**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Implantação de um programa de gestão em propriedades leiteiras para
melhoria da qualidade do leite**

Janielen da Silva

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora
em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal
e Pastagens

**Piracicaba
2018**

Janielen da Silva
Médica Veterinária

**Implantação de um programa de gestão em propriedades leiteiras para melhoria da
qualidade do leite**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **PAULO FERNANDO MACHADO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora
em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal
e Pastagens

**Piracicaba
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Silva, Janielen da

Implantação de um programa de gestão em propriedades leiteiras para melhoria da qualidade do leite / Janielen da Silva. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2018.

67 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Gerenciamento 2. Infecções 3. Intramamárias 4. Mastite 5. Qualidade I.
Título

A minha família que nunca mediu esforços para me incentivar na luta pelos meus sonhos. Por sempre me apoiarem e pelo amor incondicional

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nunca ter me deixado desamparada e por ter me guiado por toda esta caminhada. Senhor, obrigada por ter me dado forças em todos os momentos em que me senti desanimada e por ter me ajudado a continuar.

Ao Prof. Dr. Paulo Fernando Machado pelo apoio, orientação e confiança em meu trabalho.

Ao Augusto, por todo auxílio recebido durante a condução do estudo e, pelos ensinamentos recebidos durante o desenvolvimento da tese. Obrigada!

Ao Prof. Dr. Scott McDougall, pela orientação e ensinamentos recebidos durante meu doutorado sanduíche na Nova Zelândia. Muito obrigada!

A todos os professores da Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens por todos os ensinamentos e exemplo.

Aos colaboradores da ESALQ e da Cognosco - Animal Health & Production Research pela ajuda e apoio nos trabalhos realizados.

A CAPES pelo apoio financeiro concedido, principalmente na realização do doutorado sanduíche na Nova Zelândia.

Aos colegas e amigos da Pós-Graduação: Max, João, Helen e Renata, por dividirem os dias comigo e me ajudarem com conversas e risadas.

Ao meu colega Marcos Busanello que me ajudou com as análises estatísticas do meu trabalho sempre com tanta paciência e sabedoria.

Aos colaboradores e colegas da Clínica do Leite da Esalq/USP.

Aos meus pais, José e Teresinha por sempre serem meu porto seguro, por me incentivarem a buscar meus sonhos e por me encorajarem a nunca desistir. Amo vocês!

A minha irmã Joseane e as minhas sobrinhas, Giovana e Isadora, por serem inspiração e alegria para os meus dias e por me darem forças para continuar. Também amo vocês!

A todos meus amigos da minha cidade natal e de Piracicaba por sempre estarem do meu lado e por serem luz para os meus dias mais escuros.

Aos amigos que fiz na Nova Zelândia, (Andrea, Nicole e Pablo) que me ajudaram em tudo que eu precisava. Obrigada por todos os momentos de alegria e amizade!

A todos que me ajudaram de alguma forma na realização do meu doutorado, meu muito obrigada!

“Você precisa encontrar aquilo que ama. Seu trabalho preencherá uma grande parte da sua vida, e a única maneira de se sentir realizado de verdade é fazer aquilo que acredita ser um grande trabalho, e a única maneira de fazer um grande trabalho é amar o que faz. Se você ainda não encontrou, continue buscando, e não se acomode”

(Steve Jobs)

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3 OBJETIVOS E HIPÓTESE.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.1.1 Objetivos específicos.....	23
3.2 Hipóteses.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Análise dos fatores de risco associados a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras.....	25
4.1.1 Análise estatística.....	30
4.2 Método de Análise e Solução de Problemas (MASP) para redução da CCS e CBT.....	30
4.2.1 Análise estatística.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1 Análise dos fatores de risco associados a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras.....	37
5.2 Método de Análise e Solução de Problemas (MASP) para redução da CCS e CBT.....	47
6 CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	61

RESUMO

Implantação de um programa de gestão em propriedades leiteiras para melhoria da qualidade do leite

A mastite é o problema de saúde mais prevalente de rebanhos leiteiros, levando a enormes prejuízos econômicos para os produtores em todo o mundo. A redução dos prejuízos decorrentes desta doença depende da implantação de programas de prevenção e controle e, do conhecimento dos fatores de risco relacionadas a sua ocorrência. Portanto, o primeiro objetivo deste estudo foi analisar os fatores de risco mais fortemente associados à mastite clínica e subclínica e a correlação desses fatores com contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) dos tanques de refrigeração em fazendas leiteiras brasileiras. O segundo, foi estudar a eficiência da implantação de um programa de gerenciamento, baseado no método de análise e solução de problemas (MASP), para redução da CCS e CBT destas fazendas e a variação da CCS e CBT com a sazonalidade. Para o primeiro objetivo, foram utilizados dados de 16 propriedades do estado de Minas Gerais - Brasil. Através da realização de duas visitas às propriedades coletou-se dados do tamanho do rebanho, média da produção de leite por vaca, CCS e CBT do tanque e fatores de risco associados ao risco de novas infecções e cronicidade das infecções intramamárias. Para identificar os fatores mais fortemente associados à mastite, foi realizada uma análise fatorial e o método paramétrico de Pearson foi utilizado para avaliar a correlação entre todas as variáveis, inclusive com CCS e CBT. Para o segundo objetivo, avaliou-se as mesmas 16 fazendas que participaram da implantação do MASP e outras 16 fazendas que não participaram (controle), em três fases com relação a implantação do programa (antes, durante e depois). Também, avaliou-se os dados destas fazendas com relação as estações do ano. Para avaliar o efeito de fase, estação do ano e implantação ou não do programa MASP foi realizado um modelo linear misto utilizando o PROC MIXED do SAS e, a comparação entre as médias foi feita por meio do teste ajustado de Tukey-Kramer. A partir da análise fatorial, quatro fatores explicaram a maior parte da variabilidade da mastite (72,3%): fator 1) tamanho do rebanho e rotina de ordenha (29,7%); fator 2) controle da mastite (17,2%); fator 3) qualidade higiênico-sanitária e produção média por vaca (13,5%) e, fator 4) descarte (11,9%). Houve uma correlação negativa ($r = -0,56$) entre CCS e produção média de leite por vaca, e uma correlação positiva ($r = 0,86$) entre CCS e CBT. A implantação do MASP foi eficiente em reduzir a CCS das fazendas na fase durante e depois da implantação, mas não teve influência na CBT. A CCS também varia de acordo com a sazonalidade, sendo mais alta nos meses mais quentes e úmidos do ano e, mais baixa nos meses mais frios. Mesmo que o MASP tenha sido eficiente em reduzir a CCS dos rebanhos, uma das premissas fundamentais para isto ocorrer é a de que, todas as atividades preconizadas durante o programa sejam realizadas pelos envolvidos. Para que isto aconteça, é imprescindível que o gestor ou dono da fazenda queira e, portanto, esteja motivado para reduzir a mastite em sua propriedade.

Palavras-chave: Gerenciamento; Infecções; Intramamárias; Mastite; Qualidade

ABSTRACT

Implantation of a management program in dairy farms to improve the quality of milk

Mastitis is the most prevalent health problem of the dairy herds, leading huge economic losses for dairy farmers worldwide. The decrease of the damages caused by this disease depends on the implementation of prevention and control programs, and on the knowledge of the risk factors linked to its occurrence. Therefore, the first objective of this study was to verify the risk factors most strongly associated with clinical and subclinical mastitis and the correlation of these factors to somatic cell count (SCC) and total bacterial count (TBC) from the bulk tanks in Brazilian dairy farms. The second one was to study the efficiency of the implementation of one management program to analyze and solve problems, decrease the SCC and TBC of these farms and the variation of the SCC and TBC regarding the seasonality. For the first objective, we have used data from sixteen dairy farms in the Minas Gerais state - Brazil. Two visits were done at the farms to get the data about herd size, average milk yield per cow, SCC and TBC from the bulk tank, and risk factors associated to the risk of new infections and chronicity of intramammary infections. To identify the factors most strongly associated with mastitis, a factorial analysis was performed and the Pearson correlation was used to evaluate the correlation between all variables, including SCC and TBC. For the second one, the same sixteen farms participating in the implementation of the management mastitis program and another sixteen farms that did not participate (control) were evaluated in three phases regarding the implementation of the program (before, during and after). Also, the data of these farms were evaluated regarding to the seasons of the year. To evaluate the phase's effects, season and implementation or not of the management mastitis program a mixed linear model was performed using the PROC MIXED of the SAS and the comparison between the means was done through the Tukey-Kramer adjusted test. From the factorial analysis, four factors explained most of the variance of mastitis (72.3%): factor 1) herd size and milking routine (29.7%); factor 2) mastitis control (17.2%); factor 3) hygienic-sanitary quality and average production per cow (13.5%) and factor 4) discard (culled) (se for o descarte de animais) (11.9%). There was a negative correlation ($r = -0.56$) between SCC and average milk production per cow, and a positive correlation ($r = 0.86$) between SCC and TBC. The implementation of the management program was efficient in decrease the SCC of the farms during and after the implantation, but had no influence in the TBC. The SCC also varies according to seasonality, being higher in the warmer and wetter months of the year, and lower in the colder months. Even though the management program has been effective in decrease the CCS from the herds, one of the basically premises for this is that all the activities done during the program are carried out by those involved. In order for this could be happens, it is imperative that the manager or farmers wants to do that and is therefore motivated to reduce mastitis on their farm.

Keywords: Management; Infections; Intramammary; Mastitis; Milk quality

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Exemplo de gráfico de radar realizado em uma das propriedades participantes do Programa de Melhoria da Qualidade do Leite (MASP), demonstrando as áreas mais problemáticas para ocorrência de mastite nesta propriedade.....32
- Figura 2 – Correlação entre todas as variáveis relacionadas a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras.....41
- Figura 3 – Média da contagem de células somáticas (CCS x 1000 céls/mL) nas três fases de implantação do Programa de Gerenciamento para Melhoria da Qualidade do Leite (MASP) de seis das 16 fazendas que apresentaram os melhores resultados de redução da CCS com a implantação do MASP).....53
- Figura 4 – Figura 4. Resultados descritivos da contagem de células somáticas (CCS x 1000 céls/mL) nas três fases de implantação do Programa de Gerenciamento para Melhoria da Qualidade do Leite (MASP) de fazendas que implantaram o programa (com MASP) e, fazendas que não implantaram o programa (sem MASP).....54
- Figura 5 – Resultados descritivos da contagem bacteriana total (CBT x 1000 ufc/mL) nas três fases de implantação do Programa de Gerenciamento para Melhoria da Qualidade do Leite (MASP) de fazendas que implantaram o programa (com MASP) e, fazendas que não implantaram o programa (sem MASP).....54
- Figura 6 – Análise descritiva das únicas quatro fazendas que participaram do programa de melhoria da qualidade do leite, mas não apresentaram melhoria nos resultados de CCS (céL/mL).....56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise descritiva de dados referentes ao tamanho das propriedades leiteiras e a qualidade do leite (CCS e CBT).....	37
Tabela 2 – Correlação entre as variáveis relacionadas a mastite clínica e subclínica com CCS e CBT nas propriedades leiteiras.....	38
Tabela 3 – Principais microrganismos identificados no leite de vacas com mastite clínica e subclínica das propriedades leiteiras.....	39
Tabela 4 – Variáveis relacionadas a mastite nas propriedades leiteiras e dimensões com maior significância.....	42
Tabela 5 – Estatísticas descritivas (não ajustadas) para a contagem de células somáticas (cél/mL) e contagem bacteriana total (ufc/mL) para as variáveis categóricas utilizadas no estudo.....	49
Tabela 6 – Resultados da modelagem estatística para as variáveis contagem de células somáticas e contagem bacteriana total transformadas para logaritmo na base dez (log10) e ajustadas aos efeitos aplicados no modelo.....	51
Tabela 7 – Médias ajustadas considerando a interação entre fase de implantação e fazendas submetidas ou não ao programa MASP.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% - Porcentagem

ACP – Análise de componentes principais

AF – Análise fatorial

CAS - Caseína

CBT – Contagem Bacteriana Total

CCS – Contagem de Células Somáticas

Células - cél

Dias – d

ECC – Escore de condição corporal

GOR – Gordura

IN – Instrução normativa

Kilograma (kg)

Kilopascal (Kpa)

L – Litros

LAC – Lactose

Log – Logaritmo

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

MASP – Método de Análise e Solução de Problemas

mg - Miligrama

min - Minutos

mL - Mililitro

mm - Milímetro

NUL. Nitrogênio ureico do leite

PROT- Proteína

1 INTRODUÇÃO

A mastite se caracteriza por inflamação da glândula mamária, normalmente causada por microrganismos, sendo o problema de saúde mais prevalente de rebanhos leiteiros (WATTS, 1988). Dentre os prejuízos econômicos decorrentes desta enfermidade pode-se destacar a redução na produção de leite, alterações na qualidade do leite, custos com mão-de-obra, diagnóstico e tratamento, além de redução da longevidade dos animais (OLIVEIRA et al., 2013). Além disso, a mastite pode ser um importante problema de saúde pública devido ao envolvimento de patógenos ou de suas toxinas que podem causar problemas de saúde aos humanos (FAGUNDES e OLIVEIRA, 2004).

Existem duas formas de apresentação da doença nos rebanhos: a mastite clínica e a subclínica. Na primeira, sinais clínicos evidentes podem ser observados, como vermelhidão ou inchaço no úbere, alterações no aspecto do leite ou, em casos mais graves, febre e falta de apetite nos animais acometidos. Já na mastite subclínica, não existem sinais evidentes da doença, sendo o diagnóstico normalmente realizado através do aumento na contagem de células somáticas (CCS) no leite (SHARMA et al., 2011). Segundo diversos autores, o fato da mastite subclínica não ser facilmente detectada pelos produtores, esta é a principal causa de perdas econômicas em rebanhos leiteiros, principalmente em países do terceiro mundo, onde práticas e programas de melhoria da qualidade do leite ainda não foram ou, não são eficientemente, implementadas.

Segundo dados publicados recentemente, a prevalência de mastite subclínica encontrada em 517 rebanhos em cinco estados brasileiros foi de 46,4%, com uma incidência de 0,17 casos novos por mês (BUSANELLO et al., 2017). Estes dados mostram que, quase metade do rebanho pesquisado apresenta infecção intramamária, o que torna a qualidade do leite no Brasil uma realidade preocupante.

A mastite pode ser causada por uma variedade de agentes microbianos, sendo que esses podem ser classificados em contagiosos e ambientais de acordo com seu reservatório primário (glândula mamária infectada ou o ambiente, respectivamente) (SMITH, 1996; BRAMLEY, 1996). Mais de 137 agentes diferentes já foram identificados como causadores de mastite e, esta diversidade, dificulta medidas de tratamento e limita a eficácia de programas de controle desta doença em propriedades leiteiras (WATTS, 1988; RABIEE e LEAN, 2013).

Esta é uma enfermidade considerada multifatorial, sendo desencadeada por fatores relacionados ao hospedeiro, agente etiológico e meio ambiente (SCHROEDER, 1997; OVIEDO-BOYSO et al., 2007). Assim, medidas de controle bem-sucedidas dependem do

conhecimento sobre os fatores epidemiológicos mais fortemente envolvidos com o aparecimento da doença. O conhecimento destes fatores poderá possibilitar a tomada de decisão em programas de controle e prevenção da mastite em rebanhos leiteiros.

