propagação da doença. Este padrão envolve a transmissão da doença de um animal infectado para um susceptível e os principais patógenos envolvidos são *S. aureus*, *S. agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Mycoplasma bovis* e *Corynebacterium bovis* (BRAMLEY e DODD, 1984; ELVINGER e NATZKE, 1992). O segundo padrão é de caráter ambiental, sendo que microrganismos oportunistas e fatores relacionados ao ambiente e ao indivíduo colocam o animal em risco (SCHUKKEN e KREMER, 1996). Neste caso, há forte interação entre microrganismos, hospedeiro e meio ambiente. Este triângulo epidemiológico deve ser lembrado na solução de problemas no rebanho causados por patógenos ambientais da mastite. Os principais patógenos responsáveis por esse padrão são *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, fungos e leveduras (BRAMLEY e DODD, 1984; ELVINGER e NATZKE, 1992; LEIGH, 1999).

As bactérias responsáveis pela mastite podem ser classificadas também como patógenos principais e secundários (HARMON, 1994). Os patógenos principais mais comuns incluem o *S. aureus*, *S. agalactiae*, coliformes, estreptococos e enterococos de origem ambiental. Mastites causadas por estes patógenos resultam em grandes variações na composição do leite e na CCS (HARMON, 1994). *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *C. bovis* são considerados patógenos secundários. Infecções por estes microrganismos causam moderado processo inflamatório com CCS excedendo de duas a três vezes em relação as glândulas mamárias não infectadas (HARMON, 1994). As médias da CCS verificadas por Wilson et al. (1997) para *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *C. bovis* foram 170.000 e 150.000 células/ml, respectivamente.

WILSON et al. (1997) verificaram que a CCS para animais com isolamento de *S. aureus* e *S. agalactiae* foi 440.000 e 640.000 células/ml, respectivamente. Estudo realizado no Brasil mostrou que a infecção intramamária foi o fator predominante responsável pelo

aumento da CCS de vacas leiteiras e que microrganismos patogênicos da mastite causam efeito específico no aumento da CCS, sendo o *S. agalactiae* o responsável pelo maior aumento (SOUZA et al., 2009) (Tabela 1).

Tabela 1. Variação da contagem de células somáticas (x1.000/ml) de acordo com a presença de infecção intramamária e tipo de agente etiológico

FV	Categoria	N	MA	DP	MG	Mediana
Presença de infecção	Não	1137	264	611	22	24
	Sim	2612	779	1.070	228	342
Agente etiológico	STAPHA	790	966	1.072	371	509
	STRAG	551	1.520	1.559	662	923
	STREP	351	894	922	449	641
	STACN	466	422	633	125	205
	DIPT	826	410	561	94	166

FV : fonte de variação; MA : média aritmética; DP : desvio padrão; MG : média geométrica; STAPHA : *Staphylococcus aureus*; STRAG : *Streptococcus agalactiae*; STREP : *Streptococcus* sp. que não *S. agalactiae*; STACN : *Staphylococcus* sp. coagulase negativo; DIPT : *Corynebacterium* sp.

Fonte: SOUZA et al., 2009

Trabalho conduzido com rebanhos localizados região Sudeste do Brasil mostrou a variação da CCS do rebanho em função do percentual de vacas em lactação infectadas por *S. aureus* e *S. agalactiae*. A prevalência de vacas infectadas por *S. aureus* e *S. agalactiae* nos rebanhos variou de 3,0% a 69,0% e de 9,0% a 42,0%, respectivamente. Os rebanhos infectados por *S. agalactiae* também estavam por *S. aureus* e apresentaram CCS superior a 1.000.000 células/mL (Tabela 2). Rebanhos com animais infectados somente por *S. aureus* apresentaram uma prevalência entre 3,0% e 10,0% e a CCS do rebanho variou de 285.000 células/mL a 869.000 células/mL. Foi observado que em dois rebanhos a prevalência de vacas para infecção intramamária por *S. aureus* variou de 9,0% e 10,0% mas a CCS de 464.000 células/mL a 869.000 células/mL. A diferença de CCS entre rebanhos com prevalência de animais infectados por *S. aureus* provavelmente foi devido ao padrão cíclico de liberação de bactérias pela glândula mamária e CCS (HARMON, 1994). Com base no exposto, o controle e prevenção da mastite por *S. aureus* e *S. agalactiae* é fundamental para que os rebanhos brasileiros possam atender os limites de CCS estabelecidos na IN51 de 400.000 células/mL. Porém, estratégias diferenciadas devem ser utilizadas pois o controle e prevenção se aplica para ao *S. aureus* e o controle, prevenção e erradicação ao *S. agalactiae*.

Tabela 2 - Variação da contagem de células somáticas no leite de rebanhos de acordo com o percentual de vacas em lactação do rebanhos infectadas *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*

Rebanho	Vacas em lactação	<i>S. aureus</i> (%)	<i>S. agalactiae</i> (%)	CCS (células/ml)
1	48	0 (0,0)	0 (0,0)	86.000
2	50	0 (0,0)	0 (0,0)	149.000
3	36	1 (3,0)	0 (0,0)	285.000
4	33	3 (9,0)	0 (0,0)	464.000
5	59	6 (10,0)	0 (0,0)	869.000
6	35	7 (20,0)	3 (9,0)	1.071.000
7	50	23 (46,0)	19 (38,0)	1.310.000
8	62	36 (58,0)	30 (48,0)	1.592.000
9	86	59 (69,0)	36 (42,0)	3.112.000

