



## IV WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE

Juiz de Fora, Minas Gerais | 24 de Julho de 2009



### **Fatores de risco associados à altas contagens de células somáticas e de bactérias e a presença de resíduos antimicrobianos no leite de rebanhos vinculados a tanques comunitários na região de Santos Dumont, MG.**

Yuri de Almeida Silva<sup>1</sup>, Rafael Guedes Fonseca<sup>2</sup>, , Filipe Augusto Oliveira Silva<sup>1</sup>,  
Roseane Hossein da Silveira<sup>2</sup>, Fabiana Ribeiro dos Santos<sup>3</sup>, Guilherme Nunes de Souza<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Ciência Biológicas CESJF - Bolsista de Iniciação Científica CNPq/Embrapa Gado de Leite;

<sup>2</sup>Graduando em Ciência Biológicas CESJF - Bolsista do Laboratório de Qualidade do Leite - Embrapa Gado de Leite; <sup>3</sup>Graduando em Ciência Biológicas CESJF - Bolsista de Iniciação Científica FAPEMIG/Embrapa Gado de Leite;

<sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Gado de Leite - gnsouza@cnpqgl.embrapa.br

**Resumo:** Santos Dumont está situado no sudoeste do Estado de Minas Gerais, integrando a macrorregião de planejamento da Zona da Mata. A maior parte do rebanho bovino da região de Santos Dumont, MG, é voltado para a produção de leite. O uso coletivo de tanques de refrigeração a granel (tanques comunitários) foi a alternativa encontrada para armazenar o leite produzido por produtores de leite com baixa escala. De acordo com a Instrução Normativa 51 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, atualmente há definido limites mínimos de qualidade higiênico sanitária para o leite armazenado em tanques comunitários. Foram coletadas 1.024 amostras de leite de 186 rebanhos para CCS, CTB e avaliação de resíduos de antimicrobianos. As estatísticas descritivas para CCS e CTB e a baixa de adoção dos procedimentos de higiene no momento da ordenha mostraram problemas relacionados aos processos de higiene e controle da mastite. Foram identificados fatores de risco comuns para altas CCS, CTB e presença de resíduo de antimicrobianos no leite (número de vacas em lactação maior que 10), e para altas CCS e CTB (não realizar exames dos primeiros jatos e não lavar os tetos antes da ordenha quando necessário). Devem ser focados nos procedimentos de higiene no processo de ordenha na fazenda associado a adoção de um programa de controle e prevenção da mastite, juntamente com a limpeza e manutenção do tanque de refrigeração comunitário.

**Palavras-chave:** contagem de células somáticas, contagem total de bactérias, resíduo de antimicrobianos no leite, tanques comunitários

**Abstract:** Santos Dumont is located at Southeast of Minas Gerais State in Zona da Mata Region. The most cattle in Santos Dumont Region is dairy herds. The use of collective bulk tank milk was an alternative to storage milk produced by smallholders. According to Instrução Normativa 51 of Agriculture Ministry, actually was established the maximum values to somatic cell count (SCC) and total bacterial count (TBC) in collective bulk tank milk. A total of 1.024 milk samples from herds and 186 milk samples from collective bulk tank milk to evaluated the SCC, TBC and antibiotic residues. Description statistics to SCC and TBC and milking practices demonstrated problems about hygiene procedures and mastitis control. The same risk factors were identified to high SCC and TBC. Risk factor for presence of antibiotic residue was herd with more than ten lactation cows. Efforts should be focused on adoption of milking hygiene procedures associated with mastitis control and prevention program and cleaning of collective bulk tank milk.

**Key-words:** antibiotic residues, coletiva bulk tank milk, somatic cell counts, total bacterial counts

### Introdução

Santos Dumont está situado no sudoeste do Estado de Minas Gerais, integrando a macrorregião de planejamento da Zona da Mata e a microrregião de Juiz de Fora, formada por 30 municípios. Além da sede, o município possui quatro distritos: Conceição do Formoso, Dores do Paraibuna, Mantiqueira e São João da Serra. Destacam-se, ainda, alguns vilarejos, como São Sebastião da Boa Vista, São Bento, Samambaia, São Domingos e Usina Ana Maria, entre outros. Santos Dumont tem a predominância histórica da bovinocultura. A maior parte do rebanho bovino é voltada para a produção de leite. Estima-se que, 80,0% dos produtores de leite produzem entre 40 e 50 litros de leite por dia. Existem aproximadamente 80 propriedades com produção de leite acima de 100 litros. No total, a produção anual de leite no município seria de aproximadamente 8 milhões de litros por ano, a partir de uma produtividade média de 6 litros de leite / vaca / dia, que é relativamente baixa. Verifica-se o predomínio do gado mestiço, existindo uma parcela de aproximadamente 10% de rebanhos da raça holandesa (AÇÕES, 2005). Estudo conduzido pela Embrapa Gado de Leite mostrou que rebanhos que produzem até 50 litros de leite por dia foram responsáveis por aproximadamente 17% do volume total de leite produzido no Brasil no ano de 2004, o que representa em torno de 4 bilhões de litros. Além da importância econômica que estes rebanhos representam para o país, ressalta-se a importância social, pois estes rebanhos representam aproximadamente 81% dos rebanhos leiteiros no Brasil, o que corresponde a aproximadamente a 1.100.000 produtores de leite (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2005). De acordo com o Anexo VI da Instrução Normativa 51 (IN 51) do Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa) (BRASIL, 2002), admite-se o uso coletivo de tanques de refrigeração a granel (tanques comunitários), por produtores de leite, desde que baseados no princípio de operação por expansão direta. A localização do tanque de refrigeração deve ser estratégica em relação aos produtores de leite que irão utilizá-lo. Ressalta-se que no caso de tanques comunitários, não é permitido acumular, em determinada propriedade rural, a produção de mais de uma ordenha para enviá-la uma única vez por dia ao tanque comunitário. Desta forma, o tanque comunitário passou a ser uma alternativa para produtores de baixa escala possibilitando a comercialização do leite de vários produtores e mantendo a qualidade do leite produzido na fazenda, principalmente no que diz respeito à contagem total de bactérias.