Estudos no exterior já apontaram fatores de riscos associados tanto à mastite clínica quanto à subclínica (SCHUKKEN et al., 1991; BARKEMA et al., 1999; BUSATO et al., 2000; ZADOKS et al., 2001; RAMÍREZ et al., 2014). No entanto, sabe-se que fatores epidemiológicos relacionados a mastite no Brasil podem ser muito distintos, devido a diferenças como clima, genética, manejo, entre outros. São poucos os trabalhos brasileiros que estudaram os fatores de risco associados a mastite clínica e subclínica com números expressivos de animais.

Devido a importância da mastite para a bovinocultura leiteira, a CCS tem sido utilizada como um indicador da qualidade do leite em diversos países. Outro indicador largamente utilizado para avaliação da qualidade do leite, é a contagem bacteriana total (CBT). Normalmente a CBT nos dá informações acerca da qualidade higiênico-sanitária do leite da propriedade, isto porque, ela é uma medida direta da contaminação por microrganismos. Esta contaminação pode ocorrer a partir de microrganismos presentes no equipamentos e utensílios da ordenha, na glândula mamária, ou na superfície externa dos tetos e úbere do animal.

Existem diversas causas para o aumento da CCS e da CBT de uma fazenda, mas uma das principais é a falta de gerenciamento da propriedade. No Brasil, os donos das fazendas leiteiras ainda não conseguem enxergar a propriedade como um negócio e, por isso, não coletam e nem controlam os processos para a produção de leite. Assim, é notável que há a necessidade da implantação de programas de gestão que garantam a qualidade do produto final neste país.

Um dos métodos gerenciais utilizados por empresas em todo o mundo consiste no Método de Análise e Solução de Problemas (MASP). Este método foi criado com o objetivo de identificar, analisar e encontrar ações corretivas ou preventivas para os problemas das empresas. O MASP normalmente apresenta 8 etapas que são: Identificação do problema, Observação, Análise, Plano de Ação, Ação, Verificação, Padronização e Conclusão (CAMPOS, 1992).

Apesar de ser amplamente utilizado, não existem trabalhos no Brasil que tenham utilizado o MASP para melhoria da qualidade do leite (redução de CCS e CBT) em propriedades leiteiras. Também são escassos os trabalhos que tenham implementado e avaliado métodos de gerenciamento para redução da mastite nos rebanhos brasileiros.

Diante da importância econômica e sanitária da mastite no Brasil, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de verificar quais os fatores de risco mais fortemente relacionados com a mastite clínica e subclínica e, a correlação destes fatores com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) em propriedades leiteiras na região de Minas Gerais, Brasil. Além disso, também buscou-se analisar a eficiência da implantação de um programa de gerenciamento, baseado no método de análise e solução de problemas (MASP), para redução da CCS e CBT nestas mesmas propriedades e, a variação da CCS e CBT com a sazonalidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Dentre os setores do agronegócio brasileiro, a bovinocultura leiteira se destaca como um dos principais. Em 2016, o Brasil produziu 33,62 bilhões de litros de leite com um número total de vacas ordenhadas de 19,7 milhões (IBGE, 2016). Apesar disso, a produtividade do rebanho brasileiro ainda é baixa, sendo de cerca de 1.700 litros/vaca/ano (IBGE, 2016). Existem diversas razões para esta baixa produtividade e, uma delas, consiste no estado sanitário do rebanho.

Quando se fala sobre as enfermidades que acometem os rebanhos leiteiros, a mastite é uma das principais, devido a sua alta prevalência e por acarretar enormes prejuízos aos produtores. Estes prejuízos estão relacionados a redução na produção de leite, alteração nos constituintes do leite, com consequente redução de sua qualidade e menor rendimento para a indústria de laticínios, redução na vida produtiva dos animais, custos com diagnóstico, tratamento, descarte de leite e dos animais (RUEGG, 2017). Segundo Ladeira (2007) quando uma porcentagem significativa do rebanho é afetada a redução na produção de leite pode ser drástica, em até 50%.

Segundo Lam et al. (2013) existem outros prejuízos que podem estar relacionados à mastite nas propriedades leiteiras, como a alteração do bem-estar dos animais, aumento do risco de resíduos de antibióticos no leite, estresse devido a quebra de rotina de trabalho, efeito negativo na produção de produtos lácteos e, também prejuízo da imagem da indústria de leite.

De acordo com a forma de apresentação, a mastite pode ser clínica ou subclínica, sendo que a última, acarreta maiores prejuízos, por, na maioria das vezes, não ser detectada visualmente. Segundo Bradley et al. (2007) a mastite clínica e subclínica continuam sendo as principais causas de perdas financeiras para os produtores e indústrias de leite, sendo que, para um grande número de propriedades a doença se apresenta ainda em níveis inaceitáveis.

Rajala-Schultz et al. (1999) avaliaram o efeito da mastite clínica sobre a produção de leite e observaram que as perdas de leite nas primeiras 2 semanas após o diagnóstico variaram de 1.0 a 2.5 kg/ dia. Wilson et al. (2004) mostraram que as perdas de leite foram de 5 a 7 kg/d nas primeiras 2 semanas após o diagnóstico. Já, com relação a mastite subclínica, segundo Hand et al. (2012) vacas com CCS de 200 ($\times 10^3$ células / mL) podem apresentar perdas de leite de 0,35 a 1,09 kg por dia. Por sua vez, animais com valores de CCS de 2.000 ($\times 10^3$ células / mL) podem ter perdas de 1,49 a 4,70 kg por dia.

Existe uma variedade de patógenos causadores da mastite, sendo que, estes podem ser classificados em contagiosos, quando seu reservatório primário é a glândula mamária

infectada, ou, em ambientais quando o reservatório primário é o ambiente (SMITH, 1996; BRAMLEY, 1996). A grande variedade de agentes causadores desta doença dificulta a aplicação de protocolos de tratamentos e medidas de controle eficazes.

A mastite contagiosa é causada principalmente por *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. Já a mastite ambiental tem como principais agentes a *Escherichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* (RIFFON et al., 2001). Diferente de outros países, no Brasil, os agentes contagiosos ainda são responsáveis pela maior prevalência e perdas econômicas relacionadas com a mastite nos rebanhos leiteiros.

A invasão da glândula mamária geralmente ocorre de maneira ascendente, com penetração das bactérias via canal do teto. Após a penetração, se o ambiente for favorável, estas se multiplicam rapidamente e invadem o tecido mamário, causando uma reação inflamatória. Esta multiplicação permite a liberação de endotoxinas que provocam alterações na glândula e, em casos graves, até sinais sistêmicos (RADOSTITIS et al., 2002). Situações estressantes, como ambientes frios, úmidos e estresse nutricional, favorecem a permanência dos agentes em razão da redução do fluxo sanguíneo para o úbere e da imunossupressão local, secundária ao aumento da produção de cortisol.

Além da presença de bactérias causadoras de infecções intramamárias nas fazendas, alguns fatores de risco podem aumentar a ocorrência desta doença nas propriedades. Os trabalhos relacionados ao risco de ocorrência da mastite podem ser realizados a nível de rebanho, vaca ou úbere e, o interesse pode estar somente na mastite clínica, ou, também na mastite subclínica (ZADOKS et al., 2001). A identificação destes fatores pode ser importante na implantação de programas de melhoria da qualidade do leite.

Plozza et al. (2011) pesquisaram os fatores de risco em 382 fazendas de leite e observaram que, os rebanhos que tinham menor CCS usavam luvas durante a ordenha (26% vs 62%), toalhas de papel na preparação do úbere (16% vs 62%), alimentavam as vacas após a ordenha (47% vs 87%) e usavam maior frequência de tratamento do que rebanhos que apresentaram maior CCS. Mekibib et al. (2010) também estudaram os fatores de risco para a mastite clínica em subclínica em rebanhos leiteiros e, viram que, a prevalência a nível de quarto foi de 44,9% (192/428), das quais as formas clínicas e subclínicas foram 10,0% (43/428) e, 34,8% (149/428), respectivamente. Dos 43 quartos com casos clínicos, 31 apresentavam lesões nos tetos.

Barkema et al. (1999) pesquisaram fatores de risco relacionados a mastite clínica em 274 rebanhos leiteiros e, agruparam os indicadores de risco em três fatores principais: 1) resistência do animal 2) exposição aos agentes patogênicos, e 3) cura das infecções. Nestes

grupos algumas práticas de gestão foram identificadas como importantes. Para a resistência do animal foram identificados: nutrição, produção de leite, gotejamento de leite, raça e desinfecção dos tetos. Com relação a exposição aos agentes patogênicos identificou-se as condições de instalação, condições higiênicas, procedimentos e equipamento de ordenha. Finalmente, foram relatados fatores de cura: terapia das vacas secas e tratamento de casos clínicos de mastite.

Com relação aos métodos diagnósticos utilizados, a mastite clínica pode ser detectada através da inspeção nas alterações no aspecto do leite, sinais locais na glândula mamária (edema, dor, vermelhidão) ou, sinais sistêmicos no animal (febre, apatia, anorexia e desidratação). Já a mastite subclínica não apresenta sinais evidentes de infecção e, necessita de métodos específicos, como é o caso da detecção de células somáticas (RADOSTITIS et al., 2002).

Células somáticas correspondem ao número de leucócitos, principalmente linfócitos, macrófagos e neutrófilos, e células epiteliais presentes no leite. Existe uma correlação com a presença de infecção, uma vez que, estas células participam dos principais mecanismos de defesa da glândula mamária contra a invasão e proliferação de microrganismos. Durante o processo inflamatório essas células afluem do sangue para a glândula mamária devido ao efeito quimiotático e como resposta ao estímulo inflamatório (RADOSTITIS et al., 2002).

Além da contagem de células somáticas, a qualidade do leite pode ser monitorada através da Contagem bacteriana Total (CBT). Esta contagem está relacionada a contaminação do leite por bactérias que podem ser originadas do interior do úbere nos casos de mastite, superfície externa do úbere, mãos do ordenhador ou utensílios e equipamentos de ordenha (SANTOS E FONSECA, 2001). Este é um indicativo direto da contaminação por microrganismos, pois o leite em condições normais é secretado nos alveólos da glândula mamária de forma estéril. Portanto, a presença de bactérias do leite é afirmativa de uma baixa na qualidade higiênico-sanitária no leite produzido (AFZAL et al., 2011). Segundo o Zadoks et al. (2004), a análise de CBT é importante para garantir a uniformidade e a alta qualidade sanitária do leite cru e de seus produtos.

Como relatado anteriormente, vacas com infecções intramamárias podem levar a um aumento da CBT do leite e, conseqüentemente, do tanque de refrigeração das fazendas. Alguns microrganismos causadores de mastite nos rebanhos leiteiros são capazes de acarretar altas CBT nos tanques, como é o caso do *Streptococcus agalactiae*. Keefe (1997) demonstrou que vacas no estágio inicial de infecção podem apresentar 10^2 a 10^6 células/mL de leite. Assim, as bactérias nomeadas como patógenos maiores causadores da mastite podem levar a

altas contagem de células somáticas e bacterianas no leite. Pantoja et al. (2009) avaliaram a qualidade do leite de tanques de refrigeração de fazendas com modernas tecnologias de ordenhas e, observaram uma correlação positiva entre a CCS e a CBT, sendo que, para cada aumento de 10.000 células/mL no leite, houve acréscimo de 2,4% da CBT.

Uma das principais formas de reduzir a CBT e, consequentemente, melhorar a qualidade do leite produzido em uma propriedade, consiste nos cuidados higiênicos durante a ordenha. Embora os tetos e superfície externa do úbere aparentemente estejam limpos, sempre existe a presença de microrganismos que podem vir a contaminar o leite, caso boas práticas de ordenha não sejam utilizadas (BORGES et al., 2013). Uma vez contaminado, o leite perde sua qualidade original e pode carrear bactérias prejudiciais à saúde das pessoas e, também, aos processamentos da indústria, levando a prejuízos econômicos à diversos setores.

Com relação a qualidade do leite no País, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece padrões químicos, físicos e microbiológicos do leite produzido, por meio da Instrução Normativa (IN) nº 62, sancionada em 2011. Com o estabelecimento de valores mínimos de composição do leite e valores decrescentes para contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS), o MAPA pretende melhorar a qualidade do leite produzido no Brasil que chega a mesa dos consumidores (BRASIL, 2012). Para auxiliar neste objetivo, recentemente foi lançado o Programa “Leite Saudável” que visa melhorar a qualidade dos produtos lácteos e tornar estes produtos competitivos no mercado internacional (BRASIL, 2015). Por isso, a implantação de programas de controle e prevenção da mastite em propriedades leiteiras são de extrema importância para que esta meta seja cumprida.

Segundo Rabiee e Lean (2013) intervenções que proporcionem formas de reduzir o risco de infecções e os danos causados por estas são de grande benefício, tanto para os produtores, como para os animais. Portanto, é consenso da literatura que programas de prevenção e controle da mastite são de extrema importância para melhoria da qualidade do leite no país, sendo que, estes, devem ter como objetivos principais a redução das taxas de novas infecções e o aumento das taxas de cura dos animais (BARNOUIN et al., 2004). Assim, é preciso refletir se os métodos de controle estão sendo realizados de forma correta. Ruegg (2017) fez uma revisão dos 100 anos de controle e prevenção da mastite e, afirmou que o controle da mastite depende de programas de gestão que sejam eficientes em persuadir pessoas com diferentes habilidades à fazerem trabalhos específicos, todos os dias.

Ersikine et al. (2015) realizaram um trabalho piloto em 12 fazendas nos EUA e demonstraram a importância da gestão na melhoria da qualidade do leite. O trabalho foi

realizado com o objetivo de avaliar a eficiência da comunicação entre donos e funcionários, além da avaliação dos treinamentos realizados para os funcionários. Os resultados desta pesquisa descobriram que apenas 23% dos funcionários se reuniam com o gerente da fazenda regularmente, 36% dos funcionários não conheciam os objetivos da contagem de células somáticas das fazendas que trabalhavam e, 71% dos funcionários declararam que não houve um treinamento padronizado para realização da ordenha, sendo que, a maior parte aprendeu por conta própria.

Apesar da mastite ser um importante problema de saúde dos rebanhos brasileiros e, vários trabalhos citarem a gestão como forma efetiva de melhoria dos índices produtivos e qualitativos do leite, não existem pesquisas no Brasil que tenham demonstrado a eficiência de programas de gestão para melhoria da qualidade do leite (redução da CCS e CBT) de propriedades leiteiras. Assim, mesmo que trabalhos na literatura mostrem que a mastite é um problema na maior parte das fazendas e, que medidas de controle e prevenção devam ser implementadas, pouco se sabe a respeito da influência do gerenciamento sobre isto.

Diante da importância econômica e sanitária da mastite e, devido ao escasso número de pesquisas sobre os fatores de risco relacionados a esta doença e, a eficiência de programas de gerenciamento para a redução efetiva e permanente da CCS e CBT, é de extrema importância a realização de pesquisas que auxiliem na busca por estes objetivos. Além disso, frente às necessidades de melhoria da cadeia produtiva de lácteos, os dados obtidos com estes estudos poderão auxiliar na implantação de medidas de prevenção e controle da mastite nos rebanhos, bem como, na tomada de decisões em programas relacionados à qualidade do leite no Brasil.

