

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**DAYANE DAMBRÓS**

**PREVALÊNCIA DE *Corynebacterium* sp. NO LEITE DE VACAS, SUA  
CORRELAÇÃO COM O MANEJO DE ORDENHA E CONTAGEM DE CÉLULAS  
SOMÁTICAS**

**LAGES, SC**

**2012**

**DAYANE DAMBRÓS**

**PREVALÊNCIA DE *Corynebacterium* sp. NO LEITE DE VACAS, SUA  
CORRELAÇÃO COM O MANEJO DE ORDENHA E CONTAGEM DE CÉLULAS  
SOMÁTICAS**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador(a): Dr<sup>a</sup>. Eliana Knackfuss Vaz

**LAGES, SC**

**2012**


**DAYANE DAMBRÓS**


**PREVALÊNCIA DE *Corynebacterium* sp. NO LEITE DE VACAS, SUA  
CORRELAÇÃO COM O MANEJO DE ORDENHA E CONTAGEM DE CÉLULAS  
SOMÁTICAS**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**Banca Examinadora:**

Orientador(a) :   
\_\_\_\_\_  
Professora Dr<sup>a</sup>. Eliana Knackfuss Vaz, Orientadora  
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Co-orientador:   
\_\_\_\_\_  
Professor Dr. Adil Knackfuss Vaz  
Research Professor Buffalo University NY

Membro:   
\_\_\_\_\_  
Professor Dr. André Thaler Neto  
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membro:   
\_\_\_\_\_  
Professora Dr<sup>a</sup>. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

**Lages, SC, 09 de março de 2012**

Dedico esta vitória a Deus, fonte de vida,  
força e esperança e, a minha família pelo  
apoio.

## AGRADECIMENTOS

É imprescindível manifestar, através da dissertação, meus sinceros agradecimentos a todas as pessoas que contribuíram na realização deste trabalho, em especial:

À Deus, por iluminar meus caminhos e me dar força nos momentos em que quase enfraqueci.

Aos meus orientadores, Professora Dra. Eliana Knackfuss Vaz e Professor Dr. Adil Knackfuss Vaz, não só pela oportunidade de desenvolver o projeto de mestrado sob orientação dos senhores, dois grandes pesquisadores, mas também pela paciência, apoio, dedicação e confiança em mim depositada.

A minha família, pai Sérgio, mãe Julia, minha mana Dani, irmão Diego, minha querida sobrinha Giovaninha, por todo amor, motivação e por me fazerem acreditar que realmente sou capaz.

Ao Marcelo, meu companheiro desde a época de faculdade, pelo amor, carinho, compreensão e extrema paciência nas horas mais difíceis

Ao Prof. Dr. Ubirajara Maciel da Costa, nosso querido Bira, e à Prof. Dra. Sandra Maria Ferraz, responsáveis pelo Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal – CEDIMA juntamente com os meus orientadores, que me ajudaram e colaboraram no desenvolvimento do projeto.

Ao Prof. Dr. André Thaler Neto, que mesmo correndo, atarefado com aulas, viagens, palestras, sempre esteve disposto a ajudar não apenas na análise dos dados, mas também no aperfeiçoamento do trabalho. Com certeza, Prof Thaler é um “paizão” pra todos os acadêmicos. Obrigada pela amizade.

À minha grande amiga Caroline Pissetti, a Carolzinha, parceira de graduação e a grande responsável pela minha participação no projeto de pesquisa da Embrapa e meu ingresso no mundo da pesquisa. Obrigada amiga! Saudades.

À instituição Embrapa Gado de Leite, de Juiz de Fora-MG, especialmente à pesquisadora Dra Maria Aparecida V. P. Brito, que tornou possível minha participação no grande projeto de pesquisa de resistência antimicrobiana e aos demais parceiros do projeto que me disponibilizaram os dados para que eu pudesse desenvolver a minha linha de pesquisa.

Ao pesquisador da Epagri, Msc. Vagner Miranda Portes, que além da grande ajuda na realização das coletas das amostras para o projeto, cedeu um cantinho em sua casa. Agradeço de coração o apoio.

À toda equipe que me acompanhou nas coletas, que enfrentaram chuva, sol, poeira, disponibilizaram seu tempo para que fosse possível a realização desse trabalho.

À todo o pessoal do CEDIMA, bolsistas, estagiários e mestrandos pelo auxílio tanto nas coletas quanto na análise das amostras de leite. Não posso deixar de citar minhas companheiras de mestrado, Fran e Fê, colegas de formatura de graduação, mas que só durante a pós-graduação, fomos presenteadas pela convivência e amizade construída. Momentos alegres e descontraídos com vocês é que tornou tudo mais feliz.

Ao Centro de Ciências Agroveterinárias da UDESC, que proporcionou minha formação como Médica Veterinária e agora, mais uma vez, contribuiu para meu aperfeiçoamento.

Deixo aqui o meu MUITO OBRIGADA!!!

## RESUMO

A mastite bovina é a enfermidade que mais causa prejuízos na pecuária leiteira, reduzindo, significativamente, a produção e qualidade do leite. Um dos agentes causadores da mastite é o *Corynebacterium* sp., principalmente a espécie *Corynebacterium bovis*, porém seu papel na infecção intramamária ainda não é definido, pois alguns estudos consideram este agente, um patógeno menor da glândula mamária, sem causar alteração da produção e composição do leite, entretanto outros, constataam a grande capacidade do *Corynebacterium* sp. em causar mastite, colocando-o como um fator restritivo para o desenvolvimento da atividade leiteira. Conhecer o perfil microbiológico de amostras de leite, a ação específica dos agentes na glândula mamária e seu efeito na qualidade do leite, são de grande relevância em programas de controle da mastite. Este estudo teve como objetivos determinar a prevalência de *Corynebacterium* sp. no leite de vacas de rebanhos leiteiros localizados em cinco estados brasileiros e, correlacionar a presença deste agente com o manejo de ordenha dos rebanhos e com a contagem de células somáticas do leite do tanque e do leite individual das vacas. Foi realizado um estudo longitudinal, de janeiro de 2010 a julho de 2011, em rebanhos leiteiros localizados nos estados de SC, PR, RS, MG e PE, nos quais foram realizadas quatro coletas (semestrais) de amostras de leite em cada rebanho. Foi aplicado um questionário, em cada propriedade, para obter dados e informações sobre o manejo de ordenha dos rebanhos, como a desinfecção pré e pós-ordenha, secagem dos tetos, que possam influenciar na ocorrência de mastite por *Corynebacterium* sp. Do total de 4949 amostras de leite analisadas, submetidas a cultura microbiológica, 666 (13,46%) apresentaram isolamento de *Corynebacterium* sp. Minas Gerais foi o estado que apresentou a maior prevalência deste agente (21,07%) comparado aos demais estados. Os fatores de risco associados ao manejo de ordenha das propriedades, como a desinfecção dos tetos pré e pós-ordenha e o tratamento de vaca seca não apresentaram influência estatística significativa na prevalência de *Corynebacterium* sp. nas amostras de leite analisadas. O isolamento de *Corynebacterium* sp nas amostras de leite não afetou a CCS do leite do tanque dos rebanhos, porém no CMT, a presença deste agente causou variações no número de quartos positivos e no grau de escore no respectivo teste. Portanto, *Corynebacterium* sp. é um agente causador de mastite de grande relevância, não só pela frequência de isolamento observada no presente estudo, mas também pelo efeito no CMT individual das vacas e conseqüentemente na CCS do rebanho.

**Palavras-chave:** Mastite bovina, *Corynebacterium* sp., Contagem de células somáticas, Manejo de ordenha

## ABSTRACT

The bovine mastitis is a disease that causes more losses in dairy farming, significantly reducing the production and milk quality. A causative agent of mastitis is the *Corynebacterium* sp. , especially the specie *Corynebacterium bovis*, but their role in intramammary infection is not yet defined, since some studies consider this agent, a minor pathogen of the mammary gland, causing no change in production and composition milk, though others, realize the large capacity of *Corynebacterium* sp. in causing mastitis, placing it as a risk factor for the development of the activity. Meet the microbiological profile of milk samples, the specific action of the agents in the mammary gland and its effect on milk quality, are of great importance in mastitis control programs. This study aimed to determine the prevalence of *Corynebacterium* sp. n the milk of cows from dairy herds located in five Brazilian states and to correlate the presence of this agent with the management of the milking herd and the somatic cell count of bulk tank milk and milk of individual cows. We conducted a longitudinal study from January 2010 to July 2011, in dairy herds located in the states of SC, PR, RS, MG and PE, which were performed in four colletions (at six months intervals) of milk samples in each herd. A questionnaire was applied in each farm to obtain data and information on the practices of milking herds, such as teat disinfection and teat drying, which may influence the occurrence of mastitis by *Corynebacterium* sp. Of the 4949 milk samples analyzed, submitted to microbiological culture, 666 (13,46%) had isolation of *Corynebacterium* sp. Minas Gerais was the state with the highest pravelence off this agent (21,07%) compared to others states. Risk factors associated with the management of milking, such as teat disinfection before and after milking and dry cow treatment showed no statistically significant influence on the prevalence of *Corynebacterium* sp. in milk samples analyzed. The isolation of *Corynebacterium* sp. in milk samples did not affect the SCC of bulk tank milk of the herds, but in the CMT, the presence of this agent caused variations in the number of positive mammary quarters and the degree of score in their test. Therefore *Corynebacterium* sp. is a causative agent of mastitis of great relevance not only by the frequency of isolation observed in this study, but also by the effect of CMT in individual cows and consequently in the herd SCC.

**Key-words:** bovine mastitis, *Corynebacterium* sp., somatic cell count, milking practices



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação esquemática da distribuição da mastite clínica, subclínica e de vacas sadias em um rebanho leiteiro .....17**
- Figura 2 – *Corynebacterium* sp. com formato de bastonetes Gram-positivos..21**
- Figura 3 – (a) Coleta de amostra de leite assepticamente; (b) Amostras de leite acondicionadas em caixa isotérmica com gelo reciclável .....29**
- Figura 4 – Realização do *California Mastitis Test* – CMT, 2010.....30**
- Figura 5 – Cultura de *Corynebacterium* sp. em 48 horas de incubação em placa de ágar-sangue.....31**

## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1 – Percentual de quartos mamários positivos no CMT associado à presença ou ausência de infecção nas amostras de leite analisadas, 2010 – 2011 .....40**

**Gráfico 2 – Percentual de quartos mamários positivos no CMT associado ao perfil microbiológico das amostras de leite analisadas, 2010 – 2011 .....41**

**Gráfico 3 – Percentual de escore no CMT associado ao tipo de agente bacteriano isolado de amostras de leite analisadas, 2010 – 2011 .....43**

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Prevalência de <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp. coagulase positiva e <i>Streptococcus agalactiae</i> em 4949 amostras de leite analisadas, 2010- 2011 .....	33
TABELA 2 – Percentual relacionado a características de manejo e cuidados higiênicos durante a ordenha de rebanhos leiteiros dos cinco estados estudados, 2010-2011. ....	34
TABELA 3 – Fatores de risco associados ao percentual de amostras com isolamento de <i>Corynebacterium</i> sp.....	35
TABELA 4 – Fatores de risco associados ao percentual de amostras com isolamento de <i>Staphylococcus</i> sp. coagulase positivo .....	37
TABELA 5 – Fatores de risco associados ao percentual de amostras com isolamento dos agentes contagiosos em conjunto .....	37
TABELA 6 – Variáveis associadas ao escore de células somáticas (ECS).....	38

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>113</b>
<b>CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 MASTITE BOVINA .....</b>	<b>15</b>
2.1.1 Micro-organismos causadores da mastite .....	17
2.1.2 <i>Corynebacterium</i> sp. como agente causador .....	18
<b>CAPÍTULO III – ARTIGO .....</b>	<b>24</b>
<b>Prevalência de <i>Corynebacterium</i> sp. no leite de vacas, sua relação com o manejo de ordenha e contagem de células somáticas.....</b>	<b>24</b>
RESUMO .....	25
ABSTRACT .....	26
1 INTRODUÇÃO.....	27
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	28
2.1 Delineamento experimental .....	28
2.2 Coleta das amostras.....	29
2.3 Realização do <i>California Mastitis Test</i> – CMT .....	29
2.4 Aplicação de questionário nas propriedades leiteiras .....	30
2.5 Análises Laboratoriais .....	30
2.6 Análise estatística.....	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
3.1 Prevalência de <i>Corynebacterium</i> sp nos rebanhos leiteiros .....	32
3.2 Fatores de risco associados a prevalência de <i>Corynebacterium</i> sp. ..	33
3.3 Influência de <i>Corynebacterium</i> sp. e dos principais agentes da mastite na CCS do leite do tanque e no CMT individual das vacas.....	38
4 CONCLUSÃO .....	43
5 REFERÊNCIAS .....	44
<b>CAPÍTULO IV - PERSPECTIVAS.....</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>52</b>

<b>ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal – CETEA.....</b>	<b>53</b>
<b>ANEXO B – Questionário aplicado às propriedades leiteiras .....</b>	<b>54</b>

## CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

O Brasil configura-se como um dos grandes produtores de leite do mundo, partindo de um patamar de 15 bilhões de litros produzidos por ano, no início dos anos 90, para alcançar mais de 30 bilhões de litros em 2011 (IBGE, 2011).