Fonte: Embrapa Gado de Leite - Projeto 2000.213-01

Patógenos principais

Staphylococcus aureus

Na maioria dos países, *S. aureus* é a causa predominante de mastite subclínica e também é freqüentemente isolado de mastite clínica (BRAMLEY e DODD, 1984). Mastites causadas por *S. aureus* podem variar de forma hiper-aguda a subclínica, tendo a forma subclínica crônica com episódios clínicos como a mais observada (QUINN et al., 2002). Casos subclínicos crônicos de mastite causada por *S. aureus* promovem atrofia do alvéolo mamário, fibrose e micro-abscessos, o que limita a ação fagocítica de células e a ação de antibióticos, causando infecções profundas no tecido mamário, com episódios de liberação de bactérias dos quartos mamários infectados acompanhados de altas CCS (PYÖRÄLÄ, 1995; QUINN et al., 2002). Geralmente, os casos de mastite causada por *S. aureus* são subclínicos, crônicos e de longa duração, podendo persistir por semanas ou meses. O tratamento com antibiótico dos casos clínicos freqüentemente falha em eliminar o estado de infecção particularmente em vacas mais velhas e com histórico de episódios clínicos da doença (BRAMLEY e DODD, 1984; BRAMLEY, 1992).

A mais importante fonte de infecção para *S. aureus* dentro do rebanho são glândulas mamárias infectadas, duto do teto colonizado, tetos lesionados infectados, conjunto de teteiras do equipamento de ordenha, pano comum para secar animais e mãos do ordenhador, sendo o momento da ordenha o mais importante na transmissão de *S. aureus* entre vacas (BRAMLEY e DODD, 1984). SOMMERHÄUSER et al. (2003) mostraram que

alguns tipos de *S. aureus* possuíam pouca ou nenhuma tendência de disseminação entre quartos mamários. Fatores ambientais tais como procedimentos de desinfecção, reposição de camas e estado de higiene dos estábulos foram associados com o risco de mastite por *S. aureus* em rebanhos leiteiros (ELBERS et al. 1998). Identificação e eliminação de fontes de *S. aureus*, outras que quartos infectados, podem ser crucial para o sucesso de um programa de controle (ZADOCKS, 2002). Infecções intramamárias em vacas primíparas no início da lactação sugerem também que outras fontes que não as vacas em lactação podem servir como reservatórios de *S. aureus* no rebanho (MATTHEWS et al, 1992).

Streptococcus agalactiae

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

S. agalactiae localiza-se somente na glândula mamária, com sobrevivência restrita fora do úbere e, é altamente sensível à penicilina. Devido a estas características *S. agalactiae* tem sido erradicado de rebanhos e até mesmo de alguns países (KEEFE et al., 1997). Alguns países têm trabalhado em programas regionais ou nacionais com o objetivo de erradicar o *S. agalactiae* e sua presença no rebanho foi associada a penalidades relacionadas ao não atendimento dos limites mínimos para CCS do rebanho no Canadá, de outubro de 1992 a março de 1993 (KEEFE et al., 1997). *S. agalactiae* é disseminado principalmente no momento da ordenha e é uma bactéria altamente contagiosa (BRAMLEY e DODD, 1984; BARTLETT et al., 1992). Caso o *S. agalactiae* seja isolado de um rebanho, é recomendado a chamada *blitz* terapia, ou seja, todos os animais infectados

são tratados simultaneamente com o objetivo de eliminar o agente do rebanho (KEEFE, 1997; CRUZ et al. 2004). Quando um rebanho está infectado com *S. agalactiae*, geralmente há uma alta prevalência de animais infectados dentro do rebanho (KEEFE, 1997). Entre 1976 e 1982, estudo realizado nos Estados do Mississippi e Massachusetts, Estados Unidos, mostrou que a prevalência média de animais infectados por *S. agalactiae* dentro de rebanhos variou de 39,5 a 44,7% (KEEFE, 1997). De 48 rebanhos, 27 (56%) possuíam no mínimo uma vaca infectada por *S. agalactiae* no Estado de Ohio, Estados Unidos, onde a média de quartos e vacas infectadas foi de 4,1 e 10,0%, respectivamente (BARTLETT et al., 1992). Fatores associados à presença de *S. agalactiae* foram identificados como procedimentos inadequados para higiene do úbere e tetos antes da ordenha, falha na desinfecção dos tetos após a ordenha, seleção de animais para tratamento a secagem ou não realização de tratamento a secagem, limpeza inadequada do meio ambiente e uso de pano comum para limpeza dos tetos e úbere antes da ordenha (BRAMLEY e DODD, 1984; BARTLETT et al., 1992; KEEFE, 1997; SOUZA et al., 2006a; SOUZA et al., 2006b). Desinfecções dos tetos após a ordenha com solução de iodo foram relacionadas com redução de novas infecções intramamárias causadas por *S. agalactiae* (BODDIE e NICKERSON, 1997).

Devido a importância do *S. aureus* e *S. agalactiae* para a pecuária leiteira, foi definido pelos produtores e profissionais da área dos Estados Unidos a necessidade de realizar estudo de prevalência em nível de rebanho para estes agentes (USDA, 2007a). Os resultados do estudo mostraram que em 43,0% e 2,6% dos rebanhos haviam a presença de pelo menos uma vaca infectada por *S. aureus* e *S. agalactiae*, respectivamente. De acordo com dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, a média de CCS dos rebanhos bovinos variou de 296.000 a 262.000 células/mL no período de 2005 a 2008 (Tabela 3). Neste mesmo período, o percentual de rebanhos com média anual de CCS superior a 400.000 células/mL e 750.000 células/mL variou de 22,4% a 25,8% e de 3,4% a 4,7%, respectivamente. Estes percentuais de rebanhos com CCS superior a 400.000 células/mL e 750.000 células/mL pode ser considerado o reflexo da prevalência de *S. aureus* e *S. agalactiae* nos rebanhos norte-americanos (USDA, 2007b; UDDER, 2009).