Inicialmente, os limites para CCS e CTB estabelecidos para tanques comunitários foram de 1.000.000 células/ml e 1.000.000 unidades formadoras de colônia (ufc)/ml em 2005 e de 750.000 células/ml e 750.000 ufc/ml, respectivamente em 2007. No caso dos RAML foi avaliada a presença ou ausência. Os dados apresentados mostram a necessidade de se desenvolver programas de controle para mastite e difundir procedimentos de higiene e limpeza de todos os utensílios que entram em contato com o leite desde sua produção até o armazenamento. Ressalta-se também a importância de um plano de uso de antimicrobianos para realizar o controle e prevenção da mastite e evitar o RAML. No caso de tanques comunitários, há alguns pontos que podem dificultar o atendimento dos limites estabelecidos na IN 51. Como exemplo, pode se citar o tempo decorrido entre o final da ordenha e a entrega do leite no tanque comunitário, que pode contribuir para aumentar a CTB no leite. Como o tanque comunitário receberá leite de vários produtores, é necessário um trabalho em conjunto e comprometimento de todos que utilizarão o tanque comunitário, de forma que o leite do tanque atenda os requisitos mínimos de identidade e qualidade do leite estabelecido na IN 51.

A contagem de células somáticas (CCS) no leite é o indicador usado em programas de controle e prevenção de mastite em todo o mundo. Mastites causadas por certos microrganismos resultam em grandes variações na composição do leite e no aumento da CCS (HARMON, 1994).

Fatores de risco relacionados ao animal, ao meio ambiente e aos procedimentos de manejo são associados à saúde da glândula mamária em rebanhos leiteiros. Exemplos de fatores relacionados ao animal identificados como de risco para mastite são: número de

parições, período de lactação (início e final), alta produção e escape de leite no momento da ordenha (OMORE *et al.*, 1996). A utilização de areia na cama das vacas em lactação ao invés de matéria orgânica, as boas condições higiênicas do estábulo, a imersão dos tetos em solução desinfetante após a ordenha, o tratamento à secagem, o tratamento imediato dos casos clínicos com antimicrobianos, o descarte de animais-problema e a segregação de animais infectados no momento da ordenha, bem como a utilização de unidades de ordenha específicas para esses animais, foram identificados como fatores que reduzem a CCS do rebanho (ALLORE *et al.* 1998, BARKEMA *et al.*, 1998, BERRY & HILLERTON, 2002).

A CTB é de particular interesse para o produtor e para a indústria, pois reflete condições gerais de higiene no processo de produção do leite na fazenda (HOLM, 2004). De forma geral, as principais fontes de contaminação bacteriana do leite cru podem ser divididas em três: ambiente, úbere e equipamento de ordenha (HAYES & BOOR, 2001). Após a ordenha, o armazenamento do leite em tanque de refrigeração e o tempo de armazenamento influenciarão a habilidade de multiplicação de bactérias contaminantes do leite (HEESCHEN, 1996; BOOR *et al.*, 1998). Como a contaminação do leite por bactérias pode ter múltiplas fontes, tais como vacas com mastite, úbere sujo e limpeza inadequada de equipamento de ordenha, medidas de controle e prevenção da mastite podem apresentar grande eficácia em reduzir a CTB. Desta forma, fatores de risco para alta CCS de rebanhos podem ser os mesmos ou estarem associados para alta CTB. Em estudo realizado por SOUZA *et al.* (2005) com 175 rebanhos bovinos leiteiros na Zona da Mata de Minas Gerais, com ordenha manual e mecânica, foi observado que procedimentos e cuidados higiênicos ligados a prevenção e controle da mastite não estavam bem difundidos, com exceção do tratamento imediato com antimicrobianos dos casos clínicos de mastite. Neste estudo, as ausências de desinfecção dos tetos antes e depois da ordenha foram identificados como fatores de risco para alta CCS dos rebanhos.

A razão mais comum para tratamento em rebanhos leiteiros com antimicrobianos são casos de mastite clínica e subclínica (SAVILLE *et al.*, 2000). Leite de vacas que receberam antimicrobianos não pode ser enviado para processamento na indústria de laticínios por um período específico (período de carência). De acordo com SAVILLE *et al.* (2000), o aumento da CCS do rebanho foi associado a presença de RAML. Estudo realizado nos Estados Unidos mostrou que o risco de RAML foi 7 vezes maior em rebanhos com média de CCS acima de 700.000 células/ml em relação aos rebanhos com média de CCS menor ou igual a 250.000 células/ml (RUEGG & TABONE, 2000). De acordo com RUEGG & TABONE (2000), um ponto crítico de controle para RAML pode ser a redução da prevalência da mastite contagiosa em rebanhos leiteiros. A não observação do período de carência, que varia de acordo com a base farmacológica, ausência de ficha de anotações ou anotação inadequada para identificação de animais em tratamento e drogas usadas de maneira inadequada foram associados a RAML (SAVILLE *et al.*, 2000). A anotação em relatórios ou em fichas de vacas submetidas ao tratamento com antimicrobianos e não identificação destas vacas foi importante fator de risco para RAML observado no estudo realizado por GIBBONS-BURGENER *et al.* (1999).

Nestes estudos são usadas análises estatísticas para estimar o grau do risco associado à exposição aos fatores. A mastite bovina é uma doença multifatorial e a identificação dos fatores predisponentes, ou fatores de risco, relacionados aos animais e aos rebanhos ajudam a ampliar o conhecimento sobre a epidemiologia da doença e a aprimorar os programas de controle. No Brasil, há muitos trabalhos sobre mastite e qualidade do leite, mas há carência de grupos de pesquisa e de trabalhos sobre fatores de risco para esta enfermidade em específico e para altas CTB e RAML.

### **Material e Métodos**

O trabalho foi conduzido com 186 rebanhos bovinos leiteiros da bacia leiteira de Santos Dumont, localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais. Os rebanhos foram vinculados a seis associações de produtores de leite (oito tanques comunitários). Amostras de leite foram coletadas para análise laboratorial dos rebanhos e dos tanques de expansão. O período de coleta de amostras foi de 12 meses. Foi aplicado um questionário

em 92 rebanhos para obter informações sobre a higiene e saúde do rebanho, controle e prevenção da mastite e manutenção e higienização do equipamento de ordenha, caso tenha algum produtor, ou utensílio que entre em contato com o leite. O questionário aplicado compreendeu uma etapa de entrevistas com ordenhadores e/ou responsáveis pelos rebanhos, outra com observações visuais de equipamentos, utensílios e procedimentos de ordenha. Informações sobre o gerenciamento do tanque comunitário e logística também foram obtidas. Do total de rebanhos avaliados por meio da aplicação do questionário (92), para fins de análise estatística foram selecionados 75 para análise dos fatores de risco. O critério de seleção foi baseado no número de amostras coletadas durante o período do estudo (mínimo seis amostras).