O quão rapidamente o Brasil se tornará um competidor potencial nas exportações depende exclusivamente da determinação do país e, uma das principais condições para que isso ocorra é a garantia da qualidade do produto comercializado.

As barreiras impostas pelos países desenvolvidos, quando se trata do comércio internacional de alimentos, tornam a questão da busca pela qualidade um objetivo muito maior que a simples adoção de práticas de higiene, trata-se de uma mudança de paradigmas.

Para incentivar a melhoria da qualidade do leite brasileiro, entrou em vigor no país, desde julho de 2005, a Instrução Normativa 51, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que tem como objetivo estabelecer padrões de qualidade do leite cru refrigerado. A legislação estabeleceu que entraria em vigor a partir de 1º julho de 2011, nos estados da região sul, sudeste e centro-oeste e a partir de 1º julho de 2012 nos estados do norte e nordeste, parâmetros de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) menores que 400.000 células/ml e 100.000 UFC/ml respectivamente, para o leite cru refrigerado. Porém em dezembro de 2011, a IN 51 foi alterada pela IN 62 prorrogando por mais quatro anos a entrada em vigor dos novos parâmetros de qualidade para produção de leite nacional, pois se a legislação fosse adotada de imediato, muitos produtores brasileiros ficariam excluídos do mercado.

Uma alternativa para que a cadeia produtiva possa fornecer um produto de melhor qualidade para os consumidores, é a efetivação nacional do sistema de pagamento por qualidade. Com a melhoria da qualidade do leite cru, automaticamente todos os tipos de leite terão padrões mais rígidos. Como consequência, o produto brasileiro poderá atender aos padrões internacionais de qualidade, além de trazer benefícios para os produtores, indústrias e consumidores.

A melhoria na qualidade do leite reflete uma maior eficiência da produção nas propriedades rurais e eleva o rendimento dos produtos lácteos nas indústrias.

Portanto a tendência, em um futuro próximo, é que permaneçam no mercado apenas os produtores de leite e as indústrias com produtos de alta qualidade.

Diante da atual situação da cadeia láctea, visando a qualidade do leite, a mastite aparece como um grande problema a ser enfrentado devido à sua elevada incidência e pelo grande impacto negativo na produção de leite.

A mastite é causada principalmente por bactérias que incluem o *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e o *Mycoplasma bovis*, os quais são considerados como patógenos principais e *Corynebacterium bovis*, como patógeno secundário.

*Corynebacterium bovis* é a espécie, dentre os *Corynebacterium* sp., mais frequentemente isolada de glândulas mamárias e apesar de ser classificada como um patógeno secundário, seu papel na infecção intramamária ainda não está definido. Estudos anteriores têm mostrado uma elevada prevalência de *Corynebacterium* sp. nos rebanhos leiteiros, porém ainda existem controvérsias quanto ao efeito desse agente sobre a produção e composição do leite.

Considerando a importância de conhecer o perfil de infecção intramamária para um controle mais eficiente da mastite, e *Corynebacterium* sp. não ter seu papel definido como agente causador e de significância na produção de leite, é que se buscou realizar esse estudo na tentativa de elucidar a importância desse patógeno na ocorrência da doença.

## **CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 MASTITE BOVINA**

A mastite é a doença mais importante dos rebanhos leiteiros em todo o mundo devido à alta incidência de casos clínicos, alta prevalência de infecções subclínicas e aos prejuízos econômicos que acarreta, sendo a redução da produção de leite o fator individual mais importante das perdas causada pela mastite (PHILPOT; NICKERSON, 2002). Estima-se que no Brasil essa redução varie de 12% a 15%, o que representa perda de 2,4 bilhões de litros de leite/ano (SANTOS; FONSECA, 2007).

A mastite também causa prejuízos para a indústria de laticínios pela queda de rendimento dos derivados lácteos, especialmente os queijos, e pela redução da vida de prateleira, incluindo o leite pasteurizado (SANTOS; FONSECA, 2007). Além disso, a doença oferece riscos à saúde pública, pois micro-organismos patogênicos podem ser eliminados pelo leite sendo uma fonte de infecção para o homem pelo consumo de leite “in natura”, bem como pela ingestão de derivados produzidos a partir do leite cru contaminado (RAGIV SINGH et al., 1998).

“Conceitualmente, mastite ou mamite é a inflamação da glândula mamária cujas principais causas são os micro-organismos, tais como bactérias (consideradas os agentes mais importantes), fungos, leveduras e algas.” (SANTOS; FONSECA, 2007).

Segundo Santos e Fonseca (2007) a mastite ocorre quando micro-organismos invadem a glândula mamária, através da colonização da pele e do canal do teto entre as ordenhas, flutuações de vácuo durante a ordenha que levam os micro-organismos para dentro do teto e introdução de cânulas contaminadas no momento do tratamento intramamário.

Para Ladeira (2007), a infecção intramamária ocorre geralmente via canal do teto após a ordenha, pois o esfíncter deste ainda encontra-se aberto permitindo a penetração do agente infeccioso. A transmissão do agente ocorre através dos equipamentos de ordenha, mãos do ordenhador, ou ainda, pela contaminação ambiental. Portanto, boas práticas de higiene durante a ordenha são fatores importantes na ocorrência da infecção.

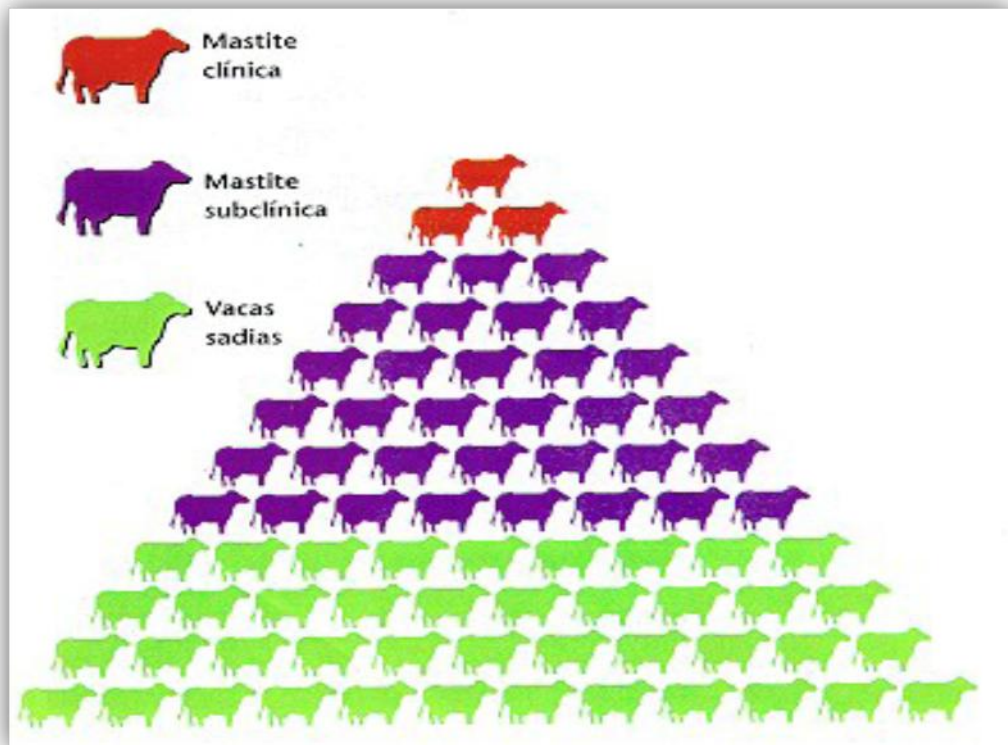


As mastites são classificadas em clínicas e subclínicas, quanto a sua forma de manifestação. Mastites clínicas são os casos da doença que apresentam sintomatologia evidente, tais como edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor da glândula mamária e/ou aparecimento de grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite. Por apresentar sinais evidentes, a mastite clínica é a que traz maiores preocupações aos produtores. No entanto, a forma mais comum e responsável pelos maiores prejuízos, é a mastite subclínica, a qual causa queda na produção e alteração na composição do leite, porém, geralmente passa despercebida pela ausência de sinais visíveis no leite ou no úbere (SANTOS; FONSECA, 2007).

As principais alterações na composição do leite são o aumento na contagem de células somáticas (CCS), aumento nos teores de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  e proteínas séricas, e diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura do leite. É importante lembrar que na mastite subclínica não existem sinais evidentes da doença, portanto, não é possível diagnosticá-la sem a utilização de testes auxiliares. Dessa forma, o sinal clássico da mastite subclínica é a elevação da CCS e o teste auxiliar mais simples e utilizado hoje, por muitas propriedades para o diagnóstico da mesma, é o *California Mastitis Test* (CMT).

O CMT é uma medida indireta da contagem de células somáticas no leite, considerada um indicador de saúde da glândula mamária. Na glândula mamária de vacas sadias a contagem total de células do leite, provenientes da descamação normal do epitélio da glândula mamária, é menor que 200.00 células/mL. No entanto, quando um quarto mamário é infectado por um micro-organismo, ocorre grande aumento das células de origem do sangue que participam da resposta imune. Assim, o aumento da CCS nos casos de mastite se dá pela maior passagem de leucócitos do sangue para a glândula mamária, concomitantemente à maior descamação do epitélio lesado (SANTOS; FONSECA, 2007).

Santos e Fonseca (2007) destacam que a mastite subclínica apresenta prevalência maior que a mastite clínica, sendo responsável por 90% a 95% dos casos da doença nos rebanhos leiteiros. Visto isso, muitas vezes, a prevalência da mastite é subestimada, uma vez que muitos consideram para efeito de análises, apenas os casos de mastite clínica, pois são esses que se apresentam de forma evidente e de diagnóstico fácil (Figura 1).



Fonte: Santos e Fonseca, 2007.

**Figura 1-** Representação esquemática da distribuição da mastite clínica, subclínica e de vacas sadias em um rebanho leiteiro.

A infecção intramamária pode ser diagnosticada através da cultura microbiológica de amostras de leite obtidas assepticamente (IDF, 1999). Porém a colonização e/ou infecção do canal do teto não é o suficiente para dizer que existe uma infecção na glândula. A verdadeira infecção intramamária é aquela que leva a um aumento na CCS, uma diminuição na produção de leite e mudanças na composição do leite (SEEGERS et al., 2003).

A cultura microbiológica do leite de todos os quartos mamários das vacas em lactação, embora de custo mais elevado, permite definir com mais exatidão os agentes infecciosos prevalentes no rebanho. Dessa forma, medidas específicas de controle da mastite, direcionadas para o ambiente ou para higiene da ordenha, podem ser indicadas (BRAMLEY et al., 1996).

### 2.1.1 Micro-organismos causadores da mastite

Os micro-organismos causadores da mastite podem ser divididos em agentes ambientais ou contagiosos.

A mastite contagiosa possui grande importância na prevalência das infecções intramamárias em rebanhos leiteiros, devido à sua característica de se disseminar facilmente entre os animais através de fômites, como as mãos dos ordenhadores, panos de secagem de tetos e principalmente os insufladores dos equipamentos mecânicos de ordenha (BARRET, 2002).

Esse tipo de mastite geralmente manifesta-se sob a forma subclínica, deste modo, para a sua identificação há a necessidade de um diagnóstico específico (SANTOS; FONSECA, 2007).

De acordo com Santos e Fonseca (2007), as bactérias causadoras da mastite contagiosa incluem o *Staphylococcus aureus*, o *Streptococcus agalactiae* e o *Mycoplasma bovis*, os quais são considerados como patógenos principais e *Corynebacterium bovis*, como patógeno secundário.

Santos e Fonseca (2007) descreveram que os agentes mais frequentemente isolados da glândula mamária infectada são os *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium bovis*.

### **2.1.2 *Corynebacterium* sp. como agente causador de mastite**

*Corynebacterium bovis* é a principal espécie do gênero *Corynebacterium* sp. citada como um dos patógenos menores da glândula mamária. Alguns autores relataram que este agente provoca uma resposta inflamatória de baixa intensidade e não altera a composição e a produção do leite (BRAMLEY, 1975; SORDILLO et al., 1989).

Pankey et al (1985) e Sordillo et al (1989), afirmaram inclusive que o *C. bovis* poderia constituir um mecanismo de controle biológico das infecções mamárias, frente aos patógenos maiores, através da colonização do canal do teto e da cisterna.

Resultados de um estudo realizado por Black et al. (1972) mostraram que quartos mamários infectados por *Corynebacterium bovis* apresentaram uma taxa de invasão de patógenos da mastite significativamente menor que naqueles quartos sem a presença desse agente, estabelecendo a natureza protetora do *C. bovis*. Esse efeito protetor pode ser devido à ativação dos mecanismos de defesa do corpo

ou de um efeito direto sobre a habilidade de patógenos em passar através do canal do teto.