3 OBJETIVOS E HIPÓTESE

3.1 Objetivo geral

Determinar os fatores de risco relacionados a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras e avaliar a eficiência da implantação de um programa de gerenciamento, baseado no Método de Análise e Solução de Problemas (MASP) para a redução da CCS e CBT destas mesmas propriedades.

3.1.1 Objetivos específicos

- Caracterizar as fazendas quanto ao tamanho, produção, CCS e CBT;
- Avaliar os fatores de risco relacionados a mastite nas propriedades leiteiras;
- Fazer uma análise de correlação entre os fatores de risco para a mastite com a CCS e CBT do tanque;
- Fazer uma correlação entre todos os fatores de risco relacionados a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras;
- Identificar os principais microrganismos causadores de mastite nas propriedades;
- Avaliar a eficiência da implantação do método de gerenciamento MASP na redução da CCS e CBT, comparando-se fazendas que não implantaram o programa (controle) com fazendas que implantaram.

3.2 Hipóteses

Os principais fatores de risco relacionados à mastite clínica e subclínica podem ser identificados nas fazendas através da coleta de variáveis específicas;

Quando a mastite é causada por microrganismos contagiosos específicos, existe uma correlação positiva entre a CBT e a CCS;

A implantação de um programa de gerenciamento é capaz de reduzir a CCS e a CBT das fazendas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Análise dos fatores de risco associados a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras

O estudo foi realizado em 16 propriedades leiteiras situadas na região de Minas Gerais – Brasil. Estas fazendas foram selecionadas a partir de um grupo maior que foram convidadas a implementar o programa de gerenciamento em suas propriedades.

Os dados foram coletados durante duas visitas, em cada fazenda, em janeiro de 2014. As propriedades, em conjunto, tinham um total de aproximadamente 4.000 animais, predominantemente da raça Holandês, em sistema semi-extensivo, com ordenhadeira mecânica. Os dados foram coletados por consultores (Médicos Veterinários) que receberam treinamento sistemático prévio para evitar ao máximo influência humana sobre as respostas coletadas. É importante salientar que, em cada uma das propriedades, as duas visitas foram realizadas pelo mesmo consultor.

As duas visitas às fazendas tiveram como objetivo caracterizar os sistemas de produção e, avaliar os problemas relacionados à ocorrência de mastite, através da coleta de dados disponíveis para, posteriormente definir as causas dos problemas (informações do rebanho e mastite).

Os seguintes dados foram coletados para cada rebanho: número de vacas em lactação, novilhas, número de vacas secas, produção média de leite por vaca (L/vaca/dia), CBT (ufc/mL), CCS (células/mL), número de casos de mastite clínica por mês (média do ano anterior), número de mortes por mastite por ano (ano anterior), número de descartes devido a mastite por ano (ano anterior) e proporção de casos clínicos com febre. Os dados de CCS, CBT e produção de leite foram coletados dos relatórios do Laboratório da "Clínica do Leite" da ESALQ - USP (média geométrica dos últimos três meses de coleta). Os outros dados foram consultados a partir de relatórios e anotações de fazenda. Portanto, um diagnóstico de situação inicial foi feito, com base nos dados relatados anteriormente.

Além disso, foram coletados dados sobre fatores de risco prováveis para novas infecções intramamárias: 1) condição dos tetos 2) biossegurança; 3) higiene/instalações; 4) equipamento de ordenha; 5) procedimento de ordenha e; 6) eficiência de ordenha. As avaliações destes aspectos foram realizadas pelos consultores, sistematicamente treinados, em 20 vacas, em cada uma das visitas (40 vacas ao todo) durante a ordenha, de maneira aleatória e abrangendo

todos os lotes. Este consultor tinha um padrão de observações a ser seguido através de fotos e escores. Assim, por exemplo, existiam padrões para atribuir notas para o escore de condição do teto, escore de limpeza da ponta dos tetos, escore de condição corporal (ECC); escore de condição de sujidade do úbere.

Novas infecções intramamárias foram definidas quando, no primeiro mês de análise do leite de determinada vaca, a CCS apresentava resultado menor que 200.000 céls/mL e, passou a apresentar mais do que 200.000 céls/mL na análise do mês seguinte (Dohoo e Leslie, 1991).

Com relação a condição dos tetos os seguintes pontos foram coletados: qual é a porcentagem de vacas com hiperqueratose? Os escores da presença da lesão foram avaliados aplicando-se graus de lesões de 1 a 4 de acordo com Mein et al. (2001). A pontuação 1 foi dada para tetos sem lesão; A pontuação 2 foi dada para tetos com calo aparente; O escore 3 foi dado para tetos com esfíncter com calo (hiperqueratose) e, o escore 4 para tetos com calo (hiperqueratose) e rachados. Para análise, os dados foram categorizados da seguinte forma: nota 1: para menos 10% de tetos com hiperqueratose, 2: de 11 a 20% de tetos com hiperqueratose, 3: 21 a 30%, 4: de 31 a 40% e, nota 5: para mais de 41 % de tetos com hiperqueratose. Ou seja, quanto maior a nota estabelecida, pior a condição dos tetos encontrada nas fazendas pesquisadas.

Para a biossegurança, as avaliações foram realizadas como sugerido por Blowey & Edmonson (2010), fazendo-se os seguintes levantamentos: 1) as vacas com CCS de >200.000 células/mL em dois testes consecutivos são separadas mensalmente? 2) as vacas com mais de cinco análises de CCS > 200.000 células/mL são descartadas? 3) o rebanho é fechado, ou seja, vacas não são compradas ou enviadas para feiras e exposições? 4) descarta-se vacas com mais de três casos de mastite clínica, na mesma lactação, no mesmo teto? 5) vacas diagnosticadas com *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* são separadas e ordenhadas por último (ou com equipamento de ordenha separado)? 6) possui um controle de moscas ativo? 7) o leite de vacas com mastite é pasteurizado antes de ser fornecido aos bezerros? Todas as perguntas tiveram como opções de resposta: Sim (1) e, Não (0), e foram categorizadas da seguinte forma: Pontuação 1: todas as respostas sim; 2: uma resposta não; 3: duas respostas não; 4: três respostas não; 5: mais de três respostas não. Quanto maior a nota recebida, pior o aspecto de biossegurança do rebanho.

Para a higiene/instalações, foram avaliadas as seguintes questões, segundo, Blowey & Edmonson (2010): 1) o ambiente é limpo e seco na maternidade 2) existem menos de duas vacas com úberes e pés sujos em 20 vacas analisadas (<10%); 3) no pós-parto o ambiente está limpo e seco? 4) os corredores por onde circulam os animais estão secos e limpos? 5) os pelos

do úbere e vassoura da cauda estão aparados em 20 vacas de 20 avaliadas aleatoriamente (100% dos animais)? As perguntas também deviam ser respondidas: Sim ou, Não, e as notas foram: 1: cinco respostas sim; 2: quatro respostas sim; 3: três respostas sim; 4: 2 respostas sim; 5: 1 resposta sim. Ou seja, quanto maior a nota dada, pior eram as condições de higiene e instalações. A avaliação do escore de limpeza do úbere foi realizado segundo metodologia proposta por Schreiner e Ruegg (2003): escore 1) úbere livre de sujeira; escore 2) úbere um pouco sujo (10% da superfície suja); escore 3) úbere moderadamente sujo (30% da superfície suja) e, escore 4) úbere sujo (mais de 30% da superfície suja).

O equipamento de ordenha foi avaliado fazendo as seguintes perguntas: 1) a pressão de vácuo para linha alta está entre 47 e 51 Kilopascal (Kpa), linha média entre 41 e 44 Kpa e, linha baixa entre 37 e 41 Kpa? 2) a flutuação de vácuo quando se deixa entrar o ar em 1 teteira em 4 é <2 KPa? 3) o regulador de vácuo está limpo? 4) quando a pressão de vácuo cai mais do que 2 KPa o regulador de vácuo fecha? 5) a contagem das batidas dos pulsadores está entre 57 e 63 por minuto? 6) os insufladores e borrachas estão limpos e íntegros? As perguntas também podiam ser respondidas: Sim ou Não, e as respostas foram categorizadas como: 1: seis respostas sim; 2: cinco respostas sim; 3: quatro respostas sim; 4: três respostas sim; 5: duas respostas sim. Também neste caso, quanto maior a nota recebida, pior era considerado o equipamento de ordenha.

A avaliação do procedimento de ordenha foi realizada de acordo com Blowey & Edmonson (2010) e NMC (2004). Assim, avaliou-se os seguintes pontos: 1) não lava-se os tetos antes da ordenha? 2) o *pré-dipping* é utilizado, e o mesmo cobre todo o teto? 3) as teteiras são colocadas nos tetos limpos e secos? 4) todos usam luvas? 5) as teteiras são colocadas quando a vaca está estimulada? 6) o coletador não é pressionado ao final da ordenha? 7) o vácuo é fechado antes da retirada das teteiras? 8) há realização do *pós-dipping* e este cobre todo o teto? 9) menos de 20% dos quartos com Escore de limpeza da ponta do teto acima de 3? As perguntas também foram respondidas: Sim ou Não, e as notas foram: 1: todas as respostas sim; 2: uma resposta não; 3: duas respostas não; 4: três respostas não; 5: mais de três respostas não. Quanto maior a nota recebida, pior o procedimento de ordenha.

É importante salientar que a pontuação da limpeza da ponta dos tetos foi determinada usando-se a metodologia proposta por Engel (2005). Isto foi realizado com a ajuda de toalhas descartáveis que foram esfregadas na ponta de cada teto para avaliar o grau de sujidade: a pontuação 1 foi dada para tetos limpos, sem sujeira na ponta; A pontuação 2 foi dada para os tetos com umidade, mas não sujeira; A pontuação 3 foi dada para tetos com sujeira e matéria orgânica; e, a pontuação 4 foi dada para grandes quantidades de sujeira e matéria orgânica.

Para avaliar a eficácia da ordenha foram avaliadas as seguintes medidas: 1) menos de quatro vacas em 20 (<20%) dando coices ou sapateando durante a ordenha ?; 2) menos de 4 vacas em 20 (<20%) com > 400 mL de leite no úbere após a ordenha (determinado a partir remoção manual pelo consultor)?; 3) menos 2 vacas em 20 (<10%) com deslizamento/queda de teteiras durante a ordenha ?; 4) A média do tempo de ordenha (colocação-retirada da teteira) é menor que 5 minutos nas 20 vacas (100%) ?; 5) Menos de 4 vacas em 20 (<20 %) com tetos edemaciados, vermelhos ou com petequias imediatamente após a ordenha? As perguntas também podiam ser respondidas: Sim ou Não, e as notas foram: 1: todas as respostas sim; 2: uma resposta não; 3: duas respostas não; 4: três respostas não; 5: mais de três respostas não. Quanto maior a nota, pior a eficácia de ordenha da fazenda.

Além do risco de novas infecções, também analisou-se o risco de cronicidade das infecções através dos seguintes pontos: 1) imunidade das vacas; 2) bem-estar animal; e, 3) protocolos de tratamentos. As avaliações destes aspectos, também foram realizadas pelo consultor previamente treinado, em 20 vacas, em cada uma das visitas (40 vacas ao todo), aleatoriamente, de modo a abranger todos os lotes, durante a ordenha. A cronicidade das infecções intramamárias foi definida quando, no primeiro mês de análise do leite de determinada vaca, o resultado de CCS era maior do que 200.000 céls/mL e, continuou acima deste valor na análise do mês seguinte (Dohoo e Leslie, 1991).

A imunidade das vacas foi avaliada através dos seguintes itens 1) menos de 2 vacas em 20 (<10%) com condição corporal ≤ 3 ou ≥ 4 nos últimos 60 dias de gestação?; 2) as vacas foram suplementadas com selênio e vitamina E no pré-parto?; 3) as vacas são vacinadas com uma vacina contra coliformes 2 semanas antes da secagem, durante a secagem e 2 semanas antes do parto?; 4) existe um protocolo ativo de acompanhamento das vacas (cetose, consumo de ração, temperatura e, outras doenças metabólicas) nos primeiros 10 dias após o parto ?; 5) é realizada análise de nitrogênio ureico no leite das vacas e o resultado é utilizado para ajustar carboidrato e proteína na dieta? As perguntas também podiam ser respondidas: Sim ou Não, e, as notas foram: 1: para todas as respostas sim; 2: quatro respostas sim; 3: três respostas sim; 4: duas respostas sim; 5: uma resposta sim. Também, quanto maior a nota estabelecida, pior o estado de imudade das vacas. É importante notar que a escala utilizada para avaliar o escore da condição corporal foi de 1 a 5, de acordo com a metodologia proposta por Edmonson et al. (1989).

O bem-estar das vacas foi avaliado de acordo com os seguintes aspectos 1) no máximo 1 de 20 vacas (<5%) claudicando. O escore de claudicação foi estabelecido segundo Juarez et al., 2003); 2) no máximo 1 vaca em 20 (<5%) com lesões de jarrete? 3); menos de 15% (3 de

20) das vacas com retenção de placenta após 24 horas após o parto?; 4) menos de 30% das vacas (6 de 20) ofegantes?; 5) menos de 20% das vacas (4 de 20) diagnosticadas com acidose (gordura do leite invertida). As perguntas também podiam ser respondidas com: Sim ou Não, e as notas foram: 1 - todas as respostas sim; 2 - quatro respostas sim; 3 - três respostas sim; 4 - duas respostas sim; 5 - uma resposta sim. Quanto maior a nota, pior o bem-estar dos animais.

O último passo para avaliar a cronicidade das infecções foi a análise dos protocolos de tratamentos realizados nas fazendas. Para isso, fez-se as seguintes avaliações: 1) todos os tetos das vacas são tratados com terapia da vaca seca ao secar?; 2) todos os tetos das vacas em primeira lactação são tratados 60 dias antes do parto com terapia da vaca seca?; 3) existe um procedimento operacional para tratar a mastite clínica?; 4) são realizadas culturas microbiológicas para todos os casos de mastite clínica ?; 5) é utilizada terapia prolongada a para vacas diagnosticadas com *Staphylococcus aureus*?; 6) existe registro de severidade, agente e tratamento de tetos acometidos por mastite clínica? As perguntas também podem ser respondidas: Sim ou Não, e as notas foram estabelecidas da seguinte forma: 1 - todas as respostas sim; 2 - uma resposta não; 3 - duas respostas não; 4 - três respostas não; 5 - mais de 3 respostas não. Assim como nos demais casos, quanto maior a nota estabelecida, pior era o protocolo de tratamento da fazenda.

A partir dos dados coletados, foram analisadas as variáveis mais fortemente relacionadas à mastite clínica e subclínica em fazendas leiteiras, bem como a correlação entre essas variáveis com o CBT e CCS dos tanques de refrigeração das fazendas leiteiras. A mastite clínica foi considerada quando existiam sinais evidentes de inflamação na glândula mamária, alterações no aspecto ou coloração do leite e/ou quando o animal apresentava sinais clínicos sistêmicos. Já a mastite subclínica foi considerada quando a amostra de leite coletada de uma vaca apresentava resultados de CCS acima de 200.000 céls/mL (Dohoo e Leslie, 1991).