O cálculo para estimar o risco mínimo a ser detectado e o tamanho da população estudada, com objetivo de identificar fatores de risco para CCS e CTB acima de 400.000 células/ml e 100.000 ufc/ml, respectivamente, e presença de RAML em rebanhos que utilizem tanques comunitários, foi realizado de acordo com GRAAT *et al.* (1997), utilizando-se as fórmulas apresentadas a seguir:

$$n = \left\{ Z_{\alpha} \cdot [(1 + 1 \div c) \cdot p' \cdot (1 - p')]^{1/2} + Z_{\beta} \cdot [p1 \cdot (1 - p1) + po \cdot (1 - po) \div c]^{1/2} \right\}^2 \div (p1 - po)^2$$

sendo que,

$$p' = (p1 + c \cdot po) \div (1 + c) \text{ e } q' = 1 - p' \quad \text{e} \quad p1 = (po \cdot R) \div [1 + po \cdot (R - 1)]$$

onde:

po – frequência relativa de expostos para os fatores de risco entre os controles (rebanhos dentro dos limites estabelecidos na IN 51 – rebanhos controle),

p1 – frequência relativa de expostos para os fatores de risco entre os casos (rebanhos fora dos limites estabelecidos na IN 51 – rebanhos casos),

p' - média ponderada de expostos para número de rebanhos dentro e fora dos limites da IN 51,

c – razão entre rebanhos dentro dos limites da IN 51/rebanhos fora dos limites da IN 51 (numero de rebanhos controles por rebanhos casos),

R – risco mínimo a ser detectado,

Z<sub>α</sub>- corresponde ao nível de confiança (1 - α),

Z<sub>β</sub>- corresponde ao poder do teste (1 - β),

Para o presente estudo, será considerado para po = 50%, c = 1, R = 1.2, Z<sub>α</sub> = 0,95 e Z<sub>β</sub> = 0,80.

Com base nas estimativas de frequência relativa de rebanhos controles, risco mínimo a ser detectado, razão entre rebanhos dentro dos limites da IN 51/rebanhos fora dos limites da IN 51, nível de confiança e poder do teste foi calculado que serão necessários no mínimo 68 rebanhos.

Com base nas estimativas de frequência relativa de expostos entre os controles, risco mínimo a ser detectado, razão entre amostras de rebanhos e rebanhos (média geométrica dos valores de CCS e CTB) com CCS > 400.000 células/ml, CTB < 100.000 ufc/ml e ausência e presença de resíduos de antimicrobianos, nível de confiança e poder do teste foi calculado que seriam necessários no mínimo 29 "casos" e 29 "controles", totalizando 58 rebanhos.

As amostras de leite para CCS e CTB foram coletadas em frascos específicos contendo o conservante Bronopol® e Azidiol, respectivamente, sendo o frasco para exames bacteriológicos eram esterilizados, de acordo com (BRITO *et al.*, 2007). As amostras de leite foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e transportadas dentro de 24 horas para os laboratórios da Embrapa Gado de Leite. Amostras para avaliação de resíduo de antimicrobianos foram coletadas em frascos específicos sem conservante.

A CCS e CTB foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite em equipamento automatizado por meio de citometria de fluxo (Bentley – Somacount 300) de acordo com o International Dairy Federation (2006) e Gunaskera *et al.* (2000).

Estatísticas descritivas foram aplicadas nos resultados de CCS e CTB e distribuição de frequência nos resultados de resíduo de antimicrobianos no leite. Para a análise dos fatores de risco foram utilizados modelos de regressão logística descritos por (FRANKENA & GRAAT 1997). Foram realizadas análises bivariadas para testar associações entre cada variável independente do modelo de regressão logística (fatores de risco). Foi utilizado o Teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para as variáveis categóricas. O critério de decisão para a escolha dos fatores de risco foi aquele que oferecia explicação biológica coerente para o aumento da CCS, CTB e presença de resíduo de antimicrobiano no leite e que na associação apresentaram  $p < 0,05$ . Após a seleção das possíveis variáveis independentes foi aplicada uma série de modelos de regressão logística tendo como variável dependente (variável resposta) a CCS, CTB e presença de antimicrobiano no leite (Quadro 1, 3 e 5) e como variáveis independentes os fatores de risco relacionados às características do rebanho, práticas de manejo durante a ordenha, procedimentos relacionados ao controle e prevenção da mastite e equipamento de ordenha (Quadro 2, 4 e 6). Após a seleção do modelo final de regressão logística foram observados os coeficientes beta ( $\beta$ ) de cada variável independente para se estimar o grau de risco (“ODDS RATIO” – OR). O número máximo de variáveis independentes usados nos modelos foi calculado em função do número de rebanhos classificados de acordo com a CCS abaixo ou acima de 400.000 células/mL, 100.000 ufc/ml e presença ou ausência de resíduo de antimicrobiano no leite. As análises dos dados foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SPSS (1998).

O modelo final de regressão logística para CCS de rebanhos acima de 400.000 células/mL (CCS400) é apresentado a seguir:

$$\text{LOGIT (Yijklm)} = \beta_0 + \beta_1(i) + \beta_2(j) + \beta_3(k) + \beta_4(l) + \beta_5(m), \text{ onde:}$$

Yijklm é a variável dependente (CCS400), “i” é VACALIM, “j” NVACLAC, “k” POSDIP, “l” LAVATET e “m” JATOS.

Quadro 1. Variável dependente e respostas usadas nos modelos finais de regressão logística

Variável	Significado	Respostas
CCS400	Contagem de células somáticas de rebanhos acima de 400.000 células/mL	Não = 0; Sim = 1

Quadro 2. Variáveis independentes, significados e respostas usadas nos modelo final de regressão logística para avaliar fatores de risco associados a CCS de rebanhos acima de 400.000 células/mL.

Variável	Significado	Respostas
VACALIM	Fornece alimento para vacas antes ou durante a ordenha	Sim = 1; Não = 0
NVACLAC	Número de vacas em lactação maior que dez	Sim = 1; Não = 0
POSDIP	Realiza desinfecção dos tetos após a ordenha	Sim = 0; Não = 1
LAVATET	Lava os tetos antes da ordenha quando necessário	Sim = 0; Não = 1
JATOS	Realiza o exame dos primeiros jatos de leite	Sim = 0; Não = 1

O modelo final de regressão logística para CTB de rebanhos acima de 300.000 ufc/mL (CTB300) é apresentado a seguir:

LOGIT (Yijklm) =  $\beta_0 + \beta_1(i) + \beta_2(j) + \beta_3(k) + \beta_4(l) + \beta_5(m)$ , onde:

Yijklm é a variável dependente (CTB100), "i" é CATDIST, "j" JATOS, "k" NTRATCC, "l" LAVATET e "m" NVACLAC.