Dados de rebanhos localizados na região Sudeste do Brasil mostram diferenças entre as médias anuais de CCS dos rebanhos e os percentuais de rebanhos com média anual

de CCS superior a 400.000 células/mL e 750.000 células/mL (Tabela 4). Estudo realizado por Brito et al. (1999) com 48 rebanhos localizados na Zona da Mata de Minas Gerais mostrou que em 47 (98,0%) haviam pelo menos um animal infectado por *S. aureus*, sendo que em 37 deles havia até 20% de quartos mamários infectados. No caso do *S. agalactiae*, 29 (60,4%) rebanhos estavam infectados, e em 24 destes rebanhos a média de quartos infectados foi de 3,6%. Os resultados encontrados por Brito et al. (1999) associados aos dados de CCS sugerem que nos rebanhos localizados na Região Sudeste do Brasil a prevalência de *S. aureus* e *S. agalactiae* seja superior ao verificado nos rebanhos dos Estados Unidos.

Tabela 3 - Valores médios da contagem de células somáticas (CCS) e frequência de rebanhos localizados nos Estados Unidos com contagens superiores a 400.000 células/mL e 750.000 células/mL no período de 2005 a 2008

Ano	Média CCS (x1.000 células/mL)	CCS > 400.000 células/mL	CCS > 750.000 células/mL
2005	296	25,8	4,7
2006	288	25,2	3,9
2007	276	24,0	3,5
2008	262	22,4	3,4

Fonte: UDDER, 2009

Tabela 4 - Valores médios da contagem de células somáticas (CCS) e frequência de rebanhos localizados na Região Sudeste do Brasil com contagens superiores a 400.000 células/mL e 750.000 células/mL no período de 2006 a 2009

Ano	Total de rebanhos	Média (x1.000 células/mL)	CCS > 400.000		CCS > 750.000	
			N	%	N	%
2006	29.519	464	13.348	45,2	4.076	13,8
2007	28.687	454	13.199	46,0	3.750	13,1
2008	28.368	376	9.665	34,1	2.653	9,4
2009	25.884	479	12.077	46,7	4.279	16,5

N - Número de rebanhos

Fonte: Laboratório de Qualidade do Leite - Embrapa Gado de Leite (2010)

Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae

Streptococcus spp. encontrados no ambiente foram isolados de infecções intramamárias de vacas durante o período de lactação e o período seco (TODHUNTER et al., 1995). Estação do ano, ordem de parto e período de lactação influenciaram na razão de infecções intramamárias causadas por estreptococos do ambiente (TODHUNTER et al., 1995). Estábulo, higiene e ambiente da vaca seca são frequentemente associados com novas

infecções intramamárias durante o período seco (BARTLETT et al., 1992b; GODDEN, 2004). Vacas durante o período seco geralmente permanecem em locais molhados e sujos, resultando em alto nível de exposição das extremidades dos tetos aos patógenos do ambiente (GODDEN, 2004). De forma semelhante, novilhas que permanecem em ambiente molhado e sujo são mais suscetíveis a desenvolver infecção intramamária antes do parto (GODDEN, 2004). BRADLEY e GREEN (2000) apontaram que o manejo ambiental durante o período seco das vacas pode ter grande impacto na incidência de mastite causada por patógenos ambientais na lactação subsequente e que infecções crônicas foram importantes na epidemiologia da doença. Procedimentos adequados de higiene durante a ordenha foram pontos importantes na prevenção de infecções intramamárias causadas por estreptococos do ambiente (BARTLETT et al., 1992b). BRITO et al. (2000) demonstraram que a aplicação adequada de métodos de anti-sepsia dos tetos antes da ordenha reduzia a contaminação bacteriana da pele dos tetos em aproximadamente 90%. O uso de caneca ou desinfetante contaminado com bactérias do ambiente pode ser fonte de infecção para os animais (PHILPOT e NICKERSON, 1991).

Streptococcus dysgalactiae

S. dysgalactiae parece ocupar uma posição intermediária dos grupos dos patógenos contagiosos e ambientais da mastite, com amostras adaptadas aos animais e ao ambiente (AARESTRUP e JENSEN, 1996; CALVINHO et al, 1998). A disseminação do *S. dysgalactiae* entre vacas pode ocorrer diretamente pelo equipamento de ordenha ou pelo ambiente (BRAMLEY e DODD, 1984). Como a bactéria pode persistir na glândula mamária, a transmissão pode ocorrer durante a ordenha e, conseqüentemente, o controle pode ser realizado pela adoção de procedimentos higiênicos corretos no momento da ordenha (BRAMLEY e DODD, 1984). Injúrias nas extremidades dos tetos e procedimentos inadequados de ordenha promoveram a disseminação da bactéria dentro do rebanho (CALVINHO et al, 1998). Entretanto, o *S. dysgalactiae* pode ser encontrado fora da glândula mamária como o ambiente, tonsilas, boca e vagina das vacas (BRAMLEY e DODD, 1984). Infecções ocorrem com frequência em vacas secas e novilhas, o que mostra independência do processo de ordenha e o caráter ambiental da bactéria (BRAMLEY e DODD, 1984). Sua habilidade em sobreviver e multiplicar em locais fora da glândula

mamária pode ser o principal fator responsável para diferenciar a patogênese da infecção comparada ao *S. agalactiae* (BRAMLEY e DODD, 1984). Cama contaminada é considerada ser importante fonte do microrganismo, facilitando a transmissão de um animal para outro (LEIGH, 1999). A forma de apresentação não é específica variando de casos clínicos a sub-clínicos (REBHUN et al., 1995).