Além disso, foram enviadas amostras de leite de vacas com mastite (CCS > 200.000 células/mL e com mastite clínica) para análise de cultura microbiológica para identificar os patógenos mais prevalentes nos rebanhos. As vacas com mastite clínica foram identificadas durante a ordenha, sendo evidenciados para tanto, sinais de alterações no aspecto do leite, sinais locais na glândula mamária e/ou sinais sistêmicos. Já para a detecção de vacas com mastite subclínica foi realizado o *California Mastitis Test* (CMT). As amostras destinadas a cultura microbiológica foram enviadas e analisadas no Laboratório de Pesquisa em Qualidade do Leite - Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brasil. Salienta-se que,

os dados de microbiologia foram analisados de maneira descritiva para apresentação da sessão dos resultados e discussão.

4.1.1 Análise estatísticas

Primeiramente, realizou-se uma análise de correlação para avaliar as relações entre as variáveis, por meio do método paramétrico de Pearson. Variáveis que apresentaram altas correlações (maiores que 0,60 ou menores que -0,60) foram usadas para a análise final. Finalmente, uma análise de fatores (AF) foi realizada para reduzir a dimensionalidade da base de dados e identificar os fatores de risco relacionados com a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras na região de Minas Gerais, Brasil.

Para realizar a AF foi utilizado o comando ACP da biblioteca do FactoMineR (Husson et al 2010) do programa R-Project (R Core Team 2014). Após a AF, selecionou-se os fatores que, em conjunto, conseguissem explicar 70% da variabilidade da mastite dos rebanhos. Por fim, as variáveis iniciais foram utilizadas para análise de correlação com CCS e CBT utilizando-se o método paramétrico de Pearson.

4.2 Método de Análise e Solução de Problemas para a redução da CCS e CBT

O estudo foi realizado nas mesmas 16 propriedades leiteiras situadas no estado de Minas Gerais – Brasil. As fazendas foram selecionadas a partir de um grupo maior de fazendas. Em conjunto, as propriedades apresentavam aproximadamente 4.000 animais, predominantemente da raça Holandês, criados em sistema semi-extensivo, com ordenhadeira mecânica (duas ordenhas diárias). Todos os dados foram coletados por consultores (Médicos Veterinários) que receberam treinamento sistemáticos prévio, a fim de se evitar ao máximo a influência nas respostas coletadas.

Para seleção das fazendas, inicialmente foram avaliadas 400 fazendas pertencentes ao mesmo latício para entrega de leite. Destas, 100 foram selecionadas por terem potencial para melhoria da qualidade do leite (mesma região e CCS alta). Os 100 gestores ou proprietários foram convidados para uma reunião, em que, foi apresentada a proposta da implantação do programa de gerenciamento para melhoria da qualidade do leite e, aplicou-se então, um questionário para avaliação da motivação deste para redução da CCS e CBT da fazenda. A partir do questionário, selecionou-se 25 fazendas com gestores e proprietários motivados para a implantação do projeto piloto. Após, explicou-se detalhadamente sobre todas as atividades a

serem realizadas, metas, benefícios e riscos e, somente 16 proprietários ou gestores decidiram continuar no projeto.

A seleção das fazendas foi feita com o objetivo de realizar a implantação de um programa de melhoria da qualidade do leite através de um modelo de gestão. Assim, o intuito principal do programa, após os 6 meses, era de reduzir a CCS e CBT das fazendas estudadas.

O modelo de gestão escolhido para melhoria da qualidade do leite foi o MASP – Método de Análise e Solução de Problemas (CAMPOS, 1992). Este programa foi dividido em três grandes partes (olhe, pense e aja). A primeira parte do modelo, o olhe, estava relacionado com a realização de um diagnóstico de situação inicial das fazendas. Para este diagnóstico, foram realizadas duas visitas, antes do início da implantação do programa. Estas visitas tinham o objetivo de caracterizar as fazendas e identificar os problemas relacionados a ocorrência de mastite para, posteriormente, identificar as causas dos problemas.

Portanto, nestas visitas foram coletados dados de CCS e CBT de cada rebanho (média geométrica dos últimos três meses). Além disso, foram coletadas informações que pudessem responder dois fatores principais: o risco de novas infecções intramamárias e o risco de cronicidade das infecções intramamárias. Para o primeiro fator avaliou-se, 1) condição dos tetos 2) biossegurança; 3) higiene/instalações; 4) equipamento de ordenha; 5) procedimento de ordenha e; 6) eficiência de ordenha. Já para a avaliação do segundo fator, considerou-se 1) imunidade das vacas; 2) bem-estar; e, 3) protocolo de tratamento. Estas análises foram realizadas conforme a descrição no item 4.1.

De posse das notas, o consultor realizou um diagnóstico de situação de cada fazenda com relação a mastite. Com isto, foi possível identificar quais os pontos da propriedade que estavam mais problemáticos para o aumento do risco de novas infecções intramamárias e cronicidade das infecções intramamárias e, então, construiu-se um gráfico de radar (Figura 1). Este diagnóstico foi essencial para a segunda parte do projeto de implantação do MASP.

Figura 1 – Exemplo de gráfico de radar realizado em uma das propriedades participantes do Programa de Melhoria da Qualidade do Leite (MASP), demonstrando as áreas mais problemáticas para ocorrência de mastite nesta propriedade.

A segunda parte do projeto foi a *Pense*, que estava relacionada com a observação das características dos problemas, determinação das causas e construção de um plano de ação (corretivas e preventivas). Para definir as causas dos problemas foi realizada um *Brainstorm* com a equipe, gestor e/ou proprietário da fazenda. Nesta reunião, cada pessoa procurou identificar o maior número de causas possíveis para os problemas levantados. Para categorizar as causas foi utilizado o Diagrama de Ishikawa (Causa e Efeito) (ISHIKAWA, 1993), de modo que as oito causas mais relevantes foram colocadas no papel em ordem de maior para menor relevância.

Ainda na parte *Pense*, foi estabelecido as ações mais importantes para a resolução das causas raízes levantadas anteriormente. Para isso, estabeleceu-se o grau de importância das ações através de três análises: 1) importância: ponderou-se os impactos do problema, no processo, no cliente, redução do custo, entre outros; 2) autonomia para solução: Avaliou-se o grau de autonomia da operação para implementar a solução planejada; 3) complexidade: ponderou-se etapas necessárias, áreas envolvidas, custos e tempo para implantação e obtenção dos resultados. A partir destes critérios estabeleceu-se uma pontuação para priorizar as ações mais importantes a serem realizadas.

Depois da priorização das ações, escolheu-se as quatro primeiras para serem desdobradas em tarefas. As tarefas para cada ação foram detalhadas da seguinte forma: qual tarefa; quem

será responsável por executá-la, quando será executada, por que será executada, como será realizada, onde e, quanto custará. Com isso, criou-se um plano de ação que continha: nome do projeto, data, produtor, contato, objetivo do projeto, escopo, requisitos e necessidades, principais marcos e datas. Depois do preenchimento, o Plano de ação foi devidamente assinado pelos participantes.

A terceira parte da implantação do programa MASP foi a Aja. Para isto, antes do consultor visitar a fazenda, este tinha acesso a informações a respeito dos dados de qualidade do leite da propriedade (CCS e CBT). De posse destes dados, criou-se uma carta controle, contendo limites máximos e mínimos para a manutenção destas variáveis controladas. Além disso, o consultor tinha um sistema de gerenciamento de indicadores da fazenda online, em que, era possível o registro das atividades do plano de ação, pendências, análise de fatos e, ações que a fazenda deveria ter realizado, mas, não realizou.

Após a consulta destes dados, o consultor fazia visitas a fazenda (4 visitas no total). Nestas, eram realizados treinamentos e monitorias com os funcionários das fazendas sobre os procedimentos operacionais ou protocolos criados para melhoria da qualidade do leite. Além disto, colocou-se em ação medidas para corrigir todos os aspectos relacionados ao: risco de novas infecções (condição dos tetos, biossegurança, higiene do ambiente, equipamento de ordenha, procedimento de ordenha e eficácia de ordenha) e, risco de cronicidade das infecções (Imunidade, bem-estar e protocolo de tratamento).

Quando os indicadores (CCS e CBT) ficavam fora do limite mínimo ou máximo da carta controle, uma marcação indicava que o consultor deveria fazer uma análise mais aprofundada dos motivos para isto. Esta análise era realizada através da utilização do método fato, causa e ação (FCA) (SHOOK, 2008). Para isto, registrava-se o fato, descrevendo o motivo pelo qual o indicador saiu da normalidade; buscava-se descobrir as causas raízes para a ocorrência disto; definia-se ações que pudessem eliminar as causas dos problemas.

Ademais, era realizada uma verificação das ações atrasadas ou que não foram realizadas. Para as ações que não eram realizadas, descrevia-se o motivo pelo qual ela ainda não tinha sido feita. No caso de uma ação ter sido suspensa ou cancelada, escolhia-se uma outra ação que pudesse substituir a anterior. Após isto, realizava-se um plano de ação para que os funcionários ou gerentes pudessem fazê-las ou corrigi-las.

Após as duas visitas para realização do diagnóstico de situação de cada uma das fazendas e, as outras quatro visitas para execução, monitoria e correção das ações com objetivo de redução da CCS e CBT das fazendas, encerrou-se o projeto, após seis meses do início da execução.

Para constatação da eficiência do método MASP na redução da CCS e CBT das fazendas, coletou-se dados de CCS e CBT um ano antes do início do programa, durante a implantação (seis meses) e, cinco meses após a implantação do programa. Por isso, para análise, o estudo foi dividido em três fases: Fase 1: Antes da implantação do programa de melhoria da qualidade do leite (janeiro até dezembro de 2014); Fase 2: Durante a implantação (janeiro até junho de 2015); Fase 3: Depois da implantação (julho até dezembro de 2015).

Além das 16 fazendas que participaram do programa MASP, coletou-se dados no mesmo período de tempo de outras 16 fazendas que não participaram do programa, de modo a ter um grupo controle. Estas outras 16 fazendas foram escolhidas aleatoriamente a partir de um grupo de 100 fazendas. É importante salientar que estas tinham as mesmas características das demais quanto a raça (predominantemente, Holandês), sistema de produção (semi-extensivo com ordenhadeira mecânica) e manejo (duas ordenhas diárias), além da localização (região do Brasil) e laticínio para venda do leite.

Os dados das fazendas que participaram do MASP e as do grupo controle, também foram estudados de acordo com as estações do ano que aconteceram durante as fases, de modo a se isolar estatisticamente a influência da estacionalidade sobre a qualidade do leite. Assim, avaliou-se a variação dos resultados nas quatro estações: primavera, verão, outono e inverno.

4.2.1 Análise estatística

Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva dentro das categorias estudadas (fase, uso ou não do programa MASP e estação do ano), em que foram calculadas medidas descritivas para as variáveis CCS e CBT. As análises descritivas foram calculadas por meio do PROC MIXED do software SAS.

Para modelar o efeito de fase, estação do ano e implantação ou não do programa MASP foi realizado um modelo linear misto, utilizando o PROC MIXED do SAS. As variáveis CCS e CBT foram transformadas para logaritmo na base 10, por não apresentarem distribuição normal. Para a modelagem, incluímos como efeitos fixos a estação do ano, implantação ou não do programa MASP, fase, bem como, a interação entre fase e implantação ou não do programa MASP. As fazendas amostradas foram consideradas como efeito aleatório. Além disso, levamos em consideração as medidas repetidas igualmente espaçadas (medidas mensalmente) para as fazendas, de forma que utilizamos uma matriz de variância-

covariância autorregressiva de primeira ordem homogênea. Outras matrizes também foram consideradas, porém, a citada esteve entre as que apresentaram melhores valores de BIC e AIC (critérios de informação para avaliação de ajuste de modelos) (WOLFINGER, 1993) e, a que melhor se adequava à estrutura de medidas repetidas dos dados estudados. Normalidade dos resíduos foi verificada por meio de histogramas utilizando o PROC UNIVARIATE. De forma geral, o modelo estatístico empregado tanto para CCS como para CBT, segue abaixo:

$$y_{ijkl} = \mu + B_i + C_j + D_k + (CD)_{jk} + \delta_l + \varepsilon_{ijkl}$$

onde,

y_{ijkl} = valor da variável resposta dentro da i -ésima estação, afetada pelos efeitos da j -ésima fase de implantação, k -ésimo nível de implantação ou não do programa MASP e l -ésimo efeito de fazenda;

μ = média constante comum a todas as observações;

B_i = efeito da i -ésima estação com $i = 4$;

C_j = efeito da j -ésima fase de implantação com $j = 3$;

D_k = efeito do k -ésimo nível de implantação ou não do programa MASP com $k = 2$;

$(CD)_{jk}$ = efeito da interação entre fase de implantação e implantação ou não do programa MASP;

δ_l = efeito aleatório da l -ésima fazenda com $l = 30$;

ε_{ijkl} = erro aleatório associado à observação y_{ijkl} .

Quando a interação mostrou-se significativa, realizou-se o desdobramento da interação, ou seja, as fases foram comparadas dentro de cada nível de implantação ou não do programa MASP, e a implantação ou não do programa MASP foi comparado dentro de cada nível de fase. Quando a interação entre os fatores não foi significativa, comparou-se os efeitos isoladamente. A comparação entre as médias foi feita por meio do teste ajustado de Tukey-Kramer, sendo que os resultados foram apresentados na forma de médias ajustadas de $\log_{10}$ de CCS e CBT e seus erros padrão, bem como seus valores retransformados para a escala original. As médias ajustadas foram calculadas por meio do método de mínimos quadrados.

Todas as análises foram realizadas no software SAS, versão 9.1 (SAS/2012). Foram consideradas diferenças estatísticas significativas ao nível de 0,05 (5%) de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Fatores de risco relacionados a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras

Os dados descritivos dos rebanhos estão apresentados na Tabela 1. Estes dados referem-se ao número de vacas em lactação; número de novilhas; número de vacas secas e produção média por vaca (litros/dia). Também são apresentados os dados relacionados a qualidade do leite produzido: CCS e CBT do tanque de resfriamento.

Tabela 1 – Análise descritiva de dados referentes ao tamanho das propriedades leiteiras e a qualidade do leite (CCS e CBT).

	Média	Mínimo	Mediana	Máximo	DP³
Número de vacas em lactação	130,5	31	108,5	309	82,7
Número de novilhas	53,5	9	37,5	200	52,6
Número de vacas secas	40,4	8	26,5	128	35,3
Produção de leite por vaca ¹	19,5	9	19,8	27,3	5,2
CBT (ufc/mL) ²	74,9	10,4	21,6	340,6	112,5
CCS (x1000 cél/mL) ²	967	400	679	2600	616

¹Litros/vaca/dia; ² Tanque de expansão; ³ Desvio padrão.