Quadro 3. Variável dependente e respostas usadas nos modelos finais de regressão logística

Variável	Significado	Respostas
CTB300	Contagem total de bactérias de rebanhos acima de 300.000 ufc/mL	Não = 0; Sim = 1

Quadro 4. Variáveis independentes, significados e respostas usadas nos modelo final de regressão logística para avaliar fatores de risco associados a CTB de rebanhos acima de 300.000 ufc/mL.

Variável	Significado	Respostas
CATDIST	Distância entre propriedade e tanque comunitário maior que 3 Km	Sim = 0; Não = 1
JATOS	Realiza o exame dos primeiros jatos de leite	Sim = 0; Não = 1
NTRATCC	Tratamento de casos clínicos de mastite	Sim = 0; Não = 1
LAVATET	Lava os tetos antes da ordenha quando necessário	Sim = 0; Não = 1
NVACLAC	Número de vacas em lactação maior que dez	Sim = 1; Não = 0

O modelo final de regressão logística para presença de resíduo de antimicrobianos no leite de rebanhos acima é apresentado a seguir:

LOGIT (Yijkl) =  $\beta_0 + \beta_1(i) + \beta_2(j) + \beta_3(k) + \beta_4(l)$ , onde:

Yijkl é a variável dependente (RAML), "i" é IDENTAN, "j" TRATCC, "k" INFRES e "l" NVACLAC

Quadro 5. Variável dependente e respostas usadas nos modelos finais de regressão logística

Variável	Significado	Respostas
RAML	Presença de resíduo de antimicrobiano no leite	Não = 0; Sim = 1

Quadro 6. Variáveis independentes, significados e respostas usadas nos modelo final de regressão logística para avaliar fatores de risco associados a presença de resíduo de antimicrobiano no leite

Variável	Significado	Respostas
IDENTAN	Identificação de animais submetidos a tratamento com antibióticos	Sim = 0; Não = 1
TRATCC	Tratamento de casos clínicos de mastite	Sim = 1; Não = 0
NVACLAC	Número de vacas em lactação maior que dez	Sim = 1; Não = 0

### Resultados e Discussão

Os principais fatores de risco identificados para CCS de rebanhos acima de 400.000 células/ml foram: não realizar exames dos primeiros jatos em caneca de fundo escuro (OR=2,0); fornecer alimento para vacas antes ou durante a ordenha (OR=2,0); número de vacas em lactação maior que 10 (OR=1,9); não realizar desinfecção dos tetos após a ordenha (OR=1,8) e não lavar os tetos antes da ordenha quando necessário (OR=1,7). Os principais fatores de risco identificados no presente estudo estavam associados a características de manejo do rebanho. Não realizar o exame dos primeiros jatos de leite para identificação de casos clínicos de mastite e conseqüentemente não segregação e tratamento imediato do animal pode ter contribuído para a permanência de animais infectados e com grande liberação de bactérias pela glândula mamária no momento da ordenha. Não lavar os tetos antes da ordenha e fornecer alimento para os animais antes ou durante a ordenha foram identificados como fatores de risco para mastite clínica e subclínica no presente estudo e em estudos anteriores (SOUZA *et al.*, 2005; KIVARIA *et al.*, 2007). Não realizar a desinfecção dos tetos após a ordenha foi identificado como importante fator de risco para mastite clínica causada por *E. coli* (SCHUKKEN *et al.*, 1991). O número de vacas em lactação maior que dez foi identificado como fator de risco no presente estudo e por Souza *et al.* (2005), ficando evidente a importância da influência do número de animais em lactação sobre a CCS do rebanho. A utilização de pano comum para secar os tetos, tratamento à secagem em parte dos animais, não descarte de animais com infecção crônica e não realização de linha de ordenha não foi identificado como fatores de risco no presente estudo, mas podem estar contribuindo para a ocorrência de novos casos de mastite e permanência de animais infectados no rebanho, conforme demonstrado em estudos realizados em diversos países (OTT & NOVAK, 2001; BERRY & HILLERTON, 2002; VALDE *et al.*, 2004; MDEGELA *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2005; KIVARIA *et al.*, 2007, COENTRÃO *et al.*, 2008).

Dos 75 rebanhos incluídos no estudo 69 (92,0%) utilizavam ordenha manual e 6 (8,0%) a ordenha mecânica. Todos os rebanhos que utilizavam ordenhadeira mecânica realizam ordenha com bezerro ao pé. Entre os que ordenhavam manualmente as vacas, em 67 (89,3%) foi observada a presença no bezerro no momento da ordenha (Tab.1). Na maioria dos rebanhos o proprietário estava há mais de dez anos na atividade e todos os rebanhos eram formados por animais mestiços (Holandês X Gir com diferentes graus de sangue). O sistema de produção observado foi a pasto (62,2%) e semi-estabulado (37,8%), respectivamente. Treze propriedades (17,3%) dispunham de sala de ordenha coberta e em 58 (77,3%) a ordenha foi realizada em curral coberto. Quarenta e quatro por cento dos rebanhos possuíam no máximo 10 vacas em lactação. Foi observado que em 15 (20,0%) rebanhos havia mais de 20 vacas em lactação. O tratamento dos casos clínicos de mastite e lavar as tetas antes da ordenha foram os procedimentos mais freqüentemente observados, sendo adotados em 39 (52,7%) e 37 (49,3%) rebanhos, respectivamente (Tab. 2). A adoção dos demais procedimentos relacionados ao controle de mastite variou de 4,0% (linha de ordenha) a 39,7% (descarte de animais com infecção crônica) do total de rebanhos. Observou-se que o tratamento à secagem (tratamento da vaca seca) em todos os animais foi realizado em somente um (1,4%) rebanho e que em 35 (47,3%) rebanhos havia seleção de animais para realização do tratamento. A ausência de sala de ordenha e sistemas de produção de leite a pasto e semi-estabulado, pode ter contribuído

para o aparecimento de infecções intramamárias por patógenos ambientais (SOUZA *et al.*, 2005). Procedimentos como a lavagem das tetas antes da ordenha e secagem com pano comum e tratamento à secagem em parte dos animais podem ter influenciado nos resultados de CCS e no controle da mastite nos rebanhos. A realização de tratamento à secagem em parte do rebanho propicia aparecimento de novas infecções intramamárias durante o período seco e no momento do parto (BERRY & HILLERTON 2002). A alternativa para animais com infecção subclínica crônica e casos clínicos esporádicos e que não eliminaram a infecção após terapia com antibióticos é o descarte destes animais (National Mastitis Council, 2001).