Streptococcus uberis

S. uberis foi isolado tanto de material orgânico como inorgânico, usado como cama (BRAMLEY e DODD, 1984). *S. uberis* é a causa mais comum de novas infecções em vacas secas, ocorrendo usualmente no início da lactação e final do período seco (BRAMLEY e DODD, 1984). Por meio de estudos moleculares, de epidemiologia clássica e de modelos matemáticos para predição do número de novas infecções foi mostrado que amostras de *S. uberis* apresentaram característica epidemiológica de microrganismos contagiosos (ZADOKS et al. 2001a; ZADOKS et al. 2001b; ZADOKS et al. 2003), mas existem outras evidências que sugerem ser este microrganismo fortemente relacionado ao ambiente. Ligação entre *S. uberis*, ambiente e infecção foi fortemente relacionado devido ao isolamento do agente em cerca de 50 a 60% de swabs da extremidade dos tetos (LEIGH, 1999). Vacas mantidas a pasto apresentaram risco menor de infecção em relação a vacas mantidas em confinamento (LEIGH, 1999). Infecções intramamárias causados por *S. uberis* podem resultar em mastite clínica ou subclínica, variando o período de duração (ZADOKS et al., 2003). Devido ao não tratamento das infecções subclínicas, longos períodos de infecção podem dificultar o controle da mastite no rebanho (ZADOKS et al., 2003). Infecções crônicas com *S. uberis* foram reconhecidas (OLIVER et al., 1998; WANG et al., 1999) e o papel destas infecções na epidemiologia do *S. uberis*, possivelmente por meio da transmissão no momento da ordenha tem sido discutido (PEELER et al., 2000).

Patógenos secundários

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

Em estudos de prevalência em rebanhos de microrganismos causadores de mastite, dois patógenos comumente isolados são *C. bovis* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativo

(MATTHEWS et al., 1992, BRITO et al. 1999). BRITO et al. (1999) identificaram bactérias do gênero *Corynebacterium* em todos os 48 rebanhos estudados no Estado de Minas Gerais, sendo que em 24 deles, 21 a 40% dos quartos mamários estavam infectados. Além de causar infecção em maior número de quartos mamários, *Corynebacterium* spp. foi o agente mais freqüentemente isolado em todos os rebanhos. No mesmo estudo, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo foi isolado de 45 rebanhos e destes, 43 apresentaram taxas de infecção em até 20% dos quartos. Esses dois grupos de organismos são associados a discreto aumento da CCS (HARMON, 1994). A presença de *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *C. bovis* no leite, é um reflexo da flora normal da pele e da ausência de higiene, particularmente na desinfecção dos tetos. Essas bactérias podem se multiplicar na superfície e canal do teto, resultando na infecção intramamária (Bramley e Dodd, 1984).

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

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

Programa de controle e prevenção da mastite

O grande avanço no controle e prevenção da mastite ocorreu na década de 60 em consequência a introdução do plano que ficou conhecido como o “plano dos cinco pontos” (DODD e JACKSON, 1971). O plano visou principalmente reduzir o número de novas infecções, eliminar infecções já estabelecidas e diminuir a duração das infecções por meio de terapias com antibiótico e descarte de animais (NEAVE et al, 1966; JACKSON, 1971; ELVINGER e NATZKE, 1992; NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 2001). O enfoque do "plano dos cinco pontos" foi na rápida identificação e tratamento dos casos clínicos, terapia da vaca seca em todos os animais, desinfecção dos tetos após a ordenha, descarte de animais cronicamente infectados e rotina de manutenção do equipamento de ordenha (JACKSON, 1971; NEAVE e JACKSON, 1971).

O Conselho Nacional de Mastite dos Estados Unidos (NMC) recomenda um programa de controle de mastite formado por dez pontos (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 2001). Este programa enfocou os cinco pontos citados anteriormente acrescidos de um sistema de metas e avaliação periódica de objetivos para a saúde do úbere com base em resultados de análises laboratoriais para CCS e identificação de patógenos. A importância do suporte laboratorial na identificação de patógenos da mastite é evidenciada de várias formas no programa de controle. O uso de serviços laboratoriais para diagnóstico de mastite clínica e subclínica fornece informações sobre o padrão de infecção do rebanho, o que auxiliaria no controle e erradicação de patógenos da mastite como *S. aureus* e *S. agalactiae*, respectivamente (JACKSON, 1971; BRAMLEY e DODD, 1984; DINSMORE et al., 1991; GUTERBOCK et al., 1993; HOGVEEN et al. 1995; SOL et al. 1997; BRITO et al., 1999; OSTERAS et al., 1999). Estudo realizado no Brasil mostrou que não realizar exames microbiológicos para identificação de patógenos da mastite aumentava a chance das vacas em lactação estarem infectados por *S. aureus* e *S. agalactiae* em aproximadamente quatro vezes (SOUZA et al., 2006a; SOUZA et al., 2006b).