Já Oliveira et al. (2010) encontraram o fato de *Corynebacterium* spp. se mostrar sempre associado a outro micro-organismo, o que também foi observado em estudos anteriores de Costa et al. (1989) e Langoni et al. (1991). Isto contesta Black et al. (1972), citados anteriormente, que descreveram a possibilidade do *C. bovis* ter um papel de proteção contra a infecção da glândula mamária por outros agentes da mastite.

Hogan et al (1988) e Costa et al (1989), encontraram uma diminuição na produção de leite em mastites causadas pelo *C. bovis*. Além disso, a ocorrência sob a forma de surto e a capacidade de provocar mastite clínica persistente demonstra sua patogenicidade e o colocam como fator de risco para o desenvolvimento da pecuária leiteira (COSTA et al., 1989).

Cobb e Walley (1962) observaram nos EUA uma ocorrência de 32,16% de *C. bovis*, ao analisar 2772 amostras de leite. Black et al (1972), também nos EUA, verificaram em dois rebanhos 33,5% e 38,5% de quartos infectados por este micro-organismo.

Segundo Martins et al. (2010), em estudo realizado na cidade de Cuiabá (MT) verificando a prevalência e etiologia da mastite bovina, o *Corynebacterium* spp. foi o agente causal mais prevalente nas mastites subclínicas (27,6%) e nos casos de mastite clínica, a frequência de isolamento desse agente foi de 12%.

Embora o *S. aureus* seja apontado como o principal agente causador de mastites no Brasil e em outros países (LARANJA; MACHADO 1994; MENDONÇA et al., 1999; GIANNEECHINI et al., 2002; RIEKERINK et al., 2006), o estudo de Martins et al. (2010) evidenciou o *Corynebacterium* spp. como sendo o maior agente causador de mastite subclínica e o segundo mais prevalente entre os casos de mastite clínica no estado de Mato Grosso.

Diversos estudos encontraram que *C. bovis* e *Staphylococcus* spp. coagulase negativa, são as bactérias mais comumente isoladas de amostras de leite submetidas à identificação de patógenos causadores de infecção intramamária (WILSON et al., 1997; MAKOVEC e RUEGG, 2003; PITKALA et al., 2004). No entanto, estes estudos também mencionaram que, quando esses micro-organismos são isolados de amostras de leite, a CCS de quartos mamários individuais destas amostras é baixa na maioria das vezes.

De acordo com Santos e Fonseca (2007), *Corynebacterium bovis* é um agente isolado de bovinos, sendo um dos seus principais sítios, a glândula mamária. O canal do teto parece ser um local de ocorrência desse agente, ainda que a infecção possa se localizar na cisterna da glândula ou em outras partes do tecido mamário.

A infecção por *C. bovis* não costuma ir muito além do canal do teto (BLACK et al., 1972), já que esse é o seu local de colonização. Dessa forma, isso deve ser levado em conta ao interpretar os resultados dos exames bacteriológicos, pois o *C. bovis* pode apenas estar colonizando o canal do teto e não necessariamente causando uma infecção intramamária.

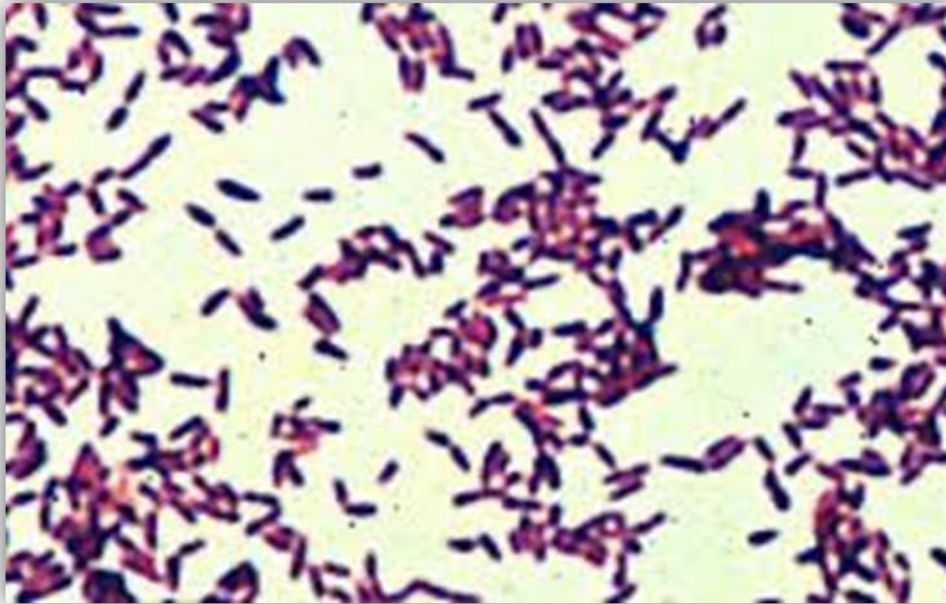
Segundo Huxley et al. (2003) *Corynebacterium bovis* causa primariamente infecções subclínicas e é considerado por alguns autores como um patógeno de significância limitada ou um micro-organismo comensal da glândula mamária. Entretanto a sua elevada prevalência em infecções intramamárias (BUENO et al., 2003; PITKALA et al., 2004) e a sua influência negativa na produção leiteira (ZAFALON et al., 1999), sugerem que talvez seja mais apropriado não considerá-lo um patógeno secundário.

*Corynebacterium bovis* é a espécie de *Corynebacterium* spp. mais frequentemente isolado de bovinos com infecção intramamária (PANKEY et al., 1985). A identificação das corinebactérias, isoladas de glândulas mamárias de bovinos, tem sido largamente baseada na morfologia da colônia, hemólise, e exigência de crescimento. Existem outras espécies de *Corynebacterium* spp., ditas não-lipofílicas, porém são encontrados com menor freqüência em leite mastítico e pouco se sabe sobre sua epidemiologia como agentes da mastite bovina (NMC, 2004).

O agente *C. bovis* quando cultivado em meios sólidos, forma colônias pequenas, brancas, secas, não hemolíticas que crescem na área gordurosa onde o leite foi inoculado, devido seu caráter lipofílico. São micro-organismos pleomórficos, gram-positivos com formato de bastonetes (Figura 2). Os esfregaços corados mostram com freqüência, grupamentos de células em paralelo (em paliçada) ou células de formato angular, semelhante à escrita chinesa (PICOLI et al., 2008).

A transmissão do *C. bovis* ocorre principalmente entre os animais durante a ordenha, caso esta operação não seja conduzida de forma higiênica. Além disso, uma elevada prevalência de infecções intramamárias por *C. bovis* é indicativo da

ausência ou ineficiência da desinfecção dos tetos após a ordenha, processo esse denominado pós-dipping (HALTIA et al., 2006). O pós-dipping previne eficientemente a infecção cruzada entre vacas, por eliminar, da superfície e do óstio distal do teto, os patógenos contagiosos que possam ter sido transferidos de animais contaminados para animais sadios durante a ordenha (HUXLEY et al., 2003).



Fonte: Disponível em: <http://es.wikipedia.org/wiki/Corynebacterium>

**Figura 2-** *Corynebacterium* sp. com formato de bastonetes Gram-positivos.

Segundo Santos e Fonseca (2007),

Estudos realizados em rebanhos que não aplicavam a desinfecção dos tetos após a ordenha demonstraram aumento da prevalência de *C. bovis*, em comparação com rebanhos com aplicação regular da desinfecção. Em muitos casos, pode-se estimar que a prevalência alta de *Corynebacterium bovis* é um indicador de deficiência de manejo de ordenha, em particular quanto ao pós-dipping.

Segundo Picoli et al. (2008), resultados de um estudo relacionando o isolamento de agentes causadores de infecções intramamárias em rebanhos do sul do Rio Grande do Sul com o manejo de ordenha, concluíram que em propriedades onde não são utilizadas práticas de manejo de ordenha e o uso de desinfetantes antes e após a ordenha, os níveis de infecção por *C. bovis* são comprovadamente mais elevados. Estes resultados concordam com Hillerton (1996), quando afirma que

a limpeza do teto é um ponto de partida, mas “limpeza bacteriana” não é necessariamente só a prevenção de sujeiras visíveis.

Oliveira et al. (2009) relataram uma prevalência de *Corynebacterium* spp. de 1,68% com associação do resultado ao uso de medidas adequadas de higienização dos tetos durante a coleta das amostras. Todavia, segundo Oliveira et al. (2010) e outros estudos, foram observadas frequências elevadas para esse agente, mesmo com a adoção de medidas de higienização dos tetos no momento das coletas, o que demonstra que outros fatores além da higienização dos tetos estão envolvidos nessa etiologia (ANDRADE et al.,1998; BARBALHO e MOTA, 2001; MARTINS et al., 2010).

A eficácia do pré e pós-dipping pode ser influenciada pelo tipo de anti-séptico, pela presença de matéria orgânica, pela falta de reposição do produto e pelo tipo de aplicador utilizado. O pré-dipping pode prevenir a contaminação do equipamento de ordenha por micro-organismos de origem ambiental encontrados na superfície do teto e o pós-dipping de micro-organismos adquiridos durante o processo de ordenha.

No estudo de Martins et al. (2010), mesmo todas as propriedades leiteiras analisadas realizando o pós-dipping, o *Corynebacterium* spp. foi isolado com uma frequência elevada.

Segundo Laranja e Machado (1994), essa prática muitas vezes não é realizada de forma correta pelos produtores, sendo comuns falhas devido à escolha de produtos inadequados, má aplicação, e descuido com a frequência de troca e remoção do produto. Portanto, a elevada ocorrência de *C. bovis*, bem como de outros patógenos contagiosos como o *S aureus*, deve-se a deficiência nas práticas de manejo, higiene nas propriedades, em especial durante a desinfecção dos tetos pós-ordenha. A baixa eficiência da técnica usando o spray para a antissepsia dos tetos depois da ordenha foi comprovada por Hillerton et al. (1995). Estes autores observaram um aumento significativo nas infecções por *C. bovis* mesmo usando um anti-séptico de comprovado poder bactericida.

Um plano para o controle de mastites, denominado Five Point Plain ou Programa de Cinco Pontos, é citado por BRADLEY (2002) como o principal responsável pelo controle bem-sucedido da mastite contagiosa no Reino Unido. Tal plano inclui o uso da desinfecção do teto após a ordenha, adoção da terapia da vaca seca em todo o rebanho, rápida identificação e tratamento das mastites clínicas,

descarte das vacas cronicamente afetadas e manutenção regular do equipamento de ordenha.

Mettifogo et al (1991) analisando a quantidade de células somáticas, em amostras de leite com isolamento de *C. bovis*, através da contagem microscópica, verificaram que 70,67% das amostras apresentaram contagem entre 500.000 a 3.880.000 células/mL, com a média de 1.032.420 células/mL. Essas contagens, inclusive, se aproximam das encontradas por Hogan et al (1988) em quartos infectados por patógenos maiores, como o *Staphylococcus* sp. (620.000 células/mL) e *Streptococcus* sp. (2.509.000 células/mL).

No estudo de Victória et al (2005) avaliando as alterações na contagem de células somáticas de amostras de leite provenientes de glândulas mamárias naturalmente infectadas pelo *Corynebacterium bovis*, foi verificado um aumento significativo na quantidade de células somáticas, indicando que o *Corynebacterium bovis* é um patógeno relevante nas mastites.



## CAPÍTULO III – ARTIGO

### **Prevalência de *Corynebacterium* sp. no leite de vacas, sua relação com o manejo de ordenha e contagem de células somáticas**

Prevalence of *Corynebacterium* sp. in the milk of cows, their relationship with milking practices and somatic cells count

**Dayane Dambrós<sup>\*a</sup>, Vagner Miranda Portes<sup>b</sup>, André Thaler Neto<sup>c</sup>, Adil Knackfuss Vaz<sup>d</sup>,  
Eliana Knackfuss Vaz<sup>c</sup>**

<sup>a</sup> Médica Veterinária, Mestranda em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina – CAV/UDESC, Av. Luiz de Camões 2090, 88520-000 Lages, SC, Brasil

<sup>b</sup> Pesquisador M.Sc. em Ciências Veterinárias da Epagri - Cepaf

<sup>c</sup> Professor (a) Doutor (a) do Centro de Ciência Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina – CAV/UDESC

<sup>d</sup> Research Professor Buffalo University NY

\*dayane.veterinaria@gmail.com

Artigo submetido para Ciência Rural

## RESUMO

A mastite bovina é a enfermidade que mais causa prejuízos na pecuária leiteira, reduzindo, significativamente, a produção e qualidade do leite. Um dos agentes causadores da mastite é o *Corynebacterium* sp., principalmente a espécie *Corynebacterium bovis*, porém seu papel na infecção intramamária ainda não é definido, pois alguns estudos consideram este agente, um patógeno menor da glândula mamária, sem causar alteração da produção e composição do leite, entretanto outros, constataam a grande capacidade do *Corynebacterium* sp. em causar mastite, colocando-o como um fator restritivo para o desenvolvimento da atividade leiteira. Conhecer o perfil microbiológico de amostras de leite, a ação específica dos agentes na glândula mamária e seu efeito na qualidade do leite, são de grande relevância em programas de controle da mastite. Este estudo teve como objetivos determinar a prevalência de *Corynebacterium* sp. no leite de vacas de rebanhos leiteiros localizados em cinco estados brasileiros e, correlacionar a presença deste agente com o manejo de ordenha dos rebanhos e com a contagem de células somáticas do leite do tanque e do leite individual das vacas. Foi realizado um estudo longitudinal, de janeiro de 2010 a julho de 2011, em rebanhos leiteiros localizados nos estados de SC, PR, RS, MG e PE, nos quais foram realizadas quatro coletas (semestrais) de amostras de leite em cada rebanho. Foi aplicado um questionário, em cada propriedade, para obter dados e informações sobre o manejo de ordenha dos rebanhos, como a desinfecção pré e pós-ordenha, secagem dos tetos, que possam influenciar na ocorrência de mastite por *Corynebacterium* sp. Do total de 4949 amostras de leite analisadas, submetidas a cultura microbiológica, 666 (13,46%) apresentaram isolamento de *Corynebacterium* sp. Minas Gerais foi o estado que apresentou a maior prevalência deste agente (21,07%) comparado aos demais estados. Os fatores de risco associados ao manejo de ordenha das propriedades, como a desinfecção dos tetos pré e pós-ordenha e o tratamento de vaca seca não apresentaram influência estatística significativa na prevalência de *Corynebacterium* sp. nas amostras de leite analisadas. O isolamento de *Corynebacterium* sp nas amostras de leite não afetou a CCS do leite do tanque dos rebanhos, porém no CMT, a presença deste agente causou variações no número de quartos positivos e no grau de escore no respectivo teste. Portanto, *Corynebacterium* sp. é um agente causador de mastite de grande relevância, não só pela frequência de isolamento observada no presente estudo, mas também pelo efeito no CMT individual das vacas e conseqüentemente na CCS do rebanho.