Na Tabela 2 estão apresentadas as análises de correlação entre as variáveis relacionadas a mastite clínica e subclínica e a CCS e CBT nas propriedades leiteiras. Um dos fatores que pode levar a queda na produção de leite é o aumento na CCS (PYÖRÄLÄ, 2003; ZANELA et al., 2006), fato que pode ser comprovado pela correlação negativa ($r = -0,5$) e significativa ($P < 0,01$) encontrada entre estas duas variáveis no presente estudo. Cunha et al. (2008), em trabalho realizado com vacas da raça Holandesa, também encontraram correlação negativa entre a CCS e a produção de leite. O mesmo foi verificado por Pereira et al. (2001), que convertendo a CCS para escore linear, observaram efeito negativo para a produção de leite, sendo que o aumento de apenas uma unidade de escore linear correspondeu a uma redução de 315 kg de leite por animal em 305 dias de lactação. Segundo Auldist e Hubble (1998) a menor produção de leite se deve a ocorrência de lesões às células epiteliais durante a mastite provocando menor síntese e secreção pela glândula mamária. Além disso, nas infecções subclínicas, os microrganismos presentes podem obstruir os ductos da glândula mamária dificultando a passagem do leite.

Tabela 2 – Correlação entre as variáveis relacionadas a mastite clínica e subclínica com CCS e CBT nas propriedades leiteiras.

% Variáveis	Correlação	
	CBT	CCS
Número vacas lactação	0,1	-0,1
Número novilhas	-0,1	-0,3
Número vacas secas	-0,0	-0,2
Producao vaca (L/vaca/dia)	-0,5	**0,5
CBT (ufc/mL)	1,0	**0,9
CCS (cél/mL)	**0,9	1,0
Número mastite clínica mês	-0,1	-0,1
Número de mortes por mastite	-0,1	-0,1
Número de descartes por mastite	0,0	0,2
Proporção de casos clínicos com febre	0,3	0,3
Condição dos tetos	0,3	0,4
Higiene das instalações	0,1	0,3
Equipamento de ordenha	0,2	0,3
Procedimento de ordenha	0,2	0,4
Eficácia de ordenha	0,1	0,3
Imunidade	0,3	0,4
Bem-estar	0,2	0,3
Protocolo de tratatamento	0,2	0,0

****** Estatisticamente significativo: $P < 0,001$

A análise de correlação entre a CCS e a CBT foi positiva ($r = 0,9$) e significativa ($P < 0,01$), isto é, quanto maior a CBT de um rebanho maior a CCS deste mesmo rebanho. Rysanek e Babak. (2005) também analisaram a correlação entre a CCS e CBT de 70.000 dados, sendo que, quando se considerou os rebanhos com mais de 400.000 cél/mL de CCS, o coeficiente de correlação encontrado foi de $r = 0,8$. Os autores afirmaram que a correlação encontrada entre a CBT e a CCS mostra que, a CCS pode ser um indicativo das condições de higiene em uma propriedade.

A CBT é uma das ferramentas utilizadas para avaliação da qualidade do leite em diversos países, sendo uma medida direta de contaminação por microrganismos. Esta contaminação pode ocorrer através de microrganismos presentes dentro da glândula mamária do animal, a partir da superfície externa de tetos e do úbere e, também a partir dos equipamentos e utensílios de ordenha contaminados (SANTOS e FONSECA, 2001). Assim, rebanhos com altas CBT apresentam condições higiênicas ruins e, consequentemente, têm maior presença de

microrganismos durante a ordenha dos animais. Estes fatores podem contribuir para maior contaminação das vacas e ocorrência de mastite, com consequente aumento na CCS do leite.

Existem muitos fatores que podem levar a alta CBT e alta CCS no leite dos tanques das fazendas. Entre estes fatores, destaca-se a presença de infecções intramamárias causadas por agentes contagiosos, principalmente *Streptococcus agalactiae*. As amostras de leite dos rebanhos infectados por esta bactéria tipicamente exibem CBT entre 20.000 e 100.000 (ufc/mL) (HOGAN e SMITH, 1992). Portanto, uma das medidas para reduzir a CBT e, conseqüentemente, a CCS do leite destas fazendas, consiste na prevenção e controle de *Streptococcus agalactiae*. De fato, os rebanhos que participaram no presente estudo apresentaram uma alta porcentagem de *Streptococcus agalactiae*, de 14,9% (Tabela 3).

Tabela 3 – Principais microrganismos identificados no leite de vacas com mastite clínica e subclínica das propriedades leiteiras.

Microorganismos	%
<i>Corynebacterium</i> spp.	1,6
<i>Enterobacter</i> spp.	0,8
Leveduras spp	0,8
Negativas	47,4
<i>Pseudomonas</i> spp.	0,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,3
<i>Staphylococcus</i> coagulase-negativa	5,6
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	5,6
<i>Streptococcus agalactiae</i>	14,9
<i>Streptococcus bovis</i>	0,8
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	0,8
<i>Streptococcus uberis</i>	8,0
Total	100,0

Embora não estatisticamente significativas, as correlações entre a CCS e a condição dos tetos e CCS e procedimento de ordenha foram altas ($r = 0,44$). A ocorrência de lesões ou hiperqueratose nos tetos dos animais predispõem a ocorrência de mastite e, conseqüentemente, leva a um aumento na CCS do leite (NEIJENHUIS et al., 2001). Unnerstad et al. (2009) estudaram os fatores de risco associados à ocorrência de mastite em 987 quartos mamários e, descobriram que o risco foi maior para a ocorrência de infecções intramamárias causadas por *Arcanobacterium pyogenes* e *Streptococcus dysgalactiae* em vacas com lesões nos tetos.

Além disso, a realização de um procedimento apropriado de ordenha é de grande importância no controle e prevenção da mastite nas fazendas leiteiras. Assim, os 10 pontos sugeridos (NMC, 2004) para um bom procedimento de ordenha devem ser seguidos para reduzir a ocorrência de infecções intramamárias e, assim, reduzir a CCS das fazendas.

Na Figura 2 são apresentados os níveis e as correlações entre todas as variáveis no presente estudo. Assim, pode-se observar correlação negativa entre o protocolo de tratamento e o número de descartes. Ou seja, quanto melhor for o protocolo de tratamento (terapia da vaca seca, procedimento operacional para tratar a mastite clínica, culturas microbiológicas, terapia prolongada para *Staphylococcus aureus*, registro de severidade, agente, tratamento de tetos acometidos por mastite clínica, terapia da vaca seca, terapia da mastite clínica e cultura microbiológica) de uma propriedade, menor as chances de descartes dos animais.

A imunidade das vacas foi negativamente associada com o número de casos de mastite clínica no mês. Portanto, quanto melhor for a imunidade das vacas (escore de condição corporal na última gestação, suplementação com vitamina E e selênio no pré-parto, vacinação contra conlíformes antes do parto, monitoramento de distúrbios metabólicos (cétose, consumo de matéria seca, temperatura retal) e, ajustes diários na alimentação, menor a ocorrência de mastite clínica na propriedade (Figura 2).

A qualidade do equipamento de ordenha foi positivamente associado com o procedimento de ordenha, ou seja, quanto melhor for o equipamento de ordenha utilizado, melhor será o procedimento de ordenha. E, o equipamento de ordenha foi negativamente associado com o número de mortes devido a mastite por ano. Então, uma propriedade pode reduzir o número de mastite e, conseqüentemente, o número de mortes devido a esta doença, com a utilização de um bom equipamento de ordenha (Figura 2).

CBT e CCS foram negativamente associadas com a produção de leite individual. Como mencionado anteriormente, A CBT pode levar ao risco de ocorrência de mastite (alta correlação positiva) e, a mastite, por sua vez, pode levar a redução na produção de leite. Já o aumento da CCS esta diretamente relacionado a redução na produção do leite dos animais (Figura 2).

A higiene das instalações foi positivamente associada com o procedimento de ordenha. Faz sentido que, se houver instalações mais limpas, melhor será o procedimento de ordenha realizado nos animais. Já a higiene das instalações foi negativamente associada com o número de mortes devido a mastite, mostrando que, quanto melhor a higiene do ambiente, menor o

número de ocorrências de mastite e, consequentemente, menor a porcentagem de morte na propriedade (Figura 2).

A importância da condição dos tetos e do procedimento de ordenha já foram discutidas anteriormente com relação ao aumento na CCS e risco de mastite nas fazendas. Nesta figura, os resultados corroboram com estas afirmações, já que, a condição dos tetos foi positivamente associada com o procedimento de ordenha.

Figura 2 – Correlação entre todas as variáveis relacionadas a mastite clínica e subclínica em propriedades leiteiras.

*(Protocolo de tratamento; Imunidade; Porporção de casos clínicos com febre; Eficiência da ordenha; Equipamento de ordenha; Procedimento de ordenha; Contagem bacteriana total – ufc/mL; Contagem de células somáticas- cél/mL; Higiene das instalações; Condição dos tetos; Bem-estar; Número de descartes devido à mastite; Número de mastite clínica/mês; Número de novilhas; Produção de leite por vaca – litros/dia; número de vacas em lactação; Número de vacas secas; Número de morte devido a mastite) nas propriedades leiteiras.

O nível de explicabilidade dos fatores selecionados e a porcentagem de participação das variáveis em cada fator são apresentados na Tabela 4. Quatro fatores representaram 72,3% da variação da mastite nos rebanhos leiteiros estudados. Como mencionado anteriormente, a mastite é uma doença multifatorial que envolve a tríade complexa: hospedeiro, microorganismo e meio ambiente. Se considerarmos isso, encontrar fatores que explicaram mais de 70% desta doença pode ser considerado notável.

Tabela 4 – Variáveis relacionadas a mastite nas propriedades leiteiras e dimensões com maior significância

	Fator 1*	Fator 2*	Fator 3*	Fator 4*
% Variáveis	29,7	17,1	13,5	11,9
Número de vacas em lactação	8,6	0,0	6,2	2,9
Número de novilhas	11,1	4,1	0,1	2,7
Número de vacas secas	13,3	0,1	6,4	0,1
Produção leiteira por vaca ¹	2,2	0,0	14,8	9,7
CBT ²	2,4	0,7	26,7	0,6
CCS ³	5,6	2,8	22,7	0,1
Casos de mastite clínica/mês	3,4	17,2	0,1	9,1
Morte devido a mastite	7,7	1,3	4,4	9,7
Descarte devido a mastite	0,1	6,5	0,3	33,5
Porcentagem de casos clínicos	3,1	2,7	0,1	0,3
Condição dos tetos	0,6	15,4	0,6	0,0
Higienidade das instalações	7,5	10,6	2,8	0,7
Equipamento de ordenha	11,9	0,3	0,9	1,1
Procedimento de ordenha	10,7	2,9	0,2	0,0
Eficácia de ordenha	9,2	1,4	0,0	5,6
Imunidade	1,4	2,5	9,6	9,2
Bem-estar	0,1	16,6	2,2	0,1
Protocolos de tratamento	1,1	14,6	1,6	13,5

¹Litros/vaca/dia; ² Contagem bacteriana total do tanque de resfriamento; ³Contagem de células somáticas do tanque de resfriamento.

*Fator 1: Tamanho do rebanho e rotina de ordenha; Fator 2: Controle da mastite; Fator 3: Qualidade e produção higiênico-sanitária; Fator 4: Descarte.

A dimensão 1 explicou 29,73% da variabilidade e foi nomeada como: Tamanho do rebanho e rotina de ordenha, já que as seguintes variáveis apresentaram maior participação nesta dimensão: Número de novilhas e vacas secas, equipamento, procedimento e eficácia da ordenha.

Uma das formas de prevenção e controle da mastite nos rebanhos consiste na adoção de medidas que visem diminuir as taxas de novas infecções nas propriedades. Sendo assim, o número de novilhas em um rebanho normalmente está associado com a redução da mastite e, conseqüentemente a CCS do tanque das fazendas. Isto é, quanto maior o número de novilhas de um rebanho, menor é, normalmente, a mastite deste rebanho. Embora hoje sabe-se que as novilhas também possam apresentar infecções intramamárias (FOX, 2009), este grupo de animais ainda não sofreram o rigor de ordenhas diárias e, portanto, são menos expostos a agentes patogênicos contagiosos que podem ser transmitidos durante a ordenha, quando comparadas às vacas em lactação.

No entanto, nos rebanhos onde a mastite ambiental é a principal causa da mastite, as novilhas podem realmente estar em maior risco de doença, pois não são tratadas com terapia da vaca seca. Este é o exemplo de fazendas bem gerenciadas em países como EUA e Nova Zelândia. Vários estudos sobre propriedades americanas mostraram que os agentes patogênicos mais prevalentes que causam mastite clínica e aumento de CSS no tanque são geralmente agentes que se originam do meio ambiente (LAGO et al, 2011; PINZÓN SÁNCHEZ e RUEGG, 2011; SCHUKKEN et al., 2011).

De acordo com De Vlieghe et al. (2012), o aumento do tamanho médio dos rebanhos esta exigindo um aumento das novilhas para reposição. Nas últimas décadas, há uma maior preocupação com uma grande criação desta categoria de animais, de modo que, esses animais permaneçam saudáveis e possam compensar o investimento feito em sua criação. Assim, a adoção de medidas destinadas a reduzir o risco de infecções intramamárias durante esta fase tem importância fundamental para a redução da mastite em rebanhos leiteiros (MCDOUGALL et al., 2009).

Além da criação de novilhas, outro passo muito importante no controle e prevenção da mastite é o período seco (NATZKE et al., 1975; CAMERON et al., 2014). Este período é crítico em dois momentos principais: no início, no qual o canal do teto pode estar aberto, facilitando a entrada de microorganismos causadores da mastite e, no final, próximo ao parto, onde o canal do teto também pode estar aberto, devido a produção de colostro e, principalmente, devido a alterações hormonais e baixa imunidade da vaca devido a estas alterações (GREEN et al., 2007). Os últimos autores citados avaliaram a influência de estratégias de manejo no período seco para a ocorrência de mastite clínica em 52 rebanhos comerciais durante 2 anos. Eles observaram que, fatores como $CCS \geq 200,000$ células/mL 90 dias antes da secagem e a falta de higiene ambiental foram positivamente associados com maior taxa de mastite clínica no início da lactação.

No presente estudo, o número de vacas secas foi uma variável significativa para a ocorrência de mastite clínica nas fazendas. Isso pode ser comprovado pelas contribuições desta variável tanto no fator 2 (14.6) quanto no fator 4 (13.5). Assim, a prevalência de mastite em um rebanho pode ser menor, dependendo de quanto maior o número de vacas secas ou maior for a eficiência da secagem. A eficiência da secagem está relacionada com várias estratégias de manejo antes, durante e após a secagem, como, por exemplo, o uso de terapia de vaca seca. De acordo com Gruet et al. (2001) o uso de antibióticos intramamários é uma estratégia importante para o tratamento e controle da mastite ao secar as vacas.

A realização de um procedimento de ordenha adequado, além da manutenção do equipamento de ordenha em boas condições de uso, são medidas essenciais para o controle da mastite nos rebanhos (BARKEMA et al., 1999; GUARÍN e RUEGG, 2016). Na maioria das fazendas visitadas, não havia nenhum procedimento de ordenha estabelecido e, em algumas fazendas, a realização do *pré-dipping* e *pós-dipping* não era feita da maneira correta, bem como a colocação das teteiras e a limpeza dos tetos. Haltia et al., 2006 afirmou que um dos fatores que contribui para a redução da prevalência de mastite nas propriedades, consiste na redução da carga de microrganismos presentes no teto do animal para a realização da ordenha.