A média geométrica e mediana dos valores de CCS de rebanhos foram 344.000 e 382.000 células/ml, respectivamente (Tab. 3). Vinte e cinco por cento das amostras apresentaram valores inferiores e superiores a 344.000 e 687.000 células/ml, respectivamente. De acordo com as associações de produtores (tanques comunitários), os valores mínimos e máximos observados para a média geométrica foram 235.000 (associação 1) e 518.000 células/ml (associação 6), respectivamente. No tanque 1, um quarto das amostras coletadas apresentaram resultados inferiores a 235.000 células/ml. Em contrapartida, no tanque 6, metade das amostras apresentaram resultados superior a 533.000 células/ml e um quarto superior a 932.000 células/ml. De forma geral, o percentual de amostras com valores de CCS inferior a 400.000 células/ml foi menor 4,1% na época seca ( $p < 0,05$ ) em relação a época chuvosa durante o período de estudo. A influência do período do ano sobre a prevalência da mastite e variação da CCS em rebanhos leiteiros foi observada por (BIFFA *et al.* 2005). Os resultados da CCS de acordo com os rebanhos mostraram grande variação, o que sugere a presença de rebanhos livres e com infecções intramamárias causada por patógenos contagiosos da mastite (HARMON, 1994; KEEFE, 1997).

Os resultados mostram que a deficiência na adoção de procedimentos que visem o controle e prevenção da mastite nos rebanhos estudados pode estar contribuindo para a permanência da doença bem como a transmissão entre os animais do rebanho. A adoção de medidas de controle desenvolvidas em determinados países nem sempre é estrategicamente bem sucedida no controle e prevenção da mastite em rebanhos de outros países (OMORE *et al.*, 1999). Os fatores de risco identificados nestes estudos podem ser usados no aprimoramento de programas de controle e prevenção da mastite já elaborados e quando aplicados nos rebanhos localizados nestas regiões podem gerar resultados satisfatórios.

Os principais fatores de risco identificados para CTB acima de 300.000 ufc/ml no leite de rebanhos foram: distância da propriedade ao tanque comunitário maior que 3 Km (OR=1,3); não realização do tratamento de casos clínicos de mastite (OR=1,2); número de vacas em lactação maior que 10 (OR=1,4); não realização do exame dos primeiros jatos em caneca de fundo escuro (OR=3,7) e não lavar os tetos antes da ordenha quando necessário (OR=1,2). Entre os cinco fatores de risco identificados no estudo, três estavam associados a procedimentos no momento da ordenha. A não realização do exame dos primeiros jatos para identificação de animais com mastite clínica foi o que apresentou o maior risco entre os fatores identificados. Estudo conduzido por FABER (1930) mostrou que os cinco primeiros jatos de leite apresentavam em média 821.000 ufc/ml, sendo que o primeiro jato de leite apresentou em média 1.275.000 ufc/ml. Após a realização do teste da caneca e identificação de quartos mamários com mastite clínica e separação do leite destes quartos mamários, a contaminação bacteriana do leite tende a ser menor. A não separação de animais com mastite clínica e o não tratamento destes casos clínicos de mastite pode contribuir para o aumento da CTB do rebanho, principalmente se os patógenos envolvidos forem ambientais e do gênero *Streptococcus* sp. (ZADOKS *et al.*, 2004). Os outros fatores de risco relacionado ao manejo do rebanho identificados no estudo foram não lavar os tetos quando necessário e não realizar o tratamento de casos de mastite clínica. A lavagem dos tetos quando necessário, principalmente durante o período chuvoso do ano, pode ter influenciado no percentual maior de amostras acima de 300.000 ufc/ml em relação ao período seco do ano. Os fatores de risco relacionado ao manejo do rebanho que influenciaram na CTB são procedimentos que fazem parte dos programas de controle e prevenção da mastite. Os



outros fatores de risco associados à CTB no leite dos rebanhos acima de 300.000 ufc/ml estão relacionados ao tempo decorrido até a refrigeração do leite. A distância entre a propriedade e o tanque comunitário maior que 3 Km e rebanhos com mais de dez vacas em lactação podem ter influenciado no tempo decorrido entre a obtenção do leite na propriedade e a entrega deste no tanque comunitário. Estes dois fatores mencionados anteriormente associados com temperaturas entre 20 e 30°C podem ter contribuído significativamente para o aumento da CTB no leite dos rebanhos.

Dos 75 rebanhos incluídos no estudo 54 (74,0%) localizavam-se no máximo a três quilômetros (Km) de distância do tanque comunitário e 29 (40,3%) entregavam o leite da primeira ordenha até dez horas da manhã (Tab. 1). O transporte dos latões de leite por meio de cavalo (48/64,9%) e carroça (12/16,2%) foram os mais observados. Em 51 (71,9%) rebanhos a produção diária não ultrapassou 100 litros de leite por dia, sendo que 69 (92,0%) utilizavam ordenha manual e 6 (8,0%) a ordenha mecânica. Todos os rebanhos que utilizavam ordenhadeira mecânica realizam ordenha com bezerro ao pé. Entre os que ordenhavam manualmente as vacas, em 67 (89,3%) foi observada a presença no bezerro no momento da ordenha. O sistema de produção observado foi a pasto (62,2%) e semi-estabulado (37,8%), respectivamente, sendo todos os rebanhos compostos por animais mestiços. Treze propriedades (17,3%) dispunham de sala de ordenha coberta e em 58 (77,3%) a ordenha foi realizada em curral coberto. Quarenta e quatro por cento dos rebanhos possuíam no máximo 10 vacas em lactação. Foi observado que em 15 (20,0%) rebanhos havia mais de 20 vacas em lactação. A adoção de procedimentos relacionados ao controle de mastite variou de 4,0% (linha de ordenha) a 39,7% (descarte de animais com infecção crônica) do total de rebanhos (Tab. 2). Os resultados mostram pontos críticos no que diz respeito a logística de entrega do leite dos rebanhos nos tanques comunitários. Estudo sobre tanques comunitários realizado por BRITO *et al.* (2003) sugere que um dos fatores que pode ter contribuído para altas CTB é a localização dos tanques em relação às propriedades. Conforme descrito por BRITO & DINIZ (2004), a ordenha manual oferece mais risco de contaminação microbiana do leite. O uso comum de panos ou de coadores de leite que não são limpos adequadamente, ou o emprego de baldes totalmente abertos permite a contaminação do leite com partículas de fezes, pêlo dos animais, urina ou insetos e podem contribuir para que mais de 30% das amostras de leite analisadas apresentassem CTB superior a 1.000.000 ufc/ml (BRITO & DINIZ, 2004). Associado aos fatores mencionados anteriormente, a presença do bezerro ao pé no momento da ordenha pode ter influenciado na contaminação bacteriana do leite (BRITO *et al.*, 2000).