**Palavras-chave:** Mastite bovina, *Corynebacterium* sp., Contagem de células somáticas, Manejo de ordenha

## ABSTRACT

The bovine mastitis is a disease that causes more losses in dairy farming, significantly reducing the production and milk quality. A causative agent of mastitis is the *Corynebacterium* sp. , especially the specie *Corynebacterium bovis*, but their role in intramammary infection is not yet defined, since some studies consider this agent, a minor pathogen of the mammary gland, causing no change in production and composition milk, though others, realize the large capacity of *Corynebacterium* sp. in causing mastitis, placing it as a risk factor for the development of the activity. Meet the microbiological profile of milk samples, the specific action of the agents in the mammary gland and its effect on milk quality, are of great importance in mastitis control programs. This study aimed to determine the prevalence of *Corynebacterium* sp. n the milk of cows from dairy herds located in five Brazilian states and to correlate the presence of this agent with the management of the milking herd and the somatic cell count of bulk tank milk and milk of individual cows. We conducted a longitudinal study from January 2010 to July 2011, in dairy herds located in the states of SC, PR, RS, MG and PE, which were performed in four colletions (at six months intervals) of milk samples in each herd. A questionnaire was applied in each farm to obtain data and information on the practices of milking herds, such as teat disinfection and teat drying, which may influence the occurrence of mastitis by *Corynebacterium* sp. Of the 4949 milk samples analyzed, submitted to microbiological culture, 666 (13,46%) had isolation of *Corynebacterium* sp. Minas Gerais was the state with the highest pravelence off this agent (21,07%) compared to others states. Risk factors associated with the management of milking, such as teat disinfection before and after milking and dry cow treatment showed no statistically significant influence on the prevalence of *Corynebacterium* sp. in milk samples analyzed. The isolation of *Corynebacterium* sp. in milk samples did not affect the SCC of bulk tank milk of the herds, but in the CMT, the presence of this agent caused variations in the number of positive mammary quarters and the degree of score in their test. Therefore *Corynebacterium* sp. is a causative agent of mastitis of great relevance not only by the frequency of isolation observed in this study, but also by the effect of CMT in individual cows and consequently in the herd SCC.

**Key-words:** bovine mastitis, *Corynebacterium* sp., somatic cell count, milking practices

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da população humana e a melhoria de sua condição econômica têm levado a uma demanda crescente por alimentos, dentre eles, o leite e seus derivados. Porém um tema que vem preocupando muito profissionais e indústrias de laticínios é a qualidade do leite produzido no Brasil. Leite de baixa qualidade reflete uma menor eficiência na produção, representa um risco à saúde pública, inviabiliza a conquista de mercados internacionais e compromete a credibilidade da cadeia láctea como um todo (DURR, 2005).

Um dos grandes problemas que vem sendo enfrentado, visando à qualidade do leite, é a mastite. A mastite é a inflamação da glândula mamária e constitui a enfermidade que mais causa prejuízos econômicos na pecuária leiteira, considerando a redução na produção de leite o fator mais importante de suas perdas (PHILPOT; NICKERSON, 2002).

As principais causas da mastite são infecciosas, decorrentes de uma variedade de agentes, incluindo leveduras, fungos e algas, mas a maioria das infecções é causada por bactérias (SANTOS; FONSECA, 2007).

Diante da grande variedade de patógenos causadores da mastite, o exame microbiológico de amostras de leite coletadas assepticamente é considerado o método padrão para determinação da saúde do úbere e para diagnóstico da mastite (RADOSTITIS et al., 1994). A cultura do leite de todos os quartos mamários das vacas em lactação, embora de custo mais elevado, permite definir com mais exatidão os agentes infecciosos prevalentes no rebanho. Dessa forma, medidas específicas de controle da mastite, direcionadas para o ambiente ou para higiene da ordenha, podem ser indicadas (BRAMLEY et al., 1996).

Os micro-organismos causadores da mastite podem ser divididos em agentes ambientais ou contagiosos, sendo a mastite contagiosa de grande importância na prevalência das infecções intramamárias em rebanhos leiteiros. De acordo com Santos e Fonseca (2007), as bactérias causadoras da mastite contagiosa incluem *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Mycoplasma bovis*, os quais são considerados como patógenos principais e *Corynebacterium bovis*, como patógeno secundário.

Embora o *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) seja considerado um patógeno secundário da mastite, o seu papel na infecção intramamária ainda é controverso.

Estudos anteriores (HOGAN et al., 1988; COSTA et al., 1989) mostraram uma diminuição na produção de leite em mastites causadas por *C. bovis*, porém em outros trabalhos (WILSON et al., 1997; MAKOVEC e RUEGG, 2003; PITKALA et al., 2004), apesar do *C. bovis* ser um dos agentes mais comumente isolados de amostras de leite, a contagem de células somáticas de quartos mamários individuais destas amostras, na maioria das vezes, é baixa.

A transmissão de *C. bovis* ocorre principalmente entre os animais durante a ordenha, caso esta operação não seja conduzida de forma higiênica. Segundo estudos de Haltia et al. (2006), foi verificado uma elevada prevalência de infecções intramamárias por *C. bovis* quando da ausência ou ineficiência da desinfecção dos tetos após a ordenha.

A partir disso, o objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de *Corynebacterium* sp. na glândula mamária de vacas leiteiras e relacionar a presença deste agente às condições de manejo de ordenha nas propriedades e à contagem de células somáticas individuais das vacas e do tanque de refrigeração.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, CETEA (ANEXO A), do Centro de Ciências Agroveterinárias - UDESC, protocolado sob o número 1.34.09.

### **2.1 Delineamento experimental**

Foi realizado um estudo longitudinal em rebanhos leiteiros localizados nos estados de SC, PR, RS, MG e PE. Em cada estado, os rebanhos foram selecionados aleatoriamente através de um sorteio realizado no programa Microsoft Excel, totalizando 85 rebanhos. O estudo foi conduzido de janeiro de 2010 a julho de 2011, sendo realizadas quatro coletas (semestrais) de amostras de leite de cada rebanho. No entanto, em alguns rebanhos não foi possível a realização de todas as coletas.

O número de amostras de leite coletadas por rebanho variou de acordo com o número de vacas em lactação. Em propriedades com até 30 animais em lactação, foram coletadas amostras de todas as vacas em lactação e em propriedades com

mais de 30 animais em lactação, foram coletadas amostras de pelo menos 30 vacas, escolhidas de forma aleatória.

## 2.2 Coleta das amostras

Cada Estado tinha uma equipe responsável pelas coletas de amostras de leite e análises laboratoriais. O estado de Santa Catarina teve como laboratório responsável, o Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal – CEDIMA (CAV/UDESC). As coletas e análises laboratoriais foram padronizadas em todos os laboratórios participantes.

Foram coletadas amostras de leite dos animais, composta dos quatro quartos mamários, para análise microbiológica. As amostras de leite foram obtidas após lavar os tetos com água, retirar os três primeiros jatos e realizar cuidadosa antisepsia da extremidade dos tetos com álcool a 70%. A coleta foi realizada diretamente em frascos de plástico estéreis com tampa, previamente identificado com o número do animal. O material amostrado foi imediatamente acondicionado em caixas isotérmicas com gelo reciclável e posteriormente congeladas e encaminhadas ao laboratório de seu Estado (Figura 3).

## 2.3 Realização do *California Mastitis Test* – CMT

Nos rebanhos leiteiros do estado de SC foi realizado o *California Mastitis Test* (CMT) para estimar o número de células somáticas no leite dos animais amostrados. O resultado foi avaliado em função do grau de viscosidade da mistura de partes iguais de leite e reagente (Figura 4). Os resultados do CMT foram expressos em cinco escores classificados em: negativo, traços, +, ++, +++ (PHILPOT; NICKERSON, 1991).



**Figura 3-** a) Coleta de amostra de leite assepticamente; b) Amostras e leite acondicionadas em caixa isotérmica com gelo reciclável.



Figura 4 - Realização do *California Mastitis Test* (CMT), 2010.

#### 2.4 Aplicação de questionário nas propriedades leiteiras

Foi aplicado um questionário (ANEXO B) aos produtores ou responsáveis pelos rebanhos com o intuito de obter informações sobre manejo e cuidados higiênicos durante a ordenha, que visam o controle e prevenção da mastite como, o tipo de ordenha, exame dos primeiros jatos, lavagem e secagem dos tetos, desinfecção dos tetos antes e após a ordenha, tratamento dos casos clínicos e o tratamento de vacas secas.

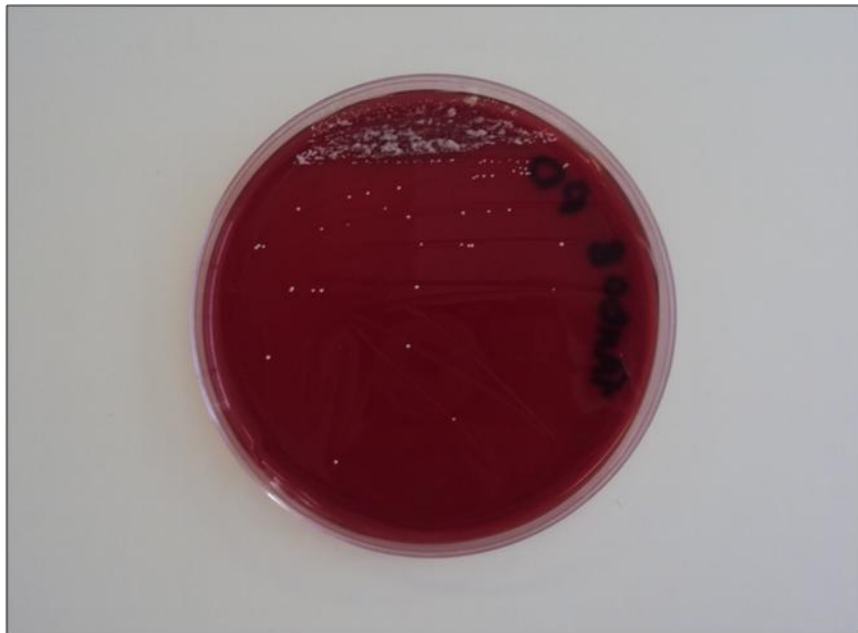
Nos rebanhos do estado de SC foram obtidos dados de CCS do leite do tanque de cada rebanho e calculou-se a média geométrica da CCS de três meses consecutivos, anteriores a cada coleta.

#### 2.5 Análises Laboratoriais

Primeiramente as amostras foram descongeladas, homogeneizadas e foi realizada a sementeira de uma alíquota de 10 $\mu$ L de leite de cada amostra, com alça descartável calibrada, em placas de Ágar-sangue. Após a inoculação das amostras

de leite, as placas foram incubadas em estufa à 37°C por 24 a 48 horas, tempo máximo para o diagnóstico final. Em seguida, as amostras que apresentaram crescimento foram transferidas para um subcultivo em ágar TSA ou BHI, a partir do qual foram realizados os esfregaços corados pelo método de Gram, para verificação da morfologia e coloração do micro-organismo, após um período mínimo de 18 horas de incubação. Posteriormente à coloração de Gram, os micro-organismos foram identificados seguindo as recomendações do *National Mastitis Council* (NMC, 2004).