Em um estudo realizado em Minas Gerais com 24 propriedades leiteiras, Coentrão et al. (2008) também mostraram que o equipamento de ordenha foi um fator de risco para a ocorrência de mastite subclínica. Os fatores associados com a mastite subclínica nesse estudo incluíram: estado inadequado do equipamento de ordenha, fissuras na borracha do equipamento e deficiência na limpeza dos tetos.

Reyes et al. (2017) investigou a influência do procedimento de ordenha sobre os valores de CCS de 130 rebanhos em clima tropical e, observou que a falta de remoção dos primeiros jatos de leite aumentou em 27% a CCS dos tanques. No mesmo estudo, a falha na realização do *pós-dipping* foi associada a um aumento de 45% na CCS das fazendas estudadas.

O fator 2 explicou 17,15% da variabilidade dos dados e foi nomeado de controle da mastite, considerando que as seguintes variáveis apresentaram as maiores porcentagens de informação: número de mastite clínica no mês, condição dos tetos, higiene das instalações, bem-estar animal e protocolo de tratamento da mastite.

Apesar de ser menos prevalente nos rebanhos leiteiros do que a mastite subclínica, a mastite clínica continua a ser um problema que causa enormes perdas para os produtores de leite, sendo uma das principais causas de morte em vacas (ECKERSALL et al., 2001). A detecção da mastite clínica pode ser feita através da inspeção de alterações na aparência do

leite, sinais locais na glândula mamária (edema, dor, vermelhidão) ou sinais sistêmicos no animal (febre, apatia, anorexia e desidratação) (GRUET et al., 2001).

O controle e monitoramento de quantos casos clínicos estão ocorrendo durante o mês é muito importante no controle da mastite em fazendas leiteiras. É necessário verificar periodicamente qual é o comportamento dos casos clínicos na fazenda, ou seja, se há um aumento ou uma redução no número de casos. Além de saber se o número de casos clínicos está dentro do esperado para uma determinada fazenda, deve-se avaliar se o número de casos está acima do ideal. Assim, por exemplo, é possível melhorar as medidas de controle para evitar casos futuros.

Embora microorganismos contagiosos possam levar à ocorrência de casos clínicos em vacas leiteiras, a maior proporção de mastite clínica é causada por agentes ambientais, principalmente coliformes e espécies ambientais de *Streptococcus* (HOGAN e SMITH, 2003). Rajala-Schultz et al. (1999) avaliaram o efeito da mastite clínica na produção de leite e descobriram que as perdas de leite nas primeiras duas semanas após o diagnóstico variaram de 1,0 a 2,5 k /dia. No entanto, Wilson et al. (2004) mostraram que as perdas de leite foram de 5 a 7 kg / dia nas primeiras 2 semanas após o diagnóstico. De acordo com Grohn et al. (2004) a gravidade das perdas de leite pode ser muito diferente, dependendo de quais patógenos estão envolvidos e, portanto, a determinação destes é fundamental.

Em nosso estudo, a condição dos tetos foi avaliada em relação à porcentagem de vacas com hiperqueratose. Das 16 fazendas avaliadas, apenas uma fazenda avaliada apresentou menos de 10% de hiperqueratose, sendo que, em contraste o restante apresentou mais de 30% das vacas com lesões dos tetos. Uma das principais causas dessas lesões são problemas com o equipamento de ordenha, como o vácuo muito alto ou sobreordenha. Neijenhuis et al. (2001) realizaram um estudo em 15 rebanhos para avaliar a relação da hiperqueratose com a ocorrência de mastite clínica. Os autores encontraram uma média de 34% dos quartos com hiperqueratose, sendo que, estes apresentaram uma prevalência estatisticamente maior de mastite clínica em comparação com os quartos saudáveis.

De acordo com O'Shea. (1987), a principal forma de entrada de bactérias no úbere é através do canal do teto. Assim, a integridade desta estrutura representa a primeira linha de defesa contra futuras infecções intramamárias. Vários fatores estão relacionados ao aumento da hiperqueratose, mas principalmente as forças mecânicas e manejo ruim durante o procedimento de ordenha são os principais (NEIJENHUIS et al., 2000).

No que diz respeito à higiene ambiental, o presente estudo procurou avaliar as condições do ambiente da maternidade e do alojamento das vacas em lactação. A higiene de um

ambiente está intimamente ligada à carga microbiana existente, sendo assim, os animais podem se contaminar e, conseqüentemente, desenvolver infecções intramamárias devido ao contato com estes ambientes sujos. Elbers et al. (1998) estudaram os fatores de risco relacionados à ocorrência de mastite clínica nos rebanhos e descobriram que a falta de desinfecção na maternidade aumentou a taxa de mastite clínica causada por *Escherichia coli*. Além disso, os autores observaram que a mastite causada por *Staphylococcus aureus* foi maior em fazendas que não realizavam a limpeza das camas das vacas em lactação.

Além da mastite, a presença de outras doenças foi pesquisada por meio de informações sobre claudicação, retenção da placenta, acidose e hipertermia. No presente estudo, mais de 50% das propriedades responderam que as vacas tinham pelo menos uma destas doenças. Ou seja, suas vacas não apresentavam saúde adequada durante o estudo. De acordo com o Código Internacional de Boas Práticas na Produção de Leite (Código de Boa Prática Láctea IDF / FAO 2004), os animais devem estar livres de dores, lesões e doenças para que seu bem-estar seja assegurado.

Estudos demonstraram que altos níveis de cortisol, causados por estresse ou doenças, estiveram relacionados à perda de expressão de moléculas críticas para adesão e ação de neutrófilos (MONFARDINI et al., 2002, BURTON et al., 2005). Os neutrófilos são considerados as principais células de defesa nas infecções intramamárias em vacas leiteiras (BURTON et al., 2005). Ou seja, a liberação do hormônio do estresse pode levar à imunossupressão e, conseqüentemente, aumentar o risco de ocorrência de mastite.

Na avaliação do protocolo de tratamento utilizado nos casos de mastite, as questões foram feitas tanto para avaliação do tratamento antes do período seco como para casos de mastite durante a lactação. Buscou-se também, avaliar a existência ou não de um protocolo de tratamento definido e sobre o uso de cultura prévia para seleção do tratamento a ser realizado. Noventa por cento das fazendas avaliadas teve uma nota 5 para estas informações, ou seja, não responderam mais do que três perguntas. Em geral, as respostas negativas foram para a existência de um procedimento operacional no tratamento da mastite clínica, para a realização de cultura para a mastite clínica, para terapia prolongada para vacas com *Staphylococcus aureus* e, para registro de gravidade, agente e tratamento dos quartos afetados por mastite clínica.

O fator 3 explicou 13,51% da variabilidade dos dados e foi denominado "qualidade e produção higiênico-sanitária", uma vez que as seguintes variáveis foram as que melhor explicaram esse fator: produção de leite por vaca, CBT e CCS.

A contagem de células somáticas tem sido utilizada por muitos anos como indicador de infecções intramamárias em todo o mundo e pode ser utilizada no rebanho ou a nível individual para monitorar a ocorrência de mastite subclínica (PYÖRÄLÄ, 2003). De acordo com Bytyqi et al. (2010) a concentração de células somáticas no leite normal varia com o tipo de secreção e estágio da lactação, mas o leite de uma glândula mamária saudável apresenta menos de 1×10^5 células/mL. Assim, quanto maior a CCS do tanque de uma fazenda, maior a prevalência de mastite desta.

Entre os fatores de risco relacionados à ocorrência de mastite nos rebanhos, a quantidade de leite produzida por vaca pode ser considerada importante. Hand et al. (2012) estudaram o efeito da produção de leite em 115.617 animais em 2.835 rebanhos e observaram que as vacas de alta produção apresentaram maior risco de mastite e maior perda de produção de leite quando comparadas com aquelas com menor produção.

O fator 4 explicou 11,87% da variabilidade e foi denominado descarte, uma vez que o número de vacas descartadas foi a variável que melhor explicou este fator (33,54). Como mencionado anteriormente, uma das medidas de controle mais efetivas para a redução da mastite em rebanhos é a redução do risco de novas infecções. Para isto, o descarte de vacas com mastite crônica e a substituição destas por animais saudáveis em rebanhos leiteiros é imprescindível.

5.2 Método de Análise e Solução de Problemas na redução da CCS e CBT de propriedades leiteiras

Na Tabela 5 estão apresentadas as principais estatísticas descritivas para CCS e CBT dentro das categorias. Aqui ainda não serão apresentados testes de comparação, somente medidas para descrever os dados. Observa-se que, no geral foram analisadas 658 observações e, que estas tiveram um mínimo de CCS (cél/mL) de 98.599, mediana de 637.300 e, máximo de 1200.000. Já para a CBT (ufc/mL) foram analisadas 668 observações, sendo que, o mínimo foi de 3.728, a mediana de 20.570 e, o máximo de 1.401,686. Estes resultados mostram a baixa qualidade do leite destas fazendas e a alta prevalência de mastite nestes rebanhos. Isto porque, segundo Dohoo e Leslie. (1991) vacas que apresentem no leite CCS acima de 200.000 cél/mL podem ser consideradas contendo infecções intramamárias. Portanto, estas fazendas necessitavam de alternativas para redução desta variável.

Esta alta contagem de células somáticas nas fazendas estudadas pode ser explicada pelas condições deficitárias da maioria dos fatores avaliados na análise dos fatores de risco

para ocorrência de novas infecções intramamárias e para cronicidade de infecções intratamárias.

Para Halasa et al. (2011), o gerenciamento é considerado uma das maneiras mais efetivas para reduzir a mastites dos rebanhos, pois esta doença é causada por um complexo multifatorial. Assim, medidas de controle pontuais, não são capazes de reduzir a CCS por longos períodos. A gestão, por sua vez, pode alcançar este objetivo por incorporar aos proprietários e colaboradores da fazenda uma ampla gama de atividades, como o tratamento da doença (clínica), terapia de vaca seca, prevenção de transmissão de infecção (animal para animal e meio ambiente) e melhoria do sistema imunológico com consequente aumento da taxa de cura.

Tabela 5. Estatísticas descritivas (não ajustadas) para contagem de células somáticas (céls/mL) e contagem bacteriana total (ufc/mL) para as variáveis categóricas utilizadas no estudo.

Variáveis	Contágem de células somáticas (céls/mL)						Contagem bacteriana total (ufc/mL)					
	N ¹	Mínimo	Quartil 1	Mediana	Quartil 3	Máximo	N ¹	Mínimo	Quartil 1	Mediana	Quartil 3	Máximo
Geral	658	98599	445118	637300	921045	1200000	668	3728	12000	20570	49584	1401686
Estação												
Verão	161	155394	568874	714924	1057279	4121693	165	4789	15560	27588	71066	1015000
Outono	162	236351	583110	751817	960068	1200000	168	5753	14061	23000	57500	1371119
Inverno	168	98599	382354	554547	805579	3719904	168	3728	8283	15000	32830	1401686
Primavera	167	139916	352609	524973	784710	4240718	167	5000	11000	19926	41000	640407
MASP ²												
Com	322	139916	382916	592581	862928	4957369	332	3728	11103	18273	36827	1401686
Sem	336	98599	505867	699971	990188	1200000	336	5000	13000	26000	69500	1015000
Fase ³												
Antes	171	243318	507796	642056	921045	4240718	181	5547	12507	20911	43793	1401686
Durante	80	162123	375170	540322	821354	4957369	80	5544	11036	15922	22465	1371119
Depois	71	139916	278099	377432	584873	1193422	71	3728	8155	15488	28414	105813

¹N = número de observações; ²Medidas calculadas considerando fazendas submetidas ou não à implantação do programa MASP-M; ³Medidas calculadas apenas para fases de implantação dentro de fazendas onde o programa foi aplicado.

Neste contexto, Barnouin et al. (2004) afirmaram que baixas contagens de células somáticas em fazendas leiteiras estão relacionadas com práticas de gerenciamento do proprietário e, que métodos de mudanças baseados em modismo ou marketing isolados, não são eficientes em reduzir a mastite dos rebanhos de forma duradoura. Os autores atribuíram isto ao fato de que esta doença envolve interações entre animais, meio ambiente, e agricultores de uma forma complexa e, que, portanto, necessita de alterações genéticas, condições imunológicas, ambientais e de gerenciamento.

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados da CCS e CBT para as fazendas que implantaram o programa MASP e, para as que não implantaram nas diferentes fases (antes, durante e depois). Além disto, nesta Tabela, também estão os resultados destas mesmas variáveis nas diferentes estações do ano. A partir destes dados, pode-se observar que, para a variável CCS, houve interação entre rebanhos que implantaram ou não o programa e as diferentes fases ($p = 0.0024$). Ademais, encontrou-se efeito de estação do ano ($p < 0.0001$), sendo que, os meses de verão ($5.86 \log_{10}$ CCS) e outono ($5.86 \log_{10}$ CCS) apresentaram maiores valores de CCS quando comparados com os meses de inverno ($5.78 \log_{10}$ CCS) e primavera ($5.78 \log_{10}$ CCS) (CCS – Verão: 729962, Outono: 723602, Inverno: 610661, e Primavera: 598825 céls/mL).

Já para a variável CBT não houve efeito de fase de implantação ($p = 0.2637$) e, rebanhos que implantaram ou não o programa durante o período ($p = 0.2555$), sendo que, além disso, não houve interação entre estes fatores ($p = 0.5769$). Encontrou-se efeito de estação do ano ($p = 0.0181$), sendo que, o outono apresentou maior valor de $\log_{10}$ CBT ($4.51 \log_{10}$ CBT), porém não diferindo do verão ($4.44 \log_{10}$ CBT), enquanto que verão, inverno ($4.39 \log_{10}$ CBT) e primavera ($4.39 \log_{10}$ CBT) não diferiram entre si (CBT - Verão: 27466, Outono: 32464, Inverno: 24305, e Primavera: 24372 ufc/mL).

Tabela 6. Resultados da modelagem estatística para as variáveis contagem de células somáticas e contagem bacteriana total transformadas para logaritmo na base dez (log₁₀) e ajustadas aos efeitos aplicados no modelo.

Variáveis	Média log ₁₀ CCS	EP ¹	CCS (cél/s/mL) ²	P-valor	Média log ₁₀ CBT	EP ¹	CBT (ufc/mL) ²	P-valor
Estação	-----			<0.0001	-----			0.0181
Verão	5.8633 a	0.0331	729962		4.4388 ab	0.07	27466	
Outono	5.8595 a	0.0326	723602		4.5114 a	0.0692	32464	
Inverno	5.7858 b	0.0325	610661		4.3857 b	0.0688	24305	
Primavera	5.7773 b	0.0328	598825		4.3869 b	0.0694	24372	
Fase	-----			0.0765	-----			0.2637
Antes	5.8237	0.032	666346		4.4787	0.0663	30109	
Durante	5.8516	0.035	710559		4.4027	0.0732	25276	
Depois	5.7891	0.0354	615319		4.4107	0.0729	25745	
MASP ³	-----			0.0627	-----			0.2555
Com	5.7656	0.0413	582908		4.3582	0.0874	22814	
Sem	5.8773	0.0434	753876		4.5032	0.0927	31857	
Fase*MASP ⁴	-----			0.0024	-----			0.5769

¹Erro padrão da média para log₁₀ de CCS e CBT; ²Contagem de células somáticas e contagem bacteriana total; ³Medidas calculadas considerando fazendas submetidas ou não à implantação do programa MASP-M; ⁴Interação entre fase (período) e implantação do programa MASP, sendo que foi realizado estudo da interação quando esta foi significativa.