A média geométrica e mediana dos valores de CTB de rebanhos foram 1.022.000 e 379.000 ufc/ml, respectivamente (Tab. 4). Vinte e cinco por cento das amostras apresentaram valores inferiores e superiores a 147.000 e 1.153.000 ufc/ml, respectivamente. De acordo com os tanques comunitários, os valores mínimos e máximos observados para a média geométrica foram 267.000 (tanque 2) e 690.000 ufc/ml (tanque 4), respectivamente. No tanque 2, um quarto das amostras coletadas apresentaram resultados inferiores a 101.000 células/ml. Em contrapartida, no tanque 4, metade das amostras apresentaram resultados superior a 778.000 ufc/ml e um quarto superior a 1.896.000 células/ml. Foi verificada uma associação significativa ( $p < 0,05$ ) entre o período do ano e CTB dos rebanhos, sendo observado que durante o período chuvoso o percentual de amostras acima de 100.000 ufc/ml foi 5,6% maior em relação ao período seco. Os resultados das estatísticas descritivas para CTB de acordo com os rebanhos mostraram de forma geral baixa qualidade microbiológica. A intensidade de contaminação do leite pode variar de acordo com os procedimentos de manejo adotados e infra-estrutura da propriedade (KELLY *et al.*, 2009).

A variação dos resultados de CTB dos rebanhos encontrados no estudo reflete a heterogeneidade no processo de obtenção do leite e ausência de infra-estrutura mínima (local de ordenha coberto, sistema para aquecimento de água e tanque de refrigeração) observada nas propriedades. Juntamente com a baixa adoção dos procedimentos de higiene no momento da ordenha e infra-estrutura das propriedades, verificou-se que a situação é agravada com a necessidade de transporte do leite em latões por meio de carroças ou cavalos e horário de entrega do leite nos tanques comunitários. Os

resultados mostram que a logística envolvida na entrega do leite nos tanques comunitários, deficiência na adoção de procedimentos de higiene durante a ordenha, limpeza inadequada dos utensílios que entram em contato com o leite contribuíram para as altas CTB no leite de rebanhos verificadas no estudo.

Os principais fatores de risco identificados para presença de antimicrobianos no leite de rebanhos foram: não identificação de animais submetidos ao tratamento de mastite com antibióticos (OR=2,4), uso de antibiótico no tratamento de casos de mastite clínica (OR=1,2) e número de vacas em lactação maior que dez (OR=2,2). A não identificação de animais submetidos a tratamentos com antibiótico e tratamento de casos clínicos de mastite estão relacionados e apresentaram risco significativo. Conforme descrito por Gibbons-Burgener *et al.* (1999) e Saville *et al.* (2000), o uso inadequado de drogas e ausência de fichas de anotações e identificação dos animais de forma inadequada são pontos críticos que devem ser melhorados com objetivo de evitar resíduo de antimicrobianos. O número de animais em lactação, identificado no presente estudo como fator associado a presença de resíduo no leite, também apresenta uma associação com os tratamentos de casos de mastite clínica. Foi observado por Schukken *et al.* (1989) e Waage *et al.* (1998) que a medida que aumenta o tamanho do rebanho, a taxa de mastite clínica bem como o risco de ocorrência também aumentam. Desta forma, espera-se que haja um aumento do tratamento dos casos clínicos com antimicrobianos. Os resultados das estatísticas descritivas para CCS dos rebanhos mostraram grande variação de resultados (Tab. 5). Observa-se que 25% das amostras de rebanhos vinculados aos tanques comunitários 4 e 6 apresentaram valores superior a 880.000 e 932.000 células/ml. Estes resultados sugerem a presença de rebanhos livres e com infecções intramamárias causada por patógenos contagiosos da mastite entre os rebanhos (HARMON, 1994; KEEFE, 1997).

Com relação aos resultados para avaliar características gerais dos rebanhos e adoção de procedimentos que visem o controle e prevenção da mastite, dos 75 rebanhos incluídos no estudo 69 (92,0%) utilizavam ordenha manual e 6 (8,0%) a ordenha mecânica (Tab. 2). Todos os rebanhos que utilizavam ordenhadeira mecânica realizam ordenha com bezerro ao pé. Entre os que ordenhavam manualmente as vacas, em 67 (89,3%) foi observada a presença no bezerro no momento da ordenha (Tab.2). O sistema de produção observado foi a pasto (62,2%) e semi-estabulado (37,8%), respectivamente. Treze propriedades (17,3%) dispunham de sala de ordenha coberta e em 58 (77,3%) a ordenha foi realizada em curral coberto. Quarenta e quatro por cento dos rebanhos possuíam no máximo 10 vacas em lactação. Foi observado que em 15 (20,0%) rebanhos haviam mais de 20 vacas em lactação. O tratamento dos casos clínicos de mastite e lavar as tetas antes da ordenha foram os procedimentos mais freqüentemente observados, sendo adotados em 39 (52,7%) e 37 (49,3%) rebanhos, respectivamente (Tab. 2). A adoção dos demais procedimentos relacionados ao controle de mastite variou de 4,0% (linha de ordenha) a 39,7% (descarte de animais com infecção crônica) do total de rebanhos. Observou-se que o tratamento à secagem (tratamento da vaca seca) em todos os animais foi realizado em somente um (1,4%) rebanho e que em 35 (47,3%) rebanhos havia seleção de animais para realização do tratamento. A ausência de sala de ordenha e sistemas de produção de leite a pasto e semi-estabulado, pode ter contribuído para o aparecimento de infecções intramamárias por patógenos ambientais (SOUZA *et al.*, 2005). A realização de tratamento à secagem em parte do rebanho propicia aparecimento de novas infecções intramamárias durante o período seco e no momento do parto (BERRY & HILLERTON, 2002). A redução na duração e eliminação das infecções já estabelecidas pode ser alcançada com maior eficácia por meio da terapia da vaca seca em todos os animais (Bradley, 2002). A alternativa para animais com infecção subclínica crônica e casos clínicos esporádicos e que não eliminaram a infecção após terapia com antibióticos é o descarte destes animais (National Mastitis Council, 2001). As vacas não selecionadas para tratamento a secagem podem manter a infecção no rebanho até serem descartadas. Os dados relativos as estatísticas descritivas para CCS e distribuição de freqüência dos procedimentos e dos cuidados higiênicos ligados ao controle e prevenção da mastite mostram que essas medidas não estavam bem difundidas e como consequência podem influenciar significativamente no aumento da CCS. Esta situação pode favorecer não somente o aparecimento de novos casos subclínicos como os casos clínicos de mastite