Foi classificado como *Corynebacterium* sp., o micro-organismo que apresentou em sua morfologia características de colônias pequenas, brancas, secas, não hemolíticas, com crescimento de colônias agrupadas na porção onde a gordura do leite estava concentrada, após 48 horas de incubação (Figura 5). Nos esfregaços corados, o micro-organismo apresentou formato de bastonetes Gram-positivos e no teste da catalase, observou-se a formação de bolhas indicando reação positiva (NMC, 2004). Além da morfologia foi levado em consideração o número de colônias, sendo classificadas como positivas para isolamento de *Corynebacterium* sp., apenas as amostras que apresentaram mais de dez colônias do agente no exame bacteriológico.



**Figura 5-** Cultura de *Corynebacterium* sp. em 48 horas de incubação em placa de ágar-sangue.



## 2.6 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada considerando os dados de campo, obtidos através da aplicação dos questionários e, os resultados das análises laboratoriais que determinaram a prevalência de *Corynebacterium* sp. e dos principais agentes causadores da mastite (*Staphylococcus* sp. coagulase positiva e *Streptococcus agalactiae*) nos rebanhos leiteiros de cada estado.

Os dados foram submetidos a análise de variância, utilizando-se o procedimento GML – Genera Linear Models do SAS, investigando quais das variáveis presentes no questionário, são fatores de risco potenciais para a ocorrência de infecção intramamária causada por *Corynebacterium* sp.

A investigação da relação da CCS do leite dos tanques, de rebanhos leiteiros do estado de Santa Catarina, com a presença de *Corynebacterium* sp. nas amostras de leite foi realizada utilizando-se a análise de Regressão Linear Simples.

A determinação da relação do teste CMT de amostras de leite individuais, com a presença ou não de infecção intramamária e de acordo com o agente causador da mastite, foi através do teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ), do pacote estatístico SAS.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Prevalência de *Corynebacterium* sp nos rebanhos leiteiros

Do total de 4949 amostras de leite procedentes de rebanhos leiteiros dos cinco estados brasileiros estudados, submetidas a cultura microbiológica, 666 (13,46%) amostras apresentaram isolamento de *Corynebacterium* sp.

A prevalência geral de *Corynebacterium* sp. foi menos frequente que a prevalência de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva, porém maior que a prevalência de *Streptococcus agalactiae*, considerados os principais agentes causadores da mastite.

De acordo com os resultados da tabela 1, a prevalência de *Corynebacterium* sp. no estado de MG (21,07%) apresentou diferença significativa em relação às prevalências nos demais estados do sul do Brasil.

**Tabela 1-** Prevalência de *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp. coagulase positiva e *Streptococcus agalactiae* em 4949 amostras de leite analisadas, 2010 – 2011.

Estado	Total de rebanhos	Total de Amostras	Percentual (%)		
			DIPT <sup>1</sup>	STACP <sup>2</sup>	STRAG <sup>3</sup>
SC	15	978	10,33%b	11,66%a	1,94%
PR	23	768	9,63%b	25,39%a	2,21%
RS	21	1036	6,18%b	16,31%a	0,96%
MG	11	1172	21,07%a	23,12%a	23,29%
PE	15	995	18,09%ab	23,92%a	6,13%
Total	85	4949	13,46%	19,94%	7,68%

<sup>1</sup> *Corynebacterium* sp.; <sup>2</sup> *Staphylococcus* sp. coagulase positiva (incluindo o *Staphylococcus aureus*); <sup>3</sup> *Streptococcus agalactiae*

Pode-se observar também, que as prevalências de *Corynebacterium* sp. nos estados de SC, MG e PE encontraram-se próximas as prevalências de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva nas amostras de leite dos referentes estados. Ainda, os resultados mostraram prevalências de *Corynebacterium* sp. maiores que as prevalências de *Streptococcus agalactiae*, em todos os estados, exceto MG.

Segundo Santos e Fonseca (2007), em se tratando de mastite contagiosa, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* são considerados patógenos principais e *Corynebacterium bovis*, um patógeno secundário.

A prevalência de *Corynebacterium* sp., semelhante ou maior que as prevalências dos patógenos principais da mastite contagiosa, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, respectivamente, sugerem que talvez o *Corynebacterium* sp. não deva ser considerado um patógeno secundário.

Estudos anteriores (PITKALA et al., 2004; SANTOS e FONSECA, 2007; MARTINS et al., 2010) relataram uma frequência crescente de isolamento de *Corynebacterium* sp. nas amostras de leite de rebanhos leiteiros, especialmente a espécie *Corynebacterium bovis*, assim como observado no presente estudo, porém seu papel na infecção intramamária ainda não é definido (COSTA et al., 1989; SORDILLO et al., 1989; ZAFALON et al., 1999).

### 3.2 Fatores de risco associados a prevalência de *Corynebacterium* sp.

As variáveis, características e manejo dos rebanhos leiteiros, obtidas através da aplicação dos questionários estão dispostas na tabela 2.

**Tabela 2-** Percentual relacionado a características de manejo e cuidados higiênicos durante a ordenha de rebanhos leiteiros dos cinco estados estudados, 2010-2011.

Variáveis		SC	PR	RS	MG	PE
Ordenha	Mecânica	100,00%	73,19%	100,00%	81,82%	73.33%
Teste da caneca telada	Sim	86.67%	21.74%	80.95%	54.54%	40.00%
	sim	86.67%	95.65%	95.24%	63.64%	33.34%
Lavagem dos tetos	Não	0.00%	0.00%	4.76%	27.27%	33.34%
	quando necessário	13.33%	4.35%	0.00%	9.09%	33.34%
Pré-dipping	Sim	46.67%	86.96%	85.71%	63.64%	73.34%
Secagem dos tetos	papel toalha	86.66%	13.04%	4.76%	81.82%	73.34%
	pano comum	6.67%	73.91%	66.67%	9.09%	6.66%
	não seca	6.67%	13.04%	28.57%	9.09%	20.00%
Pós-dipping	Sim	93.33%	34.78%	52.38%	54.54%	66.67%
Tratamento vaca seca	todas as vacas	26.67%	34.78%	52.38%	54.54%	66.67%
	parte das vacas	33.33%	17.39%	33.34%	0.00%	20.00%
	não realize	40.00%	47.83%	14.28%	45.46%	13.33%
Tratamento imediato casos clínicos	todas as vacas	80.00%	86.61%	100.00%	63.64%	80.00%

Nos procedimentos e cuidados higiênicos ligados ao controle e prevenção de novas infecções intramamárias, os resultados mostraram que mais de 80,00% dos rebanhos dos estados do SC e RS realizavam o teste da caneca telada. O estado do PR não realizava esse procedimento em 78,26% (18/23) dos rebanhos estudados. Práticas como a lavagem dos tetos não era realizado em 27,27% (3/11) dos rebanhos de MG e 33,34% (5/15) dos rebanhos de PE, sendo que os demais estados realizavam essa prática em uma média de 90,00% de seus rebanhos. Esse evento pode ser responsável pela maior prevalência de *Corynebacterium* sp. nos rebanhos desses estados.

O pré-dipping era realizado em aproximadamente 85,00% dos rebanhos do PR e RS, os quais foram os estados com as menores prevalências de *Corynebacterium* sp., 9,63% e 6,18%, respectivamente. Em contrapartida, apenas 13,04% (3/23) e 4,76% (1/21) desses rebanhos respectivamente, utilizavam papel

toalha para a secagem dos tetos, o que possivelmente descarta a influência do seu uso na prevalência de infecções por *Corynebacterium* sp.

O procedimento de desinfecção dos tetos após a ordenha era realizado em 93,33% (14/15) dos rebanhos de SC, mas 65,22% (15/23) dos rebanhos do PR não o realizavam. Falhas na realização de práticas como o pós-dipping influenciam, de maneira desfavorável, o controle de infecções por patógenos contagiosos da mastite, incluindo o *Corynebacterium* sp. Apesar de 65,22% (15/23) dos rebanhos do PR não realizarem o pós-dipping, a prevalência de *Corynebacterium* sp. nesses rebanhos foi baixa (9,63%) quando comparada ao percentual de isolamento de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva (25,39%).

O tratamento de vacas secas não era realizado em 45,46% (5/11) dos rebanhos de MG, estado que apresentou a maior prevalência de *Corynebacterium* sp. Porém aproximadamente metade dos rebanhos do PR também não realizava esse procedimento e mesmo assim, o percentual de isolamento de *Corynebacterium* sp. foi baixo, comparado ao percentual de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva isolado das amostras dos rebanhos desse estado.

Um percentual de 27,27% (3/11) dos rebanhos de MG não realizava o tratamento imediato dos casos clínicos e 100,00% dos rebanhos do RS incluíam esse procedimento no manejo da propriedade. Esses estados, foram os que apresentaram a maior e a menor prevalência de *Corynebacterium* sp., respectivamente.

Os possíveis fatores de risco presentes nos questionários, não apresentaram influência significativa na prevalência de *Corynebacterium* sp., isolado das amostras de leite dos respectivos rebanhos, exceto a variável *Estado*. Os resultados estão apresentados na tabela 3.

**Tabela 3** – Fatores de risco associados ao percentual de amostras com isolamento de *Corynebacterium* sp.

Variáveis de exposição	Descrição (número de categorias)	p-valor
Estado	Estado onde as coletas foram realizadas (5)	<0,0001
Coleta	Número de coletas (4)	0,1628
Teste da caneca telada	Sim ou não (2)	0,2227
Pós-dipping	Sim ou não (2)	0,9225
Tratamento imediato	Sim ou não (2)	0,3722
Tratamento de vaca seca	Todas as vacas, parte das vacas ou não realizava (3)	0,9902
Preparação da ordenha	Lavar, lavar e secar, pré-dipping ou nada (4)	0,2731

Como descrito anteriormente, a prevalência de *Corynebacterium* sp. no estado de MG foi significativamente diferente dos demais estados. A elevada prevalência, não só de *Corynebacterium* sp. como também de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva e *Streptococcus agalactiae*, pode ter ocorrido pela ausência de práticas adequadas de manejo como o pós-dipping e o tratamento de vaca seca, em 45,46% (5/11) dos rebanhos de MG.

Segundo Haltia et al. (2006) uma elevada prevalência de infecções intramamárias causados por *Corynebacterium bovis* é indicativo da ausência ou ineficiência da desinfecção dos tetos após ordenha.

Este estudo apoia os resultados de Martins et al. (2010), afirmando que mesmo em propriedades leiteiras onde era realizado o pós-dipping, *Corynebacterium* sp. foi isolado de amostras de leite, como observado nos rebanhos de SC o qual 93,33% (14/15) dos rebanhos realizavam o pós-dipping e mesmo assim foi encontrada a presença de *Corynebacterium* sp. nesses rebanhos. Uma possível explicação para isso é que a utilização da desinfecção dos tetos após a ordenha pode ter sido realizada de maneira incorreta.

A eficácia, não só da desinfecção dos tetos após a ordenha, como também da desinfecção antes da ordenha (pré-dipping), pode ser influenciada pelo tipo de anti-séptico, presença de matéria orgânica, falta de reposição do produto e pelo tipo de aplicador utilizado.

Segundo Oliveira et al. (2010) mesmo com a adoção de medidas de higienização dos tetos, as frequências de isolamento de *Corynebacterium* sp. foram elevadas, demonstrando que outros fatores podem estar envolvidos nessa etiologia. Estes resultados não foram confirmados pelo presente estudo, pois as demais variáveis explanatórias como, o teste da canela telada, lavagem e secagem dos tetos, não apresentaram influência estatística significativa sobre a presença de *Corynebacterium* sp. No entanto, como mencionado anteriormente, o percentual de rebanhos de MG e PE que não realizavam a lavagem dos tetos foi alto, comparado aos demais estados, o que pode ter influenciado na maior prevalência de *Corynebacterium* sp. observada nesses estados.

A análise dos fatores de risco, associadas ao percentual de isolamento de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva, mostraram influência significativa nas variáveis *Estado* e *Coleta*. A mesma análise, porém associada ao percentual de

agentes contagiosos em conjunto (*Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp. coagulase positiva e *Streptococcus agalactiae*) demonstrou influência significativa tanto nas variáveis *Estado* e *Coleta*, como também na variável *Tratamento de vaca seca*. Os resultados estão descritos nas tabelas 4 e 5.

O fator de risco, *Tratamento de vaca seca*, apresentou influência significativa no percentual de agentes contagiosos em conjunto, pois apesar dos *Staphylococcus* spp., principalmente a espécie *Staphylococcus aureus* não apresentar taxa de cura tão alta quando utilizado esta prática nos rebanhos leiteiros, *Streptococcus agalactiae* é mais facilmente combatido, o que está diretamente ligado a sua localização exclusivamente intramamária e sua susceptibilidade à ação de antimicrobianos no período seco. Isto pode justificar a influência da terapia da vaca seca no percentual dos agentes contagiosos em conjunto.

**Tabela 4-** Fatores de risco associados ao percentual de amostras com isolamento de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva.