O impacto da implementação de estratégias de controle da mastite, em particular o plano dos cinco pontos no Reino Unido, foi bem sucedido em controlar patógenos contagiosos e induziu uma significativa redução de mastite clínica (Tabela 5) e subclínica, causados por estes patógenos, e consequentemente da CCS do rebanho (Tabela 6). Com

esta redução dos casos de mastite causados por patógenos contagiosos, os ambientais tiveram sua importância ampliada (LEIGH, 1999; BRADLEY, 2002). Em estudos comparativos entre rebanhos com baixas e altas CCS, foi verificado que rebanhos que tiveram os patógenos contagiosos controlados, 80% das mastites foram devido a patógenos ambientais (BRADLEY, 2002), colocando *S. uberis* e *E. coli* como responsável por dois terços dos casos de mastite clínica nos rebanhos do Reino Unido (HILLERTON et al., 1993).

Tabela 5 - Incidência e etiologia dos casos clínicos de mastite no Reino Unido em rebanhos leiteiros (casos/100 vacas/ano) entre os anos de 1967 e 1998.

Patógeno	Ano		
	1967	1982	1998
<i>Staphylococcus aureus</i>	67	7	2,2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6	1	-
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	16	4	2,0
<i>Streptococcus uberis</i>	7	9	5,3
<i>Escherichia coli</i>	7	10	14,4
Outros	50	9	17,7
Total	153	40	41,6

Fonte: Bradley, 2002

Tabela 6 - Proporção de rebanhos do Reino Unido classificados de acordo com a média anual da contagem de células somáticas (CCS) entre os anos de 1979 e 2001.

CCS (x1.000/ml)	Ano		
	1979	1993	2001
< 200	2	26	71
200 a 399	35	47	26
> 400	63	27	3

Fonte: Bradley, 2002

Estudos conduzidos na Região da Zona da Mata de Minas Gerais mostrou que a adoção das medidas de controle e prevenção da mastite mencionado no plano do cinco pontos não estavam bem difundidas entre os rebanhos bovinos (Tabela 6). As formas de eliminar infecção intramamária são por meio do tratamento dos casos clínicos, tratamento à secagem de todas as vacas e descarte de vacas com infecção crônica. Estudo realizado com rebanhos localizados na região Sudeste do Brasil mostrou que não realizar tratamento à secagem e/ou selecionar vacas para realização do tratamento à secagem proporcionava 2,44 e 15,50 vezes mais chance de terem infecção intramamária causada por *S. aureus* e *S.*

agalactiae (SOUZA et al., 2006a; SOUZA et al., 2006b). Tendo em vista o caráter crônico da infecção causada por *S. aureus* e *S. agalactiae*, a seleção de animais para tratamento a secagem ou não utilizar este tipo de tratamento e o não descarte de animais com infecção crônica pode contribuir para que a CCS do rebanho constantemente apresente valores superiores a 400.000 células/mL.

Tabela 6 - Frequência da adoção de medidas de controle da mastite com base no programa dos cinco pontos em rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil, de acordo com o ano do estudo

Medida de controle	Resposta	Ano			
		2005*		2008**	
		n	%	n	%
Realização de anti-sepsia de tetas após a ordenha	Não	121	69,1	63	84,0
	Sim	54	30,9	12	16,0
Tratamento à secagem	Nenhum animal	74	42,3	38	51,4
	Parte dos animais	52	29,7	35	47,3
	Todos animais	48	27,4	1	1,4
Tratamento de mastite clínica	Não	2	1,1	35	47,3
	Sim	171	97,7	39	52,7
Descarte de vacas com infecção crônica	Sim	70	40,0	29	39,7
	Não	105	60,0	44	60,3
Manutenção do equipamento de ordenha	Pelo menos semestral	46	56,1	-	-
	Esporádico	12	14,6	-	-
	Não faz	16	19,5	-	-

* Ordenha manual (52,6%) e ordenha mecânica (47,4%); ** Ordenha manual (100,0%)