nos rebanhos. Finalmente, esta situação pode levar ao uso constante e sem restrições de antibióticos nos animais. Conforme descrito por Brito (2000) e Norris (2001), um dos passos para se evitar resíduo de antimicrobianos no leite é a adoção de um plano de controle da mastite que contemple medidas preventivas e de higiene, manutenção do ambiente e equipamentos limpos e adequado para ordenha.

Tabela 1 – Distribuição das freqüências das variáveis qualitativas e quantitativas categorizadas relacionadas a características das propriedades produtoras de leite vinculados a tanques comunitários na Região de Santos Dumont, MG, Brasil, 2007-2008

Variável	Categoria	n*	%**
Tempo na atividade (anos)	< = 5	6	8,1
	6 a 10	16	21,6
	11 a 20	23	31,1
	> 20	29	39,2
Forma de transporte do leite em latões até o tanque comunitário	Carrinho de mão	7	9,5
	Carro	6	8,1
	Carroça	12	16,2
	Cavalo	48	64,9
	Moto	1	1,4
Distância entre a propriedade e o tanque comunitário (Km)	< = 1	23	31,5
	2 a 3	31	42,5
	3 a 4	13	17,8
	5 a 8	6	8,2
Horário de entrega do leite em latões no tanque comunitário (horas)	7 às 8	1	1,4
	8 às 9	9	12,5
	9 às 10	19	26,4
	10 às 11	23	30,7
	11 às 12	18	24,0
	> 12	2	2,8
Sistema de produção de leite	A pasto	46	62,2
	Semi-estabulado	28	37,8
Número de ordenhas	1	48	71,6
	2	19	28,4
Tipo de ordenha	Manual sem bezerro ao pé	2	2,7
	Manual com bezerro ao pé	67	89,3
	Mecânica com balde e bezerro ao pé	6	8,0
Local de ordenha	Sala ordenha coberta	13	17,3
	Curral coberto	58	77,3
	Curral descoberto	4	5,4
Água tratada	Sim	5	6,7
	Não	70	93,3
Vacas em lactação	< = 5	12	16,0
	6 a 10	21	28,0
	11 a 20	27	36,0
	> 20	15	20,0
Vacas secas no rebanho (%)	< = 5	39	58,2
	6 a 10	18	26,8
	11 a 20	6	9,0
	> 20	4	6,0
Produção leite/dia (litros)	< = 50	33	46,5
	51 a 100	18	25,4
	101 a 200	13	18,3
	> 200	7	9,9
Raça do rebanho	Mestiço	75	100,0

\*soma total diferente de 75 devido não apresentar resposta para variável no questionário; \*\*soma total igual a 100 devido considerar as respostas preenchidas

Tabela 2 – Distribuições das freqüências das variáveis qualitativas e quantitativas categorizadas relacionadas aos procedimentos de manejo e cuidados higiênicos durante a ordenha das propriedades produtoras de leite vinculados a tanques comunitários na Região de Santos Dumont, MG, Brasil, 2007-2008

Variável	Categoria	n*	%**
Linha de ordenha	Sim	3	4,0
	Não	72	96,0
Exame dos primeiros jatos	Sim	13	17,3
	Não	62	82,7
Presença de bezerro	Sim	73	97,3
	Não	2	2,7
Lava tetas antes da ordenha	Sim	37	49,3
	Não	38	50,7
Seca as tetas após lavagem	Sim	26	38,2
	Não	42	61,8
Como seca as tetas após lavagem	Papel toalha	14	20,6
	Pano comum	12	17,6
	Não	42	61,8
Realização de antissepsia de tetas antes da ordenha	Sim	11	14,7
	Não	64	85,3
Vacas são alimentadas durante a ordenha	Sim	26	61,8
	Não	42	38,2
Realização de antissepsia de tetas após a ordenha	Sim	12	16,0
	Não	63	84,0
Tratamento à secagem	Todos animais	1	1,4
	Parte dos animais	35	47,3
	Nenhum animal	38	51,4
Tratamento de mastite clínica	Sim	39	52,7
	Não	35	47,3
Descarte de vacas com infecção crônica	Sim	29	39,7
	Não	44	60,3

\*soma total diferente de 75 devido não apresentar resposta para variável no questionário;

\*\*soma total igual a 100 devido considerar as respostas preenchidas

Tabela 3 – Estatísticas descritivas para a contagem de células somáticas (x 1.000 células/ml) em amostras de leite de rebanhos de acordo com as Associações de Produtores na região de Santos Dumont, MG, 2007/2008

Estatística	Associação de Produtores						Total
	1	2	3	4	5	6	
N	270	169	85	87	124	289	1.024
MG	235	309	269	419	358	518	344
IQ 1	139	204	149	215	178	309	205
Mediana	273	372	252	436	348	533	382
IQ 3	425	656	623	880	661	932	687

N - número de amostras; MG - média geométrica; IQ 1 - primeiro intervalo interquartil; IQ 3 - terceiro intervalo interquartil

Tabela 4 – Estatísticas descritivas para a contagem total de bactérias (x 1.000 ufc/ml) em amostras de leite de rebanhos de acordo com os tanques comunitários na região de Santos Dumont, MG, 2007/2008

Estatística	Tanque comunitário						Total
	1	2	3	4	5	6	
N	270	170	87	84	121	290	1022
MG	398	267	316	690	271	681	425
IQ 1	127	101	97	264	118	245	147
Mediana	353	227	271	778	254	630	379
IQ 3	1.035	614	734	1.896	584	2.075	1.153