Variáveis de exposição	Descrição (número de categorias)	p-valor
Estado	Estado onde as coletas foram realizadas (5)	0,0011
Coleta	Número de coletas (4)	0,0059
Teste da caneca telada	Sim ou não (2)	0,9190
Pós-dipping	Sim ou não (2)	0,9731
Tratamento imediato	Sim ou não (2)	0,3306
Tratamento de vaca seca	Todas as vacas, parte das vacas ou não realizava (3)	0,0860
Preparação da ordenha	Lavar, lavar e secar, pré-dipping ou nada (4)	0,9230

**Tabela 5 –** Fatores de risco associados ao percentual de amostras com isolamento dos agentes contagiosos em conjunto.

Variáveis de exposição	Descrição (número de categorias)	p-valor
Estado	Estado onde as coletas foram realizadas (5)	<0,0001
Coleta	Número de coletas (4)	<0,0001
Teste da caneca telada	Sim ou não (2)	0,3439
Pós-dipping	Sim ou não (2)	0,4865
Tratamento imediato	Sim ou não (2)	0,2296
Tratamento de vaca seca	Todas as vacas, parte das vacas ou não realizava (3)	0,0358
Preparação da ordenha	Lavar, lavar e secar, pré-dipping ou nada (4)	0,8691

O tratamento de vaca seca, também conhecido como terapia da vaca seca, é a estratégia mais importante e eficaz no controle da mastite durante o período seco (SANTOS e FONSECA, 2007). Essa medida é adequada para a eliminação de

infecções subclínicas existentes, já que o tratamento durante a lactação tem taxa de cura muito baixa.

O estado de MG apresentou um grande percentual de rebanhos que não realizavam o tratamento de vaca seca (45,46%), e isto pode estar diretamente relacionado a elevada prevalência dos agentes contagiosos em conjunto nesses rebanhos (*Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp. coagulase positiva e *Streptococcus agalactiae*).

### 3.3 Influência de *Corynebacterium* sp. e dos principais agentes da mastite na CCS do leite do tanque e no CMT individual das vacas

O ECS é adotado em vários países como forma de expressar a CCS no leite e seu uso, facilita a interpretação dos resultados uma vez que a cada aumento de 1 (um) escore linear a CCS é dobrada (NMC,1996).

As variáveis referentes ao percentual de amostras com isolamento de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva e dos agentes contagiosos em conjunto foram significativas, conforme a tabela 6.

**Tabela 6-** Variáveis associadas ao escore de células somáticas (ECS)

Variáveis explanatórias	p-valor
Percentual de amostras com isolamento de <i>Corynebacterium</i> sp.	0,6423
Percentual de amostras com isolamento de <i>Staphylococcus</i> sp. coagulase positiva	0,0122
Percentual de amostras com isolamento de <i>Streptococcus agalactiae</i>	0,0698
Percentual de amostras com isolamento dos agentes contagiosos em conjunto	0,0134

De acordo com os resultados da tabela 6, observa-se que o percentual de amostras com isolamento de *Corynebacterium* sp. não influenciaram no ECS e conseqüentemente, na CCS do leite do tanque. Todavia, amostras com isolamento de *Staphylococcus* sp. coagulase positiva e dos agentes contagiosos em conjunto (*Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp. coagulase positivo, *Streptococcus agalactiae*) afetaram significativamente o ECS.

Schreiner e Ruegg (2003) encontraram correlação significativa entre elevada CCS e o isolamento de patógenos contagiosos. A CCS aumenta à medida que a prevalência dos principais patógenos contagiosos causadores de mastite aumenta, resultado bastante semelhante ao presente estudo.

Mastites causadas por patógenos principais como *S. aureus* e *S. agalactiae* resultam em grandes variações na composição do leite e na CCS (HARMON, 1994). Wilson et al. (1997) verificaram que a CCS média para animais com isolamento de *S. aureus* e *S. agalactiae* foi de 440.000 e de 640.000 células/mL, respectivamente.

O fato de rebanhos com elevadas CCS apresentarem crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, demonstra a importância desses agentes contagiosos na ocorrência de mastite subclínica com elevadas CCS, individual e do tanque de refrigeração, devido às extensas lesões do epitélio secretor e conseqüente resposta celular.

No presente estudo, as amostras com isolamento de *Streptococcus agalactiae* não apresentaram influência significativa no ECS, porém esse resultado pode ter ocorrido devido ao baixo percentual de isolamento deste agente nas amostras de leite analisadas.

Além disso, foi avaliado o CMT individual das vacas de rebanhos leiteiros do estado de Santa Catarina, relacionando-o com a presença ou não de crescimento bacteriano nas amostras de leite analisadas e, em função do agente causador isolado dessas amostras.

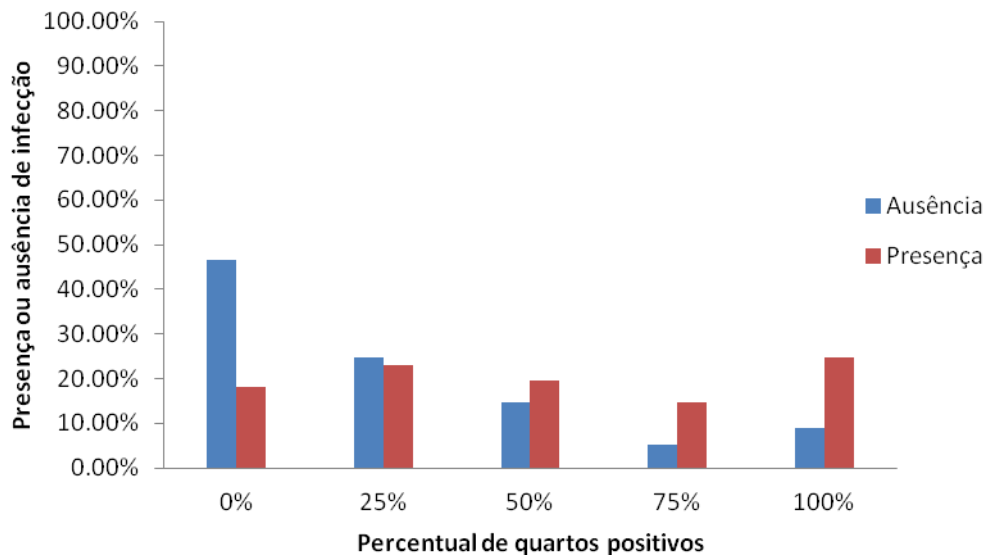
O CMT é um teste bastante prático para diagnóstico da mastite subclínica, e seu princípio baseia-se na estimativa da CCS do leite (SANTOS; FONSECA, 2007).

A presença ou ausência de crescimento bacteriano nas amostras de leite, de rebanhos leiteiros do estado de Santa Catarina, apresentou influência no percentual de quartos mamários positivos no teste CMT.

Pode-se observar que 46,70% das amostras com ausência de crescimento bacteriano, apresentaram todos os quartos mamários negativos no CMT, enquanto que apenas 8,80% das amostras foram obtidas de vacas com todos os quartos mamários positivos.

O percentual de amostras com presença de crescimento bacteriano apresentou variações no CMT, apontando percentuais de 18,14% das amostras sem quartos positivos e 24,78% com os quatro quartos mamários positivos no CMT. Esta variação do percentual de quartos mamários positivos, em amostras com crescimento bacteriano pode ser explicada pelo efeito específico de cada agente causador de mastite, na variação da CCS no leite. Os resultados descritos acima estão dispostos no gráfico 1.





**Gráfico 1** – Percentual de quartos mamários positivos no CMT associado à presença ou ausência de infecção nas amostras de leite analisadas, 2010 – 2011.

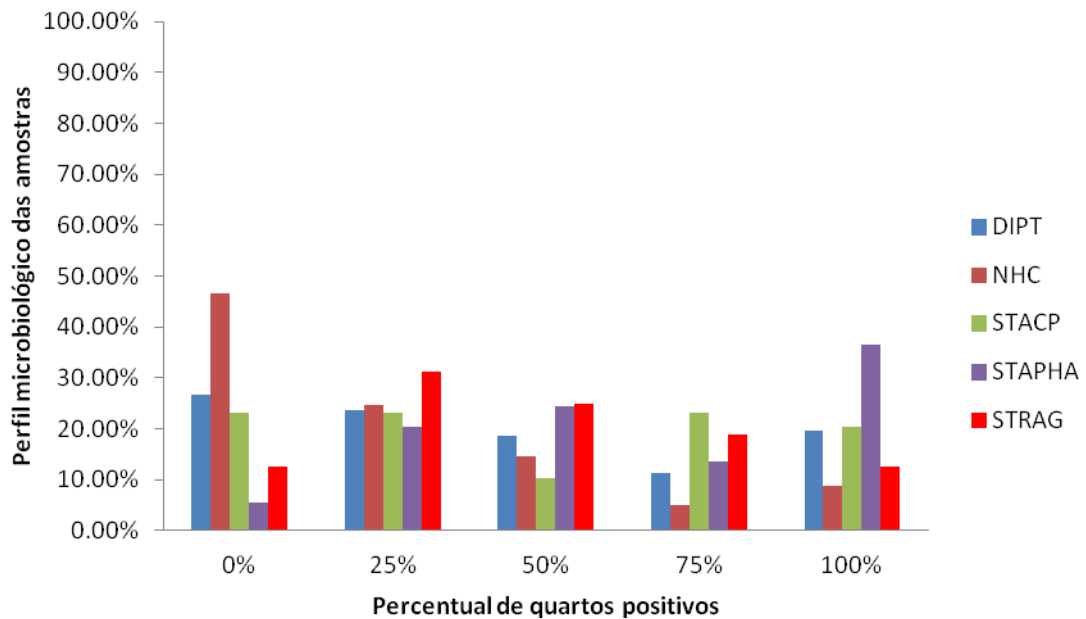
Vários fatores podem influenciar a variação da CCS de vacas em lactação, como a idade, ordem de parto, período de lactação, mês e estação do ano, entre outros, porém o estado de infecção é o principal fator responsável pela variação da CCS (HARMON, 1994). Dessa forma, o percentual de amostras com ausência de crescimento bacteriano e que apresentaram quartos positivos no CMT, possivelmente foi em decorrência de fatores individuais do animal, como idade, período de lactação, etc.

Nos estudos de Mendes et al. (2010) foi verificado que parte dos animais que apresentavam CCS alta, resultados positivos no CMT e ausência de isolamento bacteriano, encontravam-se nos estágios iniciais de lactação. Esses resultados concordam com o presente estudo, no entanto não foi possível identificar quais fatores individuais influenciaram no percentual de quartos mamários positivos, nas amostras sem crescimento bacteriano.

O percentual de quartos mamários positivos no CMT sofreu influência significativa dos diferentes agentes causadores de mastite, isolados das amostras de leite de rebanhos leiteiros do estado de Santa Catarina.

Foi observado que amostras com crescimento de *Corynebacterium* sp. (DIPT) apresentaram grandes variações quanto ao percentual de quartos mamários positivos, no qual 26,80% das amostras apresentaram todos os quartos negativos no CMT; 23,71% das amostras apresentaram um quarto positivo; 18,56% das amostras

apontaram dois quartos mamários positivos; 11,34% apresentaram três quartos positivos e 19,59% das amostras com crescimento de *Corynebacterium* sp. apresentaram no CMT, todos os quartos mamários positivos. Os resultados da associação do CMT, em função do agente causador encontram-se no gráfico 2.



Legenda: DITP: *Corynebacterium* sp.; NHC: não houve crescimento; STACP: *Staphylococcus* sp. coagulase positiva; STAPHA: *Staphylococcus aureus*; STRAG: *Streptococcus agalactiae*;

**Gráfico 2** – Percentual de quartos mamários positivos no CMT associado ao perfil microbiológico das amostras de leite analisadas, 2010 – 2011.

O tipo de patógeno causador de mastite tem impacto sobre a curva de CCS ao longo da lactação. Em lactações sem a ocorrência de mastite clínica ou subclínica, a curva da CCS normal é descrita da seguinte forma: após o parto, a CCS é mais elevada, diminuindo para um nível mais baixo aos 50 dias de lactação, ocorrendo então um leve aumento da CCS ao fim da lactação, dentro dos limites normais. No entanto, quando ocorre uma nova infecção intramamária, o efeito específico do agente causador da mastite sobre a curva da CCS é bastante diferente (SANTOS e FONSECA, 2007).

Estudos de Brito et al. (1999) mostraram grandes variações da CCS e de percentuais de quartos mamários com CMT positivo em função dos agentes isolados, e o efeito específico de patógenos na variação da CCS pode ser usado em programas de controle da mastite (HAAS et al., 2002).