Fonte: Souza et al. (2005); Embrapa Gado de Leite - Projeto FAPEMIG CVZ 1704/06

Considerações finais

No que se refere a qualidade do leite cru produzido nos rebanhos brasileiros, a produção de leite com valores inferiores a 400.000 células/mL é um desafio para grande parte dos rebanhos brasileiros. Apesar da prevalência de *S. aureus* e de *S. agalactiae* nos rebanhos brasileiros não serem conhecidas, estes patógenos são encontrados frequentemente em estudos de campo. Isto mostra a necessidade e importância do diagnóstico microbiológico da mastite com objetivo de fornecer informações de animais e rebanhos para auxiliar na tomada de decisões no que diz respeito ao controle e prevenção. Além da importância do diagnóstico microbiológico, ressalta-se também que a difusão e adoção de medidas de controle e prevenção da mastite abordados no "plano dos cinco pontos" são fundamentais para o alcance dos limites estabelecidos na IN51 para CCS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARESTRUP, F. M.; JENSEN, N. E. Genotypic and phenotypic diversity of *Streptococcus dysgalactiae* strains isolated from clinical and subclinical cases of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, v. 53, n. 3-4, p. 315-323, 1996.
- BARBOSA, S.B.P., BATISTA, A.M.V., MONARDES, H. 2008. Leite: segurança alimentar e saúde pública. CCS Gráfica e Editora, Recife, Brasil.
- BARTLETT, P. C.; MILLER, G. Y.; LANCE, S. E.; HANCOCK, D. D.; HEIDER, L. E. Managerial risk factors of intramammary infection with *Streptococcus agalactiae* in dairy herds in Ohio. *American Journal of Veterinary Research*, v. 53, n. 9, p. 1715-1721, 1992.
- BODDIE, R. L.; NICKERSON, S. C. Evaluation of tow iodophor teat germicides: activity against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *Journal of Dairy Science*, v. 80, n.8, p. 1846-1850, 1997.
- BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary Journal*, v. 164, n.2, p. 116-128, 2002.
- BRAMLEY, A. J. Mastitis. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. *Bovine Medicine: Diseases and husbandry of Cattle*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1992. p.289-300.
- BRAMLEY, A. J.; DODD, F. H. Reviews of the progress of Dairy Science: Mastitis control – progress and prospects. *Journal of Dairy Research*, v. 51, n.3, p. 481-512, 1984.
- BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J. Aetiology of clinical mastitis in six Somerset dairy herds. *Veterinary Record*, v. 148, n. 22, p. 683-686, 2001.
- BRAMLEY, A. J.; DODD, F. H. Reviews of the progress of Dairy Science: Mastitis control – progress and prospects. *Journal of Dairy Research*, v. 51, n.3, p. 481-512, 1984.
- BRAMLEY, A.J. MCKINNON, C.H.. 1990. The microbiology of raw milk. Pages 163-208. In: *Dairy Microbiology*. vol. 1. The Microbiology of Milk. 2nd ed. R.K. Robinson. ed. Elsevier Science Publishers. London. United Kingdom.
- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. *Como (re)conhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2002. 8 p. (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 70).
- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; VERNEQUE, R. S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. *Ciência Rural*, v. 30, n. 5, p. 847-850, 2000.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n.2, p. 129-135, 1999.
- CALVINHO, L. F.; ALMEIDA, R. A.; OLIVER, S. P. Potential virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, v. 61, n. 1-2, p. 93-110, 1998.
- CAPUCO, A. V.; MEIN, G. A.; NICKERSON, S. C.; JACK, L. J. W.; WOOD, D. L.; BRIGHT, S. A.; ASCHENBRENNER, R. A.; MILLER, R. H.; BITMAN, J. Influence of pulsationless milking on teat canal keratin and mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 77, n.1, p. 64-74, 1994.

COSTA, E.O., MELVILLE, P.A., RIBEIRO, A.R., WATANABE, E.T., WHITE, C.R., PARDO, R.B. Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.17, p.215-217, 1995.

CRUZ, J. C. M.; MOLINA, L. R.; BRITO, J. R. F.; CUNHA, R. P. L.; BRITO, M. A. V. P.; SOUZA, G. N. Eficiência da *blitz* terapia na erradicação de *Streptococcus agalactiae* e controle de *Staphylococcus aureus* em rebanhos bovinos leiteiros. In: DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo: UPF Editora, 2004. p.136-140.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. 2002. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite.

DINSMORE, R. P.; ENGLISH, P. B.; GONZALEZ, R. N.; SEARS, P. M.; SCHULTE, F. Evaluation of methods for the diagnosis of *Streptococcus agalactiae* intramammary infections in dairy cattle. *Journal Dairy Science*, v. 74, n. 5, p.1521-1526, 1991.

DODD, F. H.; JACKSON, E. R. The control of bovine mastitis. Berkshire: Unwin Brothers Limited, 1971. 130p.

DOHOO, I. R.; LESLIE, K. E. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 10, n. 4, p. 225-237, 1991.

EBERHART, R. J.; HUTCHINSON, J.; SPENCER, S. B. Relationships of bulk tank somatic cell counts to prevalence of intramammary infection and to indices of herd production. *Journal of Food Protection*, v. 45, n. 12, p. 1125-1128, 1982.

ELBERS, A. R.; MILTENBURG, J. D.; DE LANGE, D.; CRAUWELS, A. P. BARKEMA, H. W.; SCHUKEEN, Y. H. Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of The Netherlands. *Journal Dairy Science*, v. 81, n. 2, p.420-426, 1998.

ELVINGER, F.; NATZKE, R. P. Elements of mastitis control. In: VAN HORN, H. H.; WILCOX, C. J. *Large dairy herd management*. Champaign: American Dairy Science Association, 1992. p.440-447.

EMANUELSON, U.; FUNKE, H. Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 74, n. 8, p. 2479-2483, 1991.

FAGUNDES, H., OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. *Ciência Rural*, v.34, n.4, p.1315-1320, 2004.

FOX, L. K.; CHESTER, S. T.; HALLBERG, J. W.; NICKERSON, S. C.; PANKEY, J. W.; WEAVER, L. D. Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition. *Journal Dairy Science*, v. 78, n. 7, p. 1619-1628, 1995.

GODDEN, S. Put a stop to dry and fresh cow mastitis. In: REGIONAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 2004, Bloomington. *Proceedings...* Verona: NMC, 2004. p. 6-18.

GONZALEZ. R.N.. JASPER. D.E.. BUSHENELL. R.B.. FARVER. T.B. Relationship between mastitis pathogens numbers in bulk milk and bovine udder infections in California dairy herds. *Journal American Veterinary Medical Association*, v.189. p.442-445, 1986.

GUTERBOCK, W. M.; VAN EENEHNAAM, A. L.; ANDERSON, R. J.; GARDNER, I. A.; CULLOR, J. S.; HOLMBERG, C. A. Efficacy of intramammary antibiotic therapy for

treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *Journal Dairy Science*, v. 76, n.11, p.3437-3444, 1993.

HAAS, Y.; BARKEMA, H. W.; VEERKAMP, R. F. The effect of pathogen-specific clinical mastitis on the lactation curve for somatic cell count. *Journal Dairy Science*, v. 85, n. 5, p. 1314-1323, 2002.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 7, p. 2103-2113, 1994.