Na Tabela 7 encontram-se as médias ajustadas considerando a interação entre fase de implantação e fazendas submetidas ou não ao programa MASP. Comparando-se fazendas com e sem implantação do programa MASP na fase “antes” não encontramos diferenças (fazendas adeptas: 5.82 [CCS = 662674 céls/mL] e fazendas não adeptas: 5.83 Log10 CCS [CCS = 670039 céls/mL]), porém, comparando-se fazendas com e sem implantação nas fases “durante” e “depois” podemos notar diferença entre fazendas que implantaram o programa MASP (durante: 5.77 [CCS = 590609 céls/mL], depois: 5.70 Log10 CCS [CCS = 506174 céls/mL]) comparadas com fazendas que não implantaram (durante: 5.93 [CCS = 855067 céls/mL] e depois: 5.87 [747825 céls/mL]), as quais apresentaram maiores valores de Log10 CCS.

Tabela 7. Médias ajustadas considerando a interação entre fase de implantação e fazendas submetidas ou não ao programa MASP.

Fase	MASP ¹					
	Com			Sem		
	Média Log ₁₀ CCS ²	EP ³	CCS (céls/mL)	Média Log ₁₀ CCS ²	EP ³	CCS (céls/mL)
Antes	5.8213 Aa	0.0444	662674	5.8261 Ab	0.0454	670039
Durante	5.7713 Ba	0.0473	590609	5.9320 Aa	0.0502	855067
Depois	5.7043 Bb	0.0490	506174	5.8738 Aab	0.0512	747825

¹Fazendas submetidas ou não à implantação do programa MASP-M; ²Contagem de células somáticas, sendo que letras maiúsculas diferentes nas linhas e letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey-Kramer; ³Erro padrão da média para log₁₀ de CCS.

Através da implantação de um programa de gerenciamento, objetivou-se com este trabalho reduzir a CCS das fazendas. Os resultados encontrados mostraram que as fazendas que implantaram este programa apresentaram menor CCS, no período compreendido durante a implantação e após a implantação. Portanto, o método de análise e solução de problemas foi eficiente em reduzir a mastite dos rebanhos. Na Figura 3, estão apresentadas as médias de CCS de seis das 16 fazendas que apresentaram os melhores resultados de redução da CCS com a implantação do Programa de Gerenciamento para Melhoria da Qualidade do Leite.

Na figura 4 e 5 estão apresentados os resultados descritivos de CCS e CBT, respectivamente, nas três fases de implantação do Programa de Gerenciamento para Melhoria da Qualidade do Leite (MASP) de fazendas que implantaram o programa e, das fazendas que não implantaram. Observa-se que, as médias de CCS e CBT foram mais baixas na fase dois e três para as fazendas que implantaram o MASP quando comparadas as fazendas que não

implantaram o MASP. Para as médias de CCS, conforme já mencionado anteriormente, houve diferença estatística entre a comparação mencionada anteriormente. Já para a CBT esta diferença estatística não foi encontrada, embora os resultados tenham sido menores.

Figura 3. Média da contagem de células somáticas (CCS x 1000 céls/mL) nas três fases de implantação do Programa de Gerenciamento para Melhoria da Qualidade do Leite (MASP) de seis das 16 fazendas que apresentaram os melhores resultados de redução da CCS com a implantação do MASP.

Erskine et al. (2015) fizeram um trabalho semelhante em 12 fazendas em Michigan entre 2013–2014 e, avaliaram as práticas de controle da mastite (procedimentos de ordenha e equipamentos, higiene, meio ambiente e protocolos de manejo), além de estudarem a cultura e gestão de cada fazenda. Os autores relataram problemas de comunicação entre o gerente e os funcionários e falta de protocolos e treinamentos. Assim como no presente trabalho, os autores desenvolveram protocolos para controle da mastite, além de treinamentos e aprendizagem dos funcionários.

Figura 4. Resultados descritivos da contagem de células somáticas (CCS x 1000 céls/mL) nas três fases de implantação do Programa de Gerenciamento para Melhoria da Qualidade do Leite (MASP) de fazendas que implantaram o programa (com MASP) e, fazendas que não implantaram o programa (sem MASP).

Figura 5. Resultados descritivos da contagem bacteriana total (CBT x 1000 ufc/mL) nas três fases de implantação do Programa de Gerenciamento para Melhoria da Qualidade do Leite (MASP) de fazendas que implantaram o programa (com MASP) e, fazendas que não implantaram o programa (sem MASP).

Apesar da maioria das fazendas que implantaram o MASP terem a CCS reduzida, se olharmos as fazendas individualmente, podemos perceber que quatro fazendas não foram sensibilizadas pela implantação do programa de gerenciamento (Figura 6). Pode-se observar que, duas das fazendas nunca tiveram redução na CCS, muito pelo contrário, tiveram aumento desta variável nas três fases de implantação. E, as outras duas, apresentaram redução da fase 1 para a 2, mas aumento após a finalização no programa. Ou seja, 25% das fazendas que implantaram o programa de gerenciamento para melhoria da qualidade do leite não alcançaram os resultados almejados. Ao consultarmos os cadernos de informações sobre as etapas de implantação do programa, podemos observar que o dono e colaboradores não foram eficientes no cumprimento das metas para redução da CCS, sendo que, muitas das atividades propostas durante as visitas não foram cumpridas. Observando estes resultados, pode-se afirmar que, uma premissa importante para a realização de um programa de melhoria da qualidade através de gestão, é a certeza da motivação do proprietário em querer reduzir a CCS do seu rebanho. Jansen et al. (2009) corrobora com isto ao afirmar que, atitude é um dos fatores mais importante para mudanças comportamentais e redução da CCS.

Como destacado anteriormente, a implantação de um gerenciamento eficiente nas propriedades é uma das formas de reduzir a mastite dos rebanhos e, melhorar a qualidade do leite. Para tanto, é necessário que se tenha conhecimento técnico para atuar nos pontos essenciais de redução do risco de novas infecções e aumento da taxa de cura (RUEGG, 2017). Neste trabalho, este conhecimento foi transmitido às fazendas através dos consultores que já tinham formação e experiência na área e, foram devidamente treinados para este fim. No entanto, além da aplicação de um método de gestão e de conhecimento técnico, pode-se destacar outros três pontos essenciais para a redução da CCS dos rebanhos: normativas governamentais; programa de pagamento por qualidade e pressão social. Estas, por sua vez, auxiliam o produtor ou gestor a procurarem melhorar a qualidade do leite que está sendo produzido e, conseqüentemente, se motivar para a redução da CCS e CBT.

Alcançar estes cinco pontos ao mesmo tempo é uma tarefa difícil e, por isso, no Brasil, as reduções de CCS e CBT dos rebanhos, em muitos casos, não podem ser alcançadas. No Brasil, por exemplo, em 2011 o governo publicou a normativa número 62 que estabelece limites para CCS e CBT (BRASIL, 2012). Atualmente estes limites são de 300.000 ufc/mL para CBT e, 500.000 cél/mL para CCS. No entanto, não existe nenhuma penalização para o produtor que excede os limites estabelecidos pela legislação e, assim, o produtor pode

continuar a vender seu leite sem nenhum problema não havendo um incentivo para a mudança.

O pagamento por qualidade também tem sido realizado no Brasil por diversos laticínios com o intuito de reduzir a CCS e a CBT dos rebanhos e, melhorar a qualidade do leite produzido (BARBANO et al., 2006). No entanto, mesmo com a implantação destes programas a prevalência de mastite e, conseqüentemente, a CCS têm aumentado nos últimos anos, como mostrado no trabalho de (BUSANELLO et al., 2017). Existem diversas alternativas que possam explicar a falta de eficiência dos Programas de pagamento por qualidade do Brasil. Uma das explicações é o fato da maioria destes programas estarem focados em gratificações e, não em penalizações. Estudos voltados para psicologia e gestão mostraram que as pessoas são mais efetivamente sensibilizadas quando o sentimento é de perda do que de ganho (VALEEVA et al., 2007; JANSEN et al., 2009).

Figura 6. Análise descritiva das únicas quatro fazendas que participaram do programa de melhoria da qualidade (MASP), mas não apresentaram nenhuma melhoria nos resultados de CCS (cél/mL).

Além destes, outro fator que pode incentivar os produtores a melhorar a qualidade do leite produzido é a pressão social. Segundo Lam et al. (2007), para que uma pessoa possa mudar, ela precisa estar motivada e, isto pode acontecer internamente ou externamente. No

caso da motivação externa, pode-se destacar a pressão social, que pode ser vinda de colegas ou outras fazendas produtoras, do laticínio e/ou profissionais ou, da sociedade e governo. Um exemplo disto, é a divulgação entre os produtores de um mesmo laticínio das piores e melhores fazendas com relação as médias de CCS e CBT.

Diferentes fatores podem aumentar o risco de ocorrência da mastite nos rebanhos. Um dos fatores que pode levar à uma alteração na CCS dos tanques das fazendas é a sazonalidade. Em algumas regiões do Brasil, como a região onde foi realizado este estudo, os meses pertencentes a estação do verão, normalmente apresentam altas temperaturas e umidade. Estas condições são propícias para a sobrevivência e multiplicação dos microrganismos causadores de mastite nos rebanhos (PEREIRA et al., 2013). Isto pode explicar os resultados encontrados no presente estudo, em que, a CCS foi maior no verão e no outono quando comparados ao outono e inverno (Tabela 6). Se observarmos o comportamento da CCS (Tabela 6), podemos ver que esta estava baixa nos meses do inverno e, começou a subir na primavera, atingindo seu pico no mês do verão. Após isto, a CCS reduziu nos meses de outono, mas ainda apresentava-se em valores altos, o que explica a diferença desta estação para as demais.

Já para a CBT também encontrou-se efeito sazonalidade, no entanto, estas diferenças não foram suficientes para diferenciar as médias entre as diferentes estações, pois, o outono e verão tiveram as maiores médias de CBT, mas, o verão não diferiu das demais estações (Tabela 6). Van Shaik et al. (2002) avaliaram as médias de CBT de uma grande fazenda em Nova York durante 22 meses e, observaram maiores contagens no verão. Já Costello et al. (2003), estudaram uma fazenda durante 11 e, relataram maior CBT durante o inverno. Segundo Pantoja et al. (2009) o efeito da sazonalidade na CBT pode ser mascarado devido à fatores de risco mais graves na propriedade.

6 CONCLUSÕES

Existem práticas de gerenciamento relacionadas a produção de leite que podem estar associadas com o controle da mastite e qualidade do leite dos tanques. Os principais fatores de risco relacionados a ocorrência de mastite clínica e subclínica nas propriedades estudadas foram o tamanho do rebanho e rotina de ordenha (29,7%), controle da mastite (17,1%: casos de mastite clínica/mês, condição dos tetos, higiene das instalações, bem-estar animal e protocolo de tratamento), qualidade e produção higiênico-sanitária (13,5%: produção de leite por vaca, CCS e CBT) e número de vacas descartadas (11,8%).

Os níveis de CBT podem ser utilizados como uma indicação da qualidade do leite do tanque por apresentar altas correlações com a CCS. Assim, a implantação de programas de gestão destinados a manter níveis ótimos de CBT poderá melhorar a saúde do úbere e a qualidade do leite comercializado. Ademais, programas para redução da mastite devem ser focados na redução da incidência de novas infecções e redução da cronicidade das infecções, garantindo diagnósticos sensíveis para que os animais que estiverem excretando altos níveis de bactérias no leite sejam manejados de modo a evitar a presença do leite produzido por estes no tanque da propriedade.

A implantação de um programa de gerenciamento, baseado no método e solução de problemas (MASP), para melhoria da qualidade do leite foi eficiente em reduzir a CCS das fazendas, mas não teve influência sobre a CBT.

Mesmo que o MASP tenha sido eficiente em reduzir a CCS dos rebanhos, uma das premissas fundamentais para isto ocorrer é a de que, todas as atividades preconizadas durante o programa sejam realizadas pelo envolvidos. Para que isto aconteça, é imprescindível que o gestor ou proprietário da fazenda queira e, portanto, esteja motivado e comprometido para reduzir a mastite em sua propriedade.

REFERÊNCIAS

- AULDIST, M.J.; HUBBLE, I.B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology*, v.53, p.28-36, 1998.
- AFZAL, A.; MAHMOOD, M.S.; HUSSAIN, I.; AKHTAR, M. Adulteration and Microbiological Quality of Milk (A Review). *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 10, p. 1195-1202, 2011.
- BARBANO, D. M.; MA, Y.; SANTOS, M. V. Influence of Raw Milk Quality on Fluid Milk Shelf Life¹, 2. *Journal of dairy science*, v. 89, p. 15-19, 2006.
- BARHEMA, H.W.; SCHUKKEN, Y.H.; LAM, T.J.G.M.; BEIBOER, M.L.; BENEDICTUS, G.; BRAND, A. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *Journal Dairy Science*, v. 81, p. 1917–1927, 1999.
- BARNOUIN, J.; CHASSAGNE, M.; BAZIN, S.; BOICHARD, D. Management practices from questionnaire surveys in herds with very low somatic cell score through a national mastitis program in France. *Journal of dairy science*, v. 87, p. 3989-3999, 2004.
- BLOWEY, R.; EDMONSON, P. Mastitis control in dairy herds. 2 ed. Londres: CAB International, 2010. 239 p.
- BORGES, L.R.; FONSECA, L.M.; MARTINS, R.T.; OLIVEIRA, M.C.P.P. Milk quality according to the daily range in farm production in the Mesoregion Central Mineira and Oeste of Minas Gerais regions, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.65 p. 1239-1246, 2013.
- BRAMLEY, A.J. Current concepts of bovine mastitis. National Mastitis Council, Madison, Wisconsin, 1996.
- BRADLEY, A.J.K.A.; LEACH, J.E.; BREEN, L.E.; GREEN, M.J. Survey of the incidence and etiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record*, v. 160, p. 253–257, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado, regulamento técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado e, regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, v. 6, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Leite Saudável. < [Http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/leite-saudavel](http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/leite-saudavel) > Acesso em: 05/02/2016.
- BURTON, J.L.; MADSEN, S.A.; CHANG, L.C.; WEBER, P.S.D.; BUCKHAM, R.; DORP, R.V.; HICKEY, M.C. EARLEY, B. Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: A new paradigm to help explain “neutrophil dysfunction” in parturient dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 105, v.15, p. 197-219, 2005.