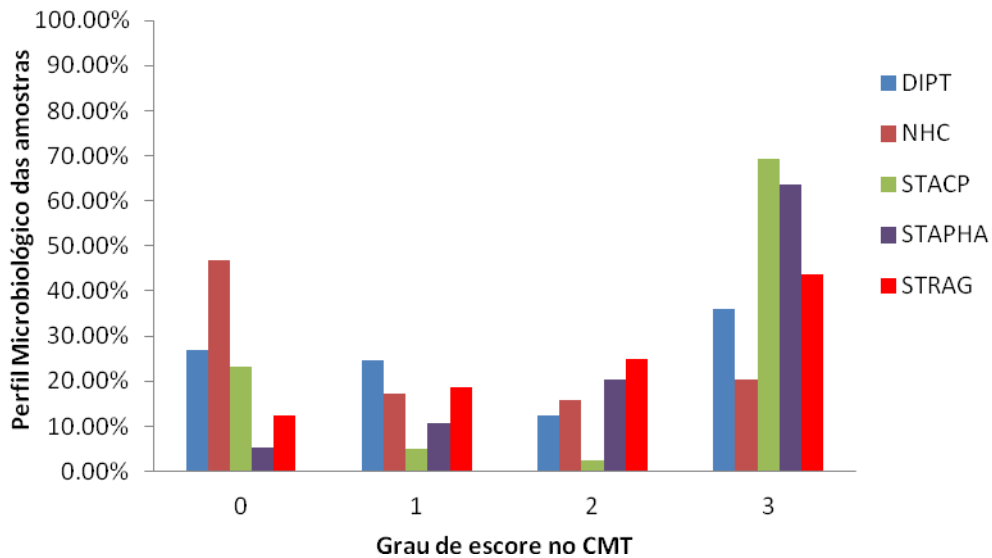
Nos resultados de Souza et al. (2009), a respeito das estatísticas descritivas da CCS de amostras com isolamento de *Staphylococcus* sp. coagulase negativa e *Corynebacterium* sp., foi observado um discreto aumento na CCS em relação aos que não apresentaram crescimento bacteriano.

O presente estudo revelou que 26,80% das amostras com crescimento de *Corynebacterium* sp. (DIPT) apresentaram quartos mamários negativos no CMT, enquanto que um dos principais patógenos da mastite, como *Staphylococcus aureus* (STAPHA), predominaram principalmente em amostras com reação inflamatória nos quatro quartos mamários (36,49%). Estes resultados concordam com os de Brito et al. (1999), que encontraram um maior número de isolamento de *Corynebacterium* sp. em quartos mamários negativos, porém não se pode excluir o fato de que a presença deste agente nas amostras de leite também causaram reação positiva no CMT semelhante até mesmo ao gênero *Staphylococcus* sp. coagulase positiva.

O escore no CMT em função dos agentes causadores de mastite, isolados das amostras de leite analisadas, mostrou influência significativa. Como esperado, um maior número de amostras sem crescimento bacteriano (NHC) apresentaram escore negativo no CMT, porém houve um percentual de amostras que também apresentaram escores 1, 2 e 3 no CMT.

Os resultados indicaram que houve variações no grau de escore no CMT em amostras com crescimento de *Corynebacterium* sp. (DIPT), desde amostras com escore negativo (0) até escore 3. Observou-se que 26,08% das amostras com crescimento de *Corynebacterium* sp. apresentaram escore negativo no CMT, enquanto que 36,08% das amostras mostraram escore 3. Estes resultados estão apresentados no gráfico 3.

O maior percentual de amostras com isolamento de *Corynebacterium* sp. mostrou uma resposta inflamatória mais intensa (escore 3), quando realizado o CMT nas mesmas. Esses resultados não condizem com estudos anteriores (WILSON et al., 1997; MAKOVEC e RUEGG, 2003; PITKALA et al., 2004) que mencionaram o fato que quando *Corynebacterium* sp. é isolado de amostras de leite, a CCS dos quartos mamários individuais destas amostras é baixa na maioria das vezes, assim como são para as amostras com isolamento de *Staphylococcus* sp. coagulase negativa, com médias de CCS de 150.000 e 170.000 células/mL, respectivamente.



Legenda: DITP: *Corynebacterium* sp.; NHC: não houve crescimento; STACP: *Staphylococcus* sp. coagulase positiva; STAPHA: *Staphylococcus aureus*; STRAG: *Streptococcus agalactiae*.

**Gráfico 3** – Percentual de escore no CMT associado ao tipo de agente bacteriano isolado de amostras de leite analisadas, 2010 – 2011.

Comparando *Corynebacterium* sp. (DIPT) aos principais agentes da mastite, *Staphylococcus aureus* (STAPHA) e *Streptococcus agalactiae* (STRAG) é possível observar que estes agentes mostraram maior número de amostras com escore 3 no CMT. Porém quando comparamos com amostras sem crescimento bacteriano (NHC), observa-se que o percentual de amostras com crescimento de *Corynebacterium* sp. foi maior com escore 3 no CMT. Isso deve ser levado em consideração, pois apesar de existirem fatores individuais que estejam influenciando na elevação do escore no CMT, a presença de infecção por *Corynebacterium* sp. causa uma resposta celular, mesmo que de caráter moderado, comparado a amostras sem crescimento bacteriano. Essa resposta celular moderada pode afetar significativamente a CCS do rebanho e por consequência a qualidade do leite.

## 4 CONCLUSÃO

A prevalência geral de *Corynebacterium* sp. nos rebanhos leiteiros dos cinco estados brasileiros estudados, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná, Minas Gerais e Pernambuco foi de 13,46%

Os rebanhos amostrados em Minas Gerais apresentou prevalência significativamente maior de *Corynebacterium* sp. em relação aos demais.

*Corynebacterium* sp. não apresentou relação com as práticas de manejo realizadas nos rebanhos leiteiros, como a lavagem dos tetos, pré- dipping, secagem dos tetos, pós- dipping, tratamento de vaca seca e tratamento de casos clínicos.

A presença de *Corynebacterium* sp. nas amostras de leite analisadas não influenciou na CCS do leite do tanque dos rebanhos leiteiros estudados.

O isolamento de *Corynebacterium* sp. nas amostras de leite acarretou variações no CMT individual das vacas, não apenas no número de quartos positivos mas também no grau de escore no CMT. Conseqüentemente tem-se uma elevação da CCS, que pode vir a acarretar perdas na produção e qualidade do leite dos rebanhos.

## 5 REFERÊNCIAS

BRAMLEY, A. J., CULLOR, J. S., ERSKINE, R. J. et al. **Current concepts of bovine mastitis**. 4. ed. Madison: National Mastitis Council, 1996.

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. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.51, p.129-135, 1999.

COSTA, E. O.; CARVALHO, V. M.; COUTINHO, S. D.; CASTILHO, W.; COROMORI, L. F. L. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. São Paulo, v. 5, n. 4, 1989.

DURR, J. W. **Organização da cadeia produtiva para a qualidade do leite**. 2005. Disponível em: <  
[http://www.cbql.com.br/index.php?option=com\\_content&task=view&id=34&Itemid=64](http://www.cbql.com.br/index.php?option=com_content&task=view&id=34&Itemid=64)>. Acesso em: 10 jul 2011.

HALTIA, L.; HONKANEN-BUZALSKI, T.; SPIRIDONOVA, I.; OLKONEN, A.; MYLLYS, V. A study of bovine mastitis, milking procedures and management practices on 25 Estonian dairy herds. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 48, 2006.

HARMON, R. J.; EBERHART, R. J.; JASPER, D. E. **Microbiological procedures for diagnosis of bovine udder infection**. Arlington: National Mastitis Council, 1994.

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

HOGAN, J. S.; SMITH, K. L.; TODHUNTED, D. A.; SCHOENBERGER, P. S. Rate of environmental mastitis in quarter infected with *Corynebacterium bovis* and *Staphylococcus* sp. **Journal of Dairy Science**. OSU, Ohio, v. 71, n. 9, 1988.

MAKOVEC J., A.; RUEGG P., L. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994-2001. **Journal Dairy of Science**, v. 86, n.11, 2003.

MARTINS, R.P.; SILVA, J.A.G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; FILHO ALMEIDA, E.S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**. UFG, Goiânia, v.11, n.1, 2010.

MENDES, J. F.; FERREIRA, G. F.; GONZALEZ, H. L.; MEIRELES, M. C. A. Relação entre a contagem de células somáticas (CCS), *California Mastitis Test* (CMT) e isolamento bacteriano em leite bovino *IN NATURA*. IN: XIX ENPOS II MOSTRA CIENTÍFICA, 2010, Pelotas. **Anais eletrônicos...** Pelotas: UFPel, 2010.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Current concepts of bovine mastitis**. 4. ed. Madison, 1996.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality**. 4. ed. Verona: NMC, 2004.

OLIVEIRA, U. V.; GALVÃO, G. S.; PAIXÃO, A. R. R. MUNHOZ, A. D. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Itabuna-Ilhéus, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. UFBA, Salvador, v.11, n. 3, 2010. Disponível em: <<http://www.rbspa.ufba.br/index.php/rbspa/article/viewArticle/1803>>. Acesso em: 15 jul 2011.

PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. **Mastitis: counter attack**. Naperville: Babson Bros, 1991.

PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite**. 1. ed. São Paulo: Editora Milkbizz, 2002.

PITKÄLÄ, A.; HAVERI, M.; PYÖRÄLÄ, S.; MYLLYS, V.; HONKANEN BUZALSKI, T. Bovine mastitis in Finland 2001: prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. **Journal of Dairy Science**, v. 87, 2004.

RADOSTITIS, O. M., LESLIE, K. E., FETROW, J. Mastitis control in dairy herds. In:\_\_\_\_\_.**Herd health-food animal production medicine**. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p. 229-276.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite**. 1. ed. Barueri: Manole, 2007.

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

SORDILLO, L. M.; DOYMAZ, M. Z.; OLIVER, S. P.; DERMODY, J. T. Leucocytic infiltration of bovine mammary parenchymal tissue in response to *Corynebacterium bovis* colonization. **Journal of Dairy Science**. Knoxville, EUA, v. 72, n. 4, 1989.

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. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Belo Horizonte, v. 61, n. 5, 2009. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352009000500001&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352009000500001&script=sci_arttext)>. Acesso em: 09 out 2011.

WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; DAS H. H. Bovine mastitis pathogens in New Yorks and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and Milk production. **Journal Dairy of Science**, v. 80, n. 10, 1997.

ZAFALON, L. F.; AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V. Influência de bactérias do gênero *Corynebacterium* e estafilococos coagulase positivos e negativos sobre a contagem de células somáticas e a produção láctea de quartos mamários com mastite subclínica. **Revista Napgama**, n. 6, 1999.

## CAPÍTULO IV - PERSPECTIVAS

Diante do impacto econômico que a mastite causa na cadeia produtiva do leite é imprescindível a parceria entre pesquisadores, indústrias e universidades na busca de ferramentas que possam auxiliar cada vez mais o controle e prevenção de infecções intramamárias.

O exame microbiológico de amostras de leite é considerado o método padrão para avaliar a saúde da glândula mamária e diagnosticar a mastite bovina e, os resultados são fundamentais para compreender os problemas específicos dos rebanhos e orientar medidas racionais a respeito do manejo adotado.

Neste trabalho específico, foi utilizado dados do projeto de pesquisa da Embrapa Gado de Leite intitulado, “*Centro de monitoramento e vigilância da resistência antimicrobiana em bactérias patogênicas para o gado de leite*”, e assim, foram utilizadas amostras compostas dos quatro quartos mamários. Dessa forma, evidencia-se a necessidade de outras pesquisas realizando o exame microbiológico de amostras de leite de cada quarto mamário com contagens de células somáticas elevadas ou com escores positivos no CMT, permitindo avaliar com mais exatidão a ação específica de cada agente na glândula mamária e seu efeito na CCS do leite.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. A.; MESQUITA, A. J.; FILHO, F. C. D.; JAYME, V. S. Prevalência e etiologia de mastite bovina subclínica em propriedade do estado de Goiás que utilizam ordenhadeiras na obtenção do leite. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária**, v.28, n.1, 1998.

BARBALHO, T. C. F.; MOTA, R. A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.2, n.2, 2001.

BLACK, R. T.; MARSHALL, R. T.; BOURLAND, C. T. Locus of mammary gland infections of *Corynebacterium bovis*. **Journal of Dairy Science**. Columbia, v. 55, n. 44, 1972.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **The Veterinary Journal**, v. 164, n. 2, 2002.

BRAMLEY, A. J. Infection of the udder with coagulase-negative micrococci and *Corynebacterium bovis*. In: Proc, Int. Dairy Fed. **Seminar on Mastites control Brussels**. Belgium, 1975.

BRAMLEY, A. J., CULLOR, J. S., ERSKINE, R. J. et al. **Current concepts of bovine mastitis**. 4. ed. Madison: National Mastitis Council, 1996.

BARRET, D. High somatic cell counts a persistent problem. **Irish Veterinary Journal**, v. 55, n. 4, 2002.

BUENO, V. F. F.; NICOLAU, E. S.; MESQUITA, A. J.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B.; COSTA, E. O.; COELHO, K. O.; COUTO, D. V. Etiologia e suscetibilidade à antimicrobianos dos agentes da mastite bovina isolados na região de Pirassununga-SP-Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.32, n.1, 2003.

COBB, R. W.; WALLEY, J. K. *Corynebacterium bovis* as probable cause of bovine mastitis. **Veterinary record**. v. 74, 1962.

COSTA, E. O.; CARVALHO, V. M.; COUTINHO, S. D.; CASTILHO, W.; COROMORI, L. F. L. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. São Paulo, v. 5, n. 4, 1989.

GIANNECHINI, R. Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the West Littoral Region in Uruguay. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 43, 2002.