HILLERTON, J. E., SHEARN, M. F. S., TEVERSON, R. M., LANGRIDGE, S. & BOOTH, J. M. Effect of premilking teat dipping on clinical mastitis on dairy farms in England. *Journal of Dairy Research*, v.60, p.31-41, 1993.

HOGVEEN, H.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; TEPP, D. M.; KREMER, W. D. J.; VAN VLIET, J. H.; BRAND, A. A knowledge-based system for diagnosis of mastitis problems at the herd level. 1. Concepts. *Journal Dairy Science*, v. 78, n. 7, p. 1430-1440, 1995.

JACKSON, E. R. Elimination of intramammary infections. In: DODD, F. H.; JACKSON, E. R. The control of bovine mastitis. Berkshire: Unwin Brothers Limited, 1971. p. 25-34.

JÚNIOR, J.E.F.L., SOUZA, G.N., LANGE, C.C., BRITO, M.A.V.P., SILVA, M.A.S., FONSECA, R.G., SILVEIRA, R.H., SILVA, Y.A., SANTOS, F.R. Variação da contagem total de bactérias em quartos mamários de bovinos de acordo com patógenos da mastite. In: 25 Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2009, Porto de Galinhas. São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2009. v. 9. p.112.

KEEFE, G. P. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. *Canadian Veterinary Journal*, v. 38, n. 7, p. 429-435, 1997.

KEEFE, G. P.; DOHOO, I. R.; SPANGLER, E. Herd prevalence and incidence of *Streptococcus agalactiae* in the dairy industry of Prince Edward Island. *Journal Dairy Science*, v. 80, n. 3, p. 464-470, 1997.

KEHRLI, Jr. M. E. K.; SHUSTER, D. E. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 2, p. 619-627, 1994.

KENNEDY, B. W.; SETHAR, M. S.; TONG, A. K.; W.; MOXLEY, J. E. Environmental factors influencing test-day somatic cell counts in Holstein. *Journal Dairy Science*, v. 65, n.2, p. 275-285, 1982.

KOSSAIBATI, M. A. The costs of clinical mastitis in UK dairy herds. *Cattle Practice*, v. 8, n. 3, p. 823-828, 2000.

LEAVENS, H.; DELUYKER, H.; SCHUKKEN, Y. H.; MEULEMEESTER, L.; VANDERMEERSCH, R.; MUËLENAERE, E.; KRUIF, A. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *Journal Dairy Science*, v. 80, n. 12, p. 3219-3226, 1997.

LEIGH, J. A. *Streptococcus uberis*: a permanent barrier to the control of bovine mastitis? *The Veterinary Journal*, v. 157, n. 3, p. 225-238, 1999.

MATTHEWS, K. R.; HARMON, R. J.; LANGLOIS, B. E. Prevalence of *Staphylococcus aureus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. *Journal Dairy Science*, v. 75, n. 7, p. 1835-1839, 1992.

MESQUITA, A. J., DÜRR, J. W., COELHO, K. O. 2006. Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil. Talento, Goiânia, Brasil.

NADER FILHO, A., FERREIRA, L.M., AMARAL, L.A., ROSSI JUNIOR, O.D., OLIVEIRA, R.P. 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*, v.59, n.5, p.1316-1318, 2007.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. *National Mastitis Council Recommended Mastitis Control Program*, 2001. Disponível em: <<http://www.nmconline.org/docs/NMC10steps.pdf>>. Acesso em: 18/05/2003.

NEAVE, F. K.; DODD, F. H.; KINGWILL, R. G. A method of controlling udder disease. *Veterinary Record*, v. 78, n. 15, p.521-523, 1966.

NEAVE, F. K.; JACKSON, E. R. The prevention of intramammary infections. In: DODD, F. H.; JACKSON, E. R. *The control of bovine mastitis*. Berkshire: Unwin Brothers Limited, 1971. p. 15-24.

NICKERSON, S. C.; BODDIE, R. L. Effect of naturally occurring coagulase-negative staphylococcal infections on experimental challenge with major mastitis pathogens. *Journal Dairy Science*, v. 77, n. 9, p. 2526-2536, 1994.

OLIVER, S. P.; LEWIS, M. J.; INGLE, T. L. et al. Prevention of bovine mastitis by a premilking teat disinfectant containing chlorous acid and chlorine dioxide. *J. Dairy Sci.*, v. 76, n. 1, p. 287-292, 1993.

OSTERAS, O.; EDGE, V. L.; MARTIN, S. W. Determinants of success or failure in the elimination of major mastitis pathogens in selective dry cow therapy. *Journal Dairy Science*, v. 82, n.6, p.1221-1231, 1999.

PAAPE, M. J.; CONTRERAS, A. Historical perspective on the evolution of the milk somatic cell count. *Flem. Vet. J.*, v. 66, Suppl., p. 93-105, 1997.

PEELER, E. J.; GREEN, M. J.; FITZPATRICK, J. L.; MORGAN, K. L.; GREEN, L. E. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. *Journal Dairy Science*, v. 83, n. 11, p. 2464-2472, 2000.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. *Mastitis: counter attack. A strategy to combat mastitis*. Naperville: Babson Bros. Co., 1991. 150 p.

PYÖRÄLÄ, S. Mastitis caused by different microbes. In: SANDHOLM, M.; HONKANEN-BUZALSKI, T.; KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S. *The bovine udder and mastitis*. Helsinki: University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, 1995. p. 143-160.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. Bacterial causes of bovine mastitis. In: *Veterinary Microbiology and Microbial disease*. Oxford: Blackwell, 2002. p. 465-475.