- BUSANELLO, M.; ROSSI, R.S.; CASSOLI, L.D.; PANTOJA, J.C.F.; MACHADO, P.F. Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. *Journal Dairy Science*, v.100, p. 6545-6553, 2017.
- BUSATO, A.; TRACHSEL, P.; SCHÄLLIBAUM, M.; BLUM, J.W. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 44, p. 205- 220, 2000.0
- BYTYQI, H.U.; ZAUGG, K.; SHERIFI, A.; HAMIDI, M.; GJONBALAJ, S.; MUJI and MEHMETI, H. Influence of management and physiological factors on somatic cell count in raw milk in Kosova. *Veterinarski Archiv*, v. 80, p. 173-183, 2010.
- CAMERON, M.; MCKENNA, S.L.; MACDONALD, K.A.; DOHOO, I.R.; ROY, J.P.; KEEF, G.P. Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Risk of postcalving intramammary infection and clinical mastitis in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 97, p. 270-284, 2014.
- CAMPOS, V.F. Controle da Qualidade Total. Rio de Janeiro: Editora Bloch, 3ª Edição , 1992.
- COENTRÃO, C.M.; SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; PAIVA E BRITO, M.A.V.; LILENBAUM, W. Risk factors for subclinical mastitis in dairy cows. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, p.283-288, 2008.
- CUNHA, R. P. L.; MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M.; GENTILINI, M. B. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, p. 19-24, 2008.
- COSTELLO, M. M. S.; RHEE, M. P.; BATES, S.; CLARK, L. O.; LUEDECKE, and KANG, D. H. KANG. Eleven-year trends of microbiological quality in bulk tank milk. *Food Protection Trends*, v. 23, p. 393–400, 2003.
- DE VliegHER, S.; FOX, L.K.; PIEPERS, S.; MCDougALL, S.; BARKEMA, H.W. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal of Dairy Science*, v. 95, p. 1025–1040, 2012.
- ECKERSALL, P.D.; YOUNG, F.J.; MCCOMB, C.; HOGARTH, C.J.; SAFI, S.; WEBER, A.; MCDONALD, T.; NOLAN, A.M.; FITZPATRICK, J.L. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Veterinary Record*, v. 148, p. 35–41, 2001.
- EDMONSON, A. J., I.J.; LEAN, L.D.; WEAVER, T.; FARVER, and WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein Dairy Cows. *Journal Dairy Science*. v. 72, p.68-78, 1989.
- ELBERS, A.R.; MILTENBURG, J.D.; DE LANGE, D.; CRAUWELS, A.P.; BARKEMA, H.W.; SCHUKKEN, Y.H. Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of the Netherlands. *Journal Dairy Science*. v. 81, p. 420–426, 1998.
- ENGEL, K.L. A New Visual Scorecard for Benchmarking Teat Cleanliness. In ANNUAL MEETING- NATIONAL MASTITIS COUNCIL; 219-220; National Mastitis Council; NMC 44th annual meeting by NMC, 2005.

- ERSKINE, R.J.; MARTINEZ, R.O.; CONTRERAS, G.A. Cultural lag: A new challenge for mastitis control on dairy farms in the United States. *Journal Dairy Science*, v. 98, p. 8240–8244, 2015.
- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. *Ciência Rural*, v. 34, p.1315-1320, 2004.
- FOX, L.K. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. *Veterinary Microbiology*, v. 134, p. 82–88, 2009.
- GUARÍN, J. F.; RUEGG, P.L. Short communication: Pre- and postmilking anatomical characteristics of teats and their associations with risk of clinical mastitis in dairy cows. *Journal Dairy Science* v. 99, p. 8323–8329, 2016.
- GREEN, M.J.; LEACH, K.A.; BREEN, J.E.; GREEN, L.E.; BRADLEY, A.J. National intervention study of mastitis control in dairy herds in England and Wales. *Veterinary Record*, v. 160, p. 287–293, 2007.
- GROHN, Y.T.; WILSON, D.J.; GONZALEZ, R.N.; HERD, J.A.; SCHULTE, H.; BENNETT, G.; SCHUKKEN, Y.H. Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 3358-3374, 2004.
- GRUET, P.; MAINCENT, P.; BERTHELOT, X.; KALTSATOS, V. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 50, p. 245–259, 2001.
- 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.48:22, 2006.
- HAND, K.J.; GODKIN, A.; KELTON, D.F. Milk production and somatic cell counts: a cow-level analysis. *Journal Dairy Science*, v. 95, p. 1358-1362, 2012.
- HOGAN, J.S.; SMITH, K.L. Using bulk tank milk cultures in a dairy practice. *Nat Mastitis Counc Mastitis Microbiol Diagn Workshop*, Arlington, Virginia, 1992.
- HOGAN, J.; SMITH, L.K. Coliform mastitis. *Veterinary Research*, v. 34, p. 507–519, 2003.
- HUSSON, F.; LÊ, S.; PAGÈS, J. *Exploratory Multivariate Analysis by Example Using R*. Chapman & Hall. ISBN 978-1-4398-3580-7, 2010.
- IDF/FAO. *Guide to Good Dairy Farming Practice*. Rome: United Nations Food and Agriculture Organization, 28 pp, 2004.
- ISHIKAWA, K. *Controle de qualidade total: à maneira japonesa*. Rio de Janeiro: Campos, 1993. P. 79.
- JANSEN, J.; VAN DEN BORNE, B.H.P.; RENES, R.J.; VAN SCHAIK, G.; LAM, T.J.G.M.; LEEUWIS, C. Explaining mastitis incidence in Dutch dairy farming: The influence of farmers' attitudes and behavior. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 92, p. 210–223, 2009.
- JUAREZ, S.T.; ROBINSON, P.H.; DEPETERS, E.J.; PRICE, E.O. Impact of lameness on behavior and productivity of lactating Holstein cows. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 83, n. 1, p. 1-14, 2003.

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

LADEIRA, S.R.L. Mastite bovina. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.1. 3ª ed. Editora Pallotti, Santa Maria, p.359-370, 2007.

LAGO, A. S. M.; GODDEN, R.; BEY, P.L.; RUEGG, LESLIE, K.. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results II: Effects on lactation performance including, clinical mastitis recurrence, somatic cell count, milk production and cow survival. Journal Dairy Science, v. 94, p. 4457-44467, 2011.

LAM, T.J.G.M.; VAN DE BORNE, B.H.P.; JANSEN, J.; HUIJPS, K.; VAN VEERSEN, J.C.L.; VAN SCHAIK, H.H. Improving bovine udder health: A national mastitis control program in the Netherlands. Journal Dairy Science, v. 96, p. 1301-1311, 2013.

LAM, T. J. G. M.; JANSEN, J.; VAN DEN BORNE, B.; VAN VEERSEN, J. A structural approach of udder health improvement via private practitioners: ups and downs. In NMC 46th Annual Meeting Proceedings, San Antonio, Texas, USA, v. 142, p. 151, 2007.

MCDUGALL, S.; PARKER, K.I.; HEUER, C.; COMPTON, C.W.R. A review of prevention and control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies. Veterinary Microbiology, v. 134, p. 177–185, 2009.

MEIN, G. A.; NEIJENHUIS, F.; MORGAN, W. F.; REINEMANN, D. J.; HILLERTON, J. E.; BAINES, J. R.; FARNSWORTH, R. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. Non-infectious factors. In Proceedings of the 2nd International symposium on mastitis and milk quality, p. 347-351, 2001.

MEKIBIB, B.; FURGASA, M.; ABUNNA, F.; MEGERSA, B.; REGASSA, A. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and major pathogens in dairy farms of holeta town, central ethiopia. Veterinary World, v. 9, p. 397-403, 2010.

MONFARDINI, E.; PAAPE, M.; WANG, Y.; CAPUCO, A.V.; HUSHEEM.; WOOD, L.; BURVENICH, C. Evaluation of L-selectin expression and assessment of protein tyrosine phosphorylation in bovine polymorphonuclear neutrophil leukocytes around parturition. Veterinary Research, v. 33, v. 271-281, 2002.

NATZKE, R.P.; EVERETT, R.W.; BRAY, D.R. Effect of Drying off Practices on Mastitis Infection. Journal of Dairy Science, v. 58, p. 1828-1835, 1975.

NEIJENHUIS, F.; BARKEMA, H.W.; HOGVEEN, H.; NOORDHUIZEN, J.P.T.M. Classification and longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. Journal Dairy Science. v. 83, p. 2795–2804, 2000.

NEIJENHUIS, F.; BARKEMA, H.W.; HOGVEEN, H.; NOORDHUIZEN, J.P.T.M. Relationship between teat-end callosity and occurrence of clinical mastitis. Journal Dairy Science, v. 84, p. 2664–2672, 2001.

NMC-National Mastitis Council. Microbiological procedures for diagnosis of bovine udder infections and determination of milk quality (4ª Ed.). Verona: NMC, 47 p, 2004.

OLIVEIRA, L.; HULLAND, C.; RUEGG, P. L. Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, v. 96, p. 7538-7549, 2013.

O'SHEA, J. Machine Milking and Mastitis Section 2: Machine Milking Factors Affecting Mastitis - A Literature Review. *Bulletin of the International Dairy Federation*, v. 215, p. 5-32, 1987.

OVIDO-BOYSSO, J.; VALDEZ-ALARCÓN, J.J.; CAJERO-JUÁREZ, M.; OCHOA-ZARZOSA, A.; LÓPEZ-MEZA, J.E.; BRAVO-PATÍÑO, A.; BAIZABAL-AGUIRRE, V.M. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*, v. 54, p. 399-409, 2007.

PANTOJA, J. C. F.; REINEMANN, D.J.; RUEGG, P.L. Associations among milk quality indicators in raw bulk milk. *Journal Dairy Science* v. 92, p. 4978-4987, 2009.

PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F.; SARRÍES, G.A. Contagem de células somáticas e características produtivas de vacas da raça holandesa em lactação. *Scientia Agricola*, v.58, n.4, p.649 - 654, 2001.

PINZÓN-SÁNCHEZ, C.; RUEGG, P. L. RUEGG. Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis. *Journal Dairy Science*, v. 94, p. 3397-3410, 2011.

PEREIRA, N. M.; PEREIRA, M. R.; CARNEIRO, E. W.; CARNEIRO, D. M. V. F. Effect of climatic variations and udder hygiene on the occurrence of mastitis in dairy cows in Cfa climate/Influencia de variacoes climaticas e sujudade de ubere sobre a ocorrencia de mastite em vacas leiteiras, em clima Cfa. *Veterinaria e Zootecnia*, v. 20, p. 187-189, 2013.

PLOZZA, K.; LIEVAART, J.J.; POTTS, G.; BARKEMA, H.W. Subclinical mastitis and associated risk factors on dairy farms in New South Wales. *Australian Veterinary Journal*, v. 89, p. 41-6, 2011.

PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research*, v. 34, p. 565-578, 2003.

R CORE TEAM. R. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014.

RABIEE, A.R.; LEAN, I. J. The effect of internal teat sealant products (Teat seal and Orbeseal) on intramammary infection, clinical mastitis, and somatic cell counts in lactating dairy cows: a meta-analysis, *Journal of Dairy Science*, v. 96, p. 6915-6931, 2013.

RADOSTITS, O. M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. Clínica Veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002, 1737 pp.

RAJALA-SCHULTZ, P. J.; GRÖHN, Y.T.; MCCULLOCH, C.E.; GUARD, C.L. Effects of clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal Dairy Science*, v. 82, p. 1213-1220, 1999.

RAMIREZ, N.F.; KEEFE, G.; DOHOO, I.; SANCHEZ, J.; ARROVAVE, O.; CERÓN, J.; JARAMILLO, M.; PALACIO, L.G. Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. *Journal of Dairy Science*, v. 97, p. 4141–4150, 2014.

REYES, J.; SANCHEZ, J.; STRYHN, H.; ORTIZ, T.; OLIVERA, M.; KEEFE, G.P Influence of milking method, disinfection and herd management practices on bulk tank milk somatic cell counts in tropical dairy herds in Colombia. *The Veterinary Journal*, v. 220, p. 34–39, 2017.

RIFFON, R.; SAYASITH, K.; KHALIL, H.; DUBREUIL, P.; DROLET, M.; LAGACÉ, J. Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. *Journal of clinical microbiology*, v. 39, p. 2584-2589, 2001.

RYSANEK, D; BABAK, V. Bulk tank milk somatic cell count as an indicator of the hygiene status of primary milk production. *Journal of Dairy Research*, v.72, p.1-6, 2005.

RUEGG, P.L. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal Dairy Science*, v.100, p. 10381–10397, 2017.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Importance and effect of psychrotrophic bacterias. *Revista Higiene Alimentar*, v. 15, p. 13-19, 2001.

SCHROEDER, J. W. Bovine mastitis and milking management. Mastitis control program. North Dakota State University, Fargo. p. 46-52, 1997.

SHARMA, N.; SINGH, N.K.; BHADWAL, M.S. Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. *Asian-australasian Journal of Animal Science*, v.24, n.3, p.429-438, set. 2011.

SHOOK, J. Gerenciando para o aprendizado: usando o processo de gestão A3 para resolver problemas, promover alinhamento, orientar e liderar. São Paulo: Lean Institute Brasil, 2008.

SCHREINER, D.A.; RUEGG, P.L. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 3460-3465, 2003.

SCHUKKEN, Y.H.; GROMMERS, F.J.; VAN DE GEER, D. E.R.B H. N, BRAND A. Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal Dairy Science*, v. 74, p. 826–832, 1991.

SCHUKKEN, Y. H.; BENNETT, G. J.; ZURAKOWSKI, M. J.; SHARKEY, H. L.; RAUCH, B. J.; THOMAS, M. J.; ZADOKS, R. N. Randomized clinical trial to evaluate the efficacy of a 5-day ceftiofur hydrochloride intramammary treatment on nonsevere gram-negative clinical mastitis. *Journal of dairy science*, v. 94, p. 6203-6215, 2011.

SMITH, B.P. Large animal internal medicine, 2nd ed., p. 1181–1193. Mosby, Boston, Mass, 1996.

UNNERSTAD, H. Ericsson et al. Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. *Veterinary microbiology*, v. 137, p. 90-97, 2009.

VALEEVA, N.I.; LAM, T.J.G.M.; HOGEVEEN. H. Motivation of Dairy Farmers to Improve Mastitis Management. *Journal of Dairy Science*, v. 90, p. 4466–4477, 2007.

VAN SCHAİK, G.; LOTEM, M.; SCHUKKEN. Y.H. Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999 to 2000. *Journal Dairy Science*, v. 85, p. 782–789, 2002.

WATTS, J. L. Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, v. 16, p. 41–66, 1988.

WILSON, D. J.; GONZALEZ, R.N.; HERTL, J.A.; SCHULTE, H.; BENNETT, G.; SCHUKKEN, Y.; GROHN, Y. Effect of clinical mastitis on the lactation curve: a mixed model estimation using daily milk weights. *Journal Dairy Science*, v. 87, p. 2073–2084, 2004.

WOLFINGER, R. Covariance structure selection in general mixed models. *Communications in Statistics - Simulation, Ontario*, v. 22, p. 1079-1106, 1993.

ZADOKS, RN.; ALLORE, H.G.; BARKEMA, H.W.; SAMPIMON, O.C.; WELLENBERG, G.J.; GROHN, Y.T.; SCHUKKEN, Y.H. Cow- and quarter-level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis *Journal of Dairy Science*.v. 84, p. 2649–2663, 2001.

ZADOKS, R.N.; GONZÁLEZ, R.N.; BOOR, K.J.; SCHUKKEN, Y.H. mastitis-causing *streptococci* are important contributors to bacterial counts in raw bulk tank milk. *journal of food protection*, v, 67, p. 2644-2650, 2004.

ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JUNIOR, W.; ZANELA, C.; MARQUES, L. T.; MARTINS, P. R. G. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41, p. 153-159, 2006.