HALTIA, L.; HONKANEN-BUZALSKI, T.; SPIRIDONOVA, I.; OLKONEN, A.; MYLLYS, V. A study of bovine mastitis, milking procedures and management practices on 25 Estonian dairy herds. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 48, 2006.

HILLERTON, J. E.; Staker, R. T.; Shearn, M. F. H. Failure of exit-race teat spraying to control *Corynebacterium bovis* colonization. **Veterinary Record**, v.137, n.25, 1995.

HILLERTON, J. E. Controle da mastite bovina. In: Workshop sobre programa integrado da mastite bovina – EMBRAPA/CNPGL. Juiz de Fora, MG, 1996. **Anais Juiz de Fora**, MG, 1996.

HOGAN, J. S.; SMITH, K. L.; TODHUNTED, D. A.; SCHOENBERGER, P. S. Rate of environmental mastitis in quarter infected with *Corynebacterium bovis* and *Staphylococcus* sp. **Journal of Dairy Science**. OSU, Ohio, v. 71, n. 9, 1988.

HUXLEY, J. N.; GREEN, M. J.; BRADLEY, A. J. *Corynebacterium bovis* – friend or foe? In: BRITISH MASTITIS CONFERENCE, 2003, Lancashire, **Proceedings...** 2003.

LADEIRA, S. R. L. Mastite Bovina. In: CORREA, F. R. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3. ed. Santa Maria: Palotti, 2007.

LANGONI, H.; DOMINGUES, P. F.; PINTO, M. P.; LISTONI, F. J. P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.43, n.6, 1991.

LARANJA, L. F.; MACHADO, P. F. Avaliação da efetividade de um programa de controle de mastite bovina em fazendas produtoras de leite B do estado de São Paulo. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 51, n. 2, 1994.

MAKOVEC J., A.; RUEGG P., L. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994-2001. **Journal Dairy of Science**, v. 86, n.11, 2003.

MARTINS, R.P.; SILVA, J.A.G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; FILHO ALMEIDA, E.S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**. UFG, Goiânia, v.11, n.1, 2010.

METTIFOGO, E.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C.; MEGID, J.; ALFIERI, A. A.; BELOTI, V. Mastite bovina por *Corynebacterium bovis* no Norte do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**. UEL, Londrina, v. 12, n. 1, 1991. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewArticle/4673>>. Acesso em: 17 ago 2011.

MENDONÇA, C. L.; FIORAVANT, M. C. S.; SILVA, J. A. B. A.; SOUSA, M. I.; EURIDES, D.; LANGONI, H. Etiologia da mastite bovina: revisão. **Veterinária Notícias**. Uberlândia, v. 5, n. 1, 1999.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality**. 4. ed. Verona: NMC, 2004.

OLIVEIRA, A. A.; MELO, C. B.; AZEVEDO, H. C. Diagnóstico e determinação microbiológica da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.1, 2009.

OLIVEIRA, U. V.; GALVÃO, G. S.; PAIXÃO, A. R. R. MUNHOZ, A. D. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Itabuna-Ilhéus, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. UFBA, Salvador, v.11, n. 3, 2010. Disponível em: <<http://www.rbspa.ufba.br/index.php/rbspa/article/viewArticle/1803>>. Acesso em: 15 jul 2011.

PANKEY, J. W.; NECKERSON, S. C.; BOODIE, R. L.; HOGAN, J. S. Effects of *Corynebacterium bovis* infection to major mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**. Louisiana, EUA, v. 68, n. 10, 1985.

PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite**. 1. ed. São Paulo: Editora Milkbuzz, 2002.

PICOLI, T; SCHMITT, B; SCHNEIDER, J.R; ZANI, J.L. Práticas de manejo e ocorrência de *Corynebacterium bovis* em propriedades leiteiras no município de Pelotas – RS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais eletrônicos...** Porto Alegre: Sovergs, 2008. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0675-1.pdf>>. Acesso em: 10 ago 2011.

PITKÄLÄ, A.; HAVERI, M.; PYÖRÄLÄ, S.; MYLLYS, V.; HONKANEN BUZALSKI, T. Bovine mastitis in Finland 2001: prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. **Journal of Dairy Science**, v. 87, 2004.

RAGIV SINGH, K. B.; KHERA, S. S.; SUDHAN, N. A. Effect of subclinical and clinical mastitis on milk composition in cross-bred dairy cows. **Indian Veterinary Journal**, v. 75, 1998.

RIEKERINK, R. G. M. O.; BARKEMA, H. W.; VEENSTRA, S.; POOLE, D. E.; DINGWELL, R. T.; KEEFE, G. P. Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Prince Edward Island. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 47, 2006.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite**. 1. ed. Barueri: Manole, 2007.

SEEGERS, H., FOURICHON, C., BEAUDEAU, F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. **Veterinary Research**, v. 34, 2003.

SORDILLO, L. M.; DOYMAZ, M. Z.; OLIVER, S. P.; DERMODY, J. T. Leucocytic infiltration of bovine mammary parenchymal tissue in response to *Corynebacterium bovis* colonization. **Journal of Dairy Science**. Knoxville, EUA, v. 72, n. 4, 1989.

VICTÓRIA, C.; DA SILVA, A. V.; ELIAS, A. O.; LANGONI, H. *Corynebacterium bovis* e os padrões de contagem de células somáticas no Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**. UNIPAR, Umuarama, v. 8, n. 2, 2005. Disponível em : <<http://revistas.unipar.br/veterinaria>>. Acesso em: 10 jul 2011.

WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; DAS H. H. Bovine mastitis pathogens in New Yorks and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and Milk production. **Journal Dairy of Science**, v. 80, n. 10, 1997.

ZAFALON, L. F.; AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V. Influência de bactérias do gênero *Corynebacterium* e estafilococos coagulase positivos e negativos sobre a contagem de células somáticas e a produção láctea de quartos mamários com mastite subclínica. **Revista Nappama**, n. 6, 1999.

## **ANEXOS**

**ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal – CETEA**

Ofício n ° 16/2010 – CETEA/CAV

Lages, 13 de Dezembro e 2010.

Prezado Pesquisador/ Professor .

O Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias, reunido no dia 29/10/2009, aprovou o projeto de pesquisa de Protocolo 1.34.09 de origem do Departamento de Medicina Veterinária sendo interessado o Profa. Eliana K. Vaz com **Título “Centro de Monitoramento e Vigilância da Resistencia antimicrobiana em bactérias patogênicas para o gado de leite”**. Sem mais para o momento, agradecemos.

Atenciosamente,

---

Prof. Aury Nunes de Moraes  
Presidente do CETEA

**ILMO.Profa Eliana K. Vaz**  
**CAV/UDESC**

**ANEXO B – Questionário aplicado às propriedades leiteiras**

**QUESTIONÁRIO PROJETO CDA-RAM**

**(Projeto CNPq 578430/2008-8)**

**Código do rebanho:** \_\_\_\_\_

**Proprietário:** \_\_\_\_\_

**Telefone:** ( ) \_\_\_\_\_ **e-mail:** \_\_\_\_\_

**1. LOCALIZAÇÃO DO REBANHO**

1.1. Coordenadas geográficas: Latitude: \_\_\_\_\_ Longitude: \_\_\_\_\_

1.2. Endereço: \_\_\_\_\_

1.3. Cidade: \_\_\_\_\_

1.4. Micro-região: \_\_\_\_\_

1.5. Meso-região: \_\_\_\_\_

1.6. Estado: \_\_\_\_\_

**2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO REBANHO**

2.1. Número de vacas em lactação: \_\_\_\_\_

2.2. Número de vacas de primeira cria: \_\_\_\_\_

2.3. Número de vacas de segunda cria: \_\_\_\_\_

2.4. Número de vacas de terceira cria: \_\_\_\_\_

2.5. Número de vacas com mais de 3 crias: \_\_\_\_\_

2.6. Número de vacas secas: \_\_\_\_\_

2.7. Produção total de leite por dia: \_\_\_\_\_ litros.

2.8. Sistema de produção: ( ) Semi-estabulado ( ) Intensivo ( ) A pasto

2.9. Raça do rebanho:

( ) Gir ( ) Jersey ( ) Pardo Suíço

( ) Holandês ( ) Mestiço ( ) Girolanda

( ) Outra \_\_\_\_\_

2.10. Tipo de ordenha: ( ) Manual ( ) Mecânica

2.11. Presença do bezerro no momento da ordenha: ( ) Sim ( ) Não

**3. INFRA-ESTRUTURA DA PROPRIEDADE**

3.1. Local de ordenha: ( ) Sala de ordenha ( ) Curral ( ) Outro: \_\_\_\_\_

3.2. Ordenha mecânica: ( ) Sistema canalizado ( ) Balde ao pé

3.3. Número de ordenhas por dia: ( ) Uma ( ) Duas ( ) Três

3.4. Armazenamento do leite

- ( ) Tanque de expansão direta ( ) Tanque coletivo  
 ( ) Tanque de imersão ( ) Entrega em latão na indústria

#### 4. PROGRAMA DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE MASTITE

4.1. Há acompanhamento do rebanho por um técnico?

- ( ) Veterinário ( ) Agrônomo ( ) Zootecnista  
 ( ) Técnico agrícola ( ) Não há

4.2. Examina os primeiros jatos de leite (teste da caneca de fundo escuro)? ( ) Sim ( ) Não

4.3. Lava os tetos com água antes da ordenha? ( ) Sim ( ) Não ( ) Quando necessário

4.4. Desinfeta os tetos antes da ordenha? ( ) Sim ( ) Não

4.5. O que usa para secar os tetos?

- ( ) Não seca ( ) Papel toalha ( ) Pano comum ( ) Outra forma: \_\_\_\_\_

4.6. Desinfeta os tetos depois da ordenha? ( ) Sim ( ) Não

4.7. Realiza o tratamento imediato de todos os casos clínicos de mastite: ( ) Sim ( ) Não

4.8. Realiza o tratamento da vaca seca (tratamento a secagem)?

- ( ) Todas as vacas  
 ( ) Parte das vacas (seleciona animal para tratamento a secagem)  
 ( ) Não realiza

4.9. Qual o critério para descarte de animais?

- ( ) Mastite crônica ( ) Baixa produção ( ) Idade ( ) Outra: \_\_\_\_\_

4.10. Envia amostras de leite de animais para exames microbiológicos? ( ) Sim ( ) Não

4.11. Se envia, qual é a finalidade dos exames microbiológicos?

- ( ) Identificação de patógenos da mastite ( ) Antibiograma

4.12. Faz contagem de células somáticas: ( ) Animais ( ) Rebanho ( ) Não faz

4.13. Anotar as três últimas contagens de células somáticas obtidas no rebanho:

---

4.14. Observa e respeita o período de carência quando trata as vacas em lactação com antimicrobianos?

- ( ) Sim ( ) Não

4.15. Qual é o destino do leite com resíduos de antimicrobianos?

- ( ) Fornecido apenas aos bezerros machos  
 ( ) Fornecido a todos os bezerros  
 ( ) Outro destino: \_\_\_\_\_



## 5. APLICAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS

5.1. Quais os casos em que usa tratamento com antimicrobianos das vacas?

- ( ) Doença de casco ( ) Mastite ( ) Pneumonia  
 ( ) Diarréia ( ) Metrite ( ) Outros \_\_\_\_\_

5.2. Há um protocolo de uso de antimicrobianos para tratamento de mastite? ( ) Sim ( ) Não

5.3. Se a resposta do item 5.2 for afirmativa, anotar o protocolo usado: \_\_\_\_\_

5.4. Quem recomenda os medicamentos para tratamento da mastite? \_\_\_\_\_

5.5. Há registro (anotação) dos tratamentos para mastite? ( ) Sim ( ) Não

5.6. Há registro (anotação) dos tratamentos para outras doenças? ( ) Sim ( ) Não

5.7. Utiliza alguma maneira visual para marcar os animais tratados com antimicrobianos?

( ) Sim ( ) Não

5.8. Utiliza algum antimicrobiano da linha não-veterinária para tratamento da mastite?

( ) Sim ( ) Não

5.9. Quantos tratamentos de mastite clínica foram realizados no último mês? \_\_\_\_\_

5.10. Anote o nome comercial e as bases dos antimicrobianos utilizados na propriedade. – Verificar na farmácia da propriedade quais medicamentos consta no estoque: (Em caso de produção orgânica, enumere os produtos utilizados)

\_\_\_\_\_

## 6. QUESTÕES PARA VERIFICAR A DISSEMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA

6.1. Existe o hábito de consumir leite (leite cru) na propriedade? ( ) Sim ( ) Não

6.2. O leite produzido é usado para preparação de derivados lácteos na própria fazenda?

( ) Sim ( ) Não

6.3. Se a resposta do item 6.2 for afirmativa, o leite é pasteurizado? ( ) Sim ( ) Não

6.4. Vende animais para outras propriedades? ( ) Sim ( ) Não

6.5. Se a resposta do item 6.4 for afirmativa, qual a categoria dos animais vendidos?

\_\_\_\_\_

Observações (caso haja alguma observação relacionada a alguma questão do questionário, usar o número da questão para identificação da observação):

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Data da entrevista \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Entrevistador \_\_\_\_\_