RADOSTITS, O. M.; LESLIE, K. E.; FETROW, J. *Herd health: food, animal, production, medicine*. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994. 629 p.

REBHUN, C. W.; GUARD, C.; RICHARDS, C. M. *Diseases of dairy cattle*. Media: Lippincott Williams & Wilkins, 1995. 530 p.

RENEAU, J. K. Effective use of Dairy Herd Improvement somatic cells counts in mastitis control. *Journal Dairy Science*, v. 69, n.6. p.1708-1720, 1986.

RYSANEK, D.; BABAK, V. Buk tank milk somatic cell count as an indicator of the hygiene status of primary milk production. *Journal Dairy Research*, v.72, p.400-405, 2005.

SARGEANT, J. M.; LESLIE, K. E.; SHIRLEY, J. E.; PULKRABEK, B. J.; LIM, G. H. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. *Journal Dairy Science*, v. 84, n. 9, p. 2018-2024, 1986.

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

SEARS, P.M., SMITH, B.S., ENGLISH, P.B., HERER, P.S., GONZALEZ, R.N. Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *Journal Dairy Science*, v.73, p.2785-2789, 1990.

SHUKKEN, Y. H.; KREMER, D. J. Monitoring udder health: objectives, materials and methods. In: BRAND, A.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; SCHUKKEN, Y. H. *Herd health and production management in dairy practice*. Wageningen: Wageningen Pers, 1996. 351-426.

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

SOMMERHÄUSER, J.; KLOPPERT, B.; WOLTER, W.; ZSCHÖCK, M.; SOBIRAJ, A.; FAILING, K. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. *Veterinary Microbiology*, v. 96, n. 1, p. 91-102, 2003.

SOUZA, G.N., BRITO, J.R.F., MOREIRA, E.C., BRITO, M.A.V.P., SILVA, M.V.G.B. Fatores de risco para mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus* em vacas leiteiras de rebanhos da região Sudeste do Brasil. In: 9 Congresso Panamericano do Leite, 2006, Porto Alegre. Anais do 9 Congresso Panamericano do Leite, 2006a. p. 249-253.

SOUZA, G.N., BRITO, J.R.F., MOREIRA, E.C., BRITO, M.A.V.P., SILVA, M.V.G.B. Fatores de risco para mastite subclínica causada por *Sreptococcus agalactiae* em vacas leiteiras de rebanhos da região Sudeste do Brasil. In: 9 Congresso Panamericano do Leite, 2006, Porto Alegre. Anais do 9 Congresso Panamericano do Leite, 2006b. p. 255-259.

SOUZA, G.N., BRITO, J.R.F., MOREIRA, E.C., BRITO, M.A.V.P., SILVA, M.V.G.B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, n.5, p.1015-1020, 2009.

TODHUNTER, D. A.; SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *Journal Dairy Science*, v. 78, n. 11, p. 2366-2374, 1995.

UDDER Topics. Verona, WI: National Mastitis Council, v.32, n.2, may-jun. 2009. 6p.

USDA. Dairy 2007, **Part I: Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States**. Fort Collins, 2007a. 128 p. Disponível em: <<http://nahms.aphis.usda.gov/dairy/dairy07/dairy07brochure.pdf>>. Acesso em: 02 abr. 2008.

USDA. Dairy 2007, **Part II: Changes in the U.S. Dairy Cattle Industry, 1991-2007**. Fort Collins, 2007b. 92p. Disponível em: <<http://nahms.aphis.usda.gov/dairy/dairy07/dairy07brochure.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2008.

VARGAS, R. T.; SANTOS, E. M. P.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; BRITO, M. A. V. P.; GARCIA, P. H. M. Avaliação econômica e qualitativa do leite de novilhas submetidas a antibioticoterapia e vacinação no período pré-parto (reusultados parciais). In: DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo: UPF Editora, 2004. p. 130-135.

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

WANG, S. M.; DEIGHTON, M. A.; CAPSTICK, J. A.; GERRATY, N. Epidemiological typing of bovine streptococci by pulsed-field gel eletrophoresis. *Epidemiology and Infection*, v. 123, n. 2, p. 317-324, 1999.

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

ZADOCKS, R. N.; ALLORE, H. G.; BARKEMA, H. W.; SAMPIMON, O. C.; GRÖHN, Y. T.; SCHUKEEN, Y. H. Analysis of an outbreak of *Streptococcus uberis* mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 84, n. 3, p. 590-599, 2001a.

ZADOCKS, R. N.; ALLORE, H. G.; BARKEMA, H. W.; SAMPIMON, O. C.; WELLENBERG, G. J.; GRÖHN, Y. T.; SCHUKEEN, Y. H. Cow- and quarter-level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 84, n. 12, p. 2649-2663, 2001b.

ZADOCKS, R. N.; ALLORE, H. G.; HAGENAARS, T. J.; BARKEMA, H. W.; SCHUKEEN, Y. H. A mathematical model of *Staphylococcus aureus* control in dairy herds. *Epidemiology and Infection*, v. 129, n. 2, p. 397-416, 2002.

ZADOCKS, R. N.; GILLESPIE, B. E.; BARKEMA, H. W.; SAMPIMON, O. C.; OLIVER, S. P.; SCHUKEEN, Y. H. Clinical, epidemiological and molecular characteristics for *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. *Epidemiology and Infection*, v. 130, n. 2, p. 335-349, 2003.