N - número de amostras analisadas; MG - média geométrica; IQ 1 - primeiro intervalo interquartil; IQ 3 - terceiro intervalo interquartil

Tabela 5 – Estatísticas descritivas para a contagem de células somáticas (x 1.000 células/ml) em amostras de leite de rebanhos de acordo com os tanques comunitários na região de Santos Dumont, MG, 2007/2008

Estatística	Tanque comunitário						Total
	1	2	3	4	5	6	
N	270	169	85	87	124	289	1.024
MG	235	309	269	419	358	518	344
IQ 1	139	204	149	215	178	309	205
Mediana	273	372	252	436	348	533	382
IQ 3	425	656	623	880	661	932	687

N - número de amostras; MG - média geométrica; IQ 1 - primeiro intervalo interquartil; IQ 3 - terceiro intervalo interquartil

### Conclusões

Os resultados do presente estudo demonstram que os fatores similares de risco para alta contagem de células somáticas e contagem bacteriana nos rebanhos foram relacionados ao manejo inadequado e tamanho do rebanho, sendo este último relacionado também a presença de antimicrobianos no leite. Os principais fatores de risco para alta contagem de células somáticas foram não realizar o teste da caneca de fundo escuro e alimentar as vacas antes e durante a ordenha. Para a contagem bacteriana, o principal fator de risco nos rebanhos é a distância entre a propriedade e tanques comunitários. Para presença de antimicrobiano no leite, o principal fator se deve ao tratamento de animais com mastite clínica e não identificação destes animais. Estudos sobre fatores de risco em determinada população e região têm a importância de ressaltar os principais problemas associados a uma enfermidade, e desta maneira, elaborar e implementar programas de controle apropriados para os rebanhos da região. Esforços devem ser direcionados nos procedimentos de higiene adotados no momento da ordenha e no tempo decorrido entre a obtenção do leite na propriedade e entrega nos tanques comunitários, assim como adoção de procedimentos de controle da mastite nos rebanhos para redução dos casos clínicos e subclínicos e conseqüentemente diminuir contagem bacteriana, de células somáticas e por fim uso de antimicrobianos e resíduos no leite.

### Agradecimentos

Ao CNPq pelas bolsas de iniciação científica e a FAPEMIG pela bolsa de iniciação científica e financiamento do projeto (Projeto CVZ 1704/06).

### Literatura citada

ALLORE, H. G.; ERB, H. N.; SCHRUBEN, L. W.; OLTENACU, P. A. A simulation of strategies to lower bulk tank somatic cell count below 500,000 per milliliter. **J. Dairy Sci.**, v. 81, n. 3, p. 694-702, 1998.

BERRY, E.A., HILLERTON, J.E. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. **J. Dairy Sci.**, v.85, p.112-121, 2002.

BOOR, K. J., BROWN, D. P., MURPHY, S. C., KOZLOWSKI, S. M., BANDLER, D. K. Microbiological and chemical quality of raw milk New York state. **Journal Dairy Science**. v.81, n.6, p.1743-1748, 1998.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **Vet. J.**, v. 164, n. 2, p. 116

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília (DF), 18 set. 2003

BRITO, M. A. V. P., DINIZ, F. O. Tanques de expansão comunitários para refrigeração do leite. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2004, 4p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 42)

BRITO, M. A. V. P., PORTUGAL, J. A. B., DINIZ, F. H., FONSECA, P. C., ANGELO, F. F., PORTO, M. A. C. Qualidade do leite armazenado em tanques de refrigeração comunitários. In: MARTINS, C. E., FONSECA, P. C., BERNARDO, W. F., CÓSER, A. C., FRANCO, P. R. V., PORTUGAL, J. A. B., CARVALHO, F. S. (Eds.). Alternativas tecnológicas, processuais e de políticas públicas para produção de leite em bases sustentáveis. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p.21-43.

BIFFA, D., DEBELA, E., BEYENE, F. Prevalence and risk factors of mastitis in lactating dairy cows in Southern Ethiopia. **Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.**, v.3, 189-197, 2005.

COENTRÃO, C.M., SOUZA, G.N., BRITO, J.R.F., BRITO, M.A.V.P., LILENBAUM, W. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, p.251-260, 2008.

FRANKENA, K.; GRAAT, E.A.M. Multivariate analysis: logistic regression. In: NOORDHUIZEN, J.P.T.M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C.M. et al. Application of quantitative methods in veterinary epidemiology. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. p.135-178.

GIBBONS-BURGENER, S. N.; KANEENE, J. B., LLOYD, J. W., ERSKINE, R. J. Evaluation of certification in the milk and dairy beef quality assurance program and associated factors on the risk of having violative antibiotic residues in milk from dairy farms in Michigan. **American Journal of Veterinary Research**, v.60, n.10, p.1312-1316, 1999.

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

HEESCHEN, W. H. Bacteriological quality of raw milk: legal requirements and payment systems. IN: Bacteriological quality of raw milk. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Brussels: IDF, 1996. 8p.

HOLM, C.; MATHIASSEN, T., JESPERSEN, L. A flow cytometric technique for quantification and differentiation of bacteria in bulk tank milk. **Journal Applied Microbiology**, v.97, p.935-941, 2004.

KEEFE, G. P. Streptococcus agalactiae mastitis: a review. *Can. Vet. J.*, v. 38, n. 7, p. 429-435, 1997.

KIVARIA, F.M., NOORDHUIZEN, J.P.T.M., MSAMI, H.M. Risk factors associated with the incidence of clinical mastitis in smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Vet. J.*, v.173, 623-629, 2007.

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

OMORE, A. O., McDERMOTT, J. J., ARIMI, S. M., KYULE, M. N. Impact of mastitis control measures on milk production and mastitis indicators in smallholder dairy farms in Kiambu District, Kenya. *Trop. An. Health Prod.* v.31, 347-361, 1999.

OTT, S.L., NOVAK, P.R. Association of herd productivity and bulk-tank somatic cell counts in US dairy herds in 1996. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, v.218, p.1325-1329, 2001.

RUEGG, P. L.; TABONE, T. J. The relationship between antibiotic residue violations and somatic cell count in Wisconsin dairy herds. *Journal Dairy*

SAVILLE, J. A.; WITTUM, T. E.; SMITH, K. L. Association between measures of milk quality and risk of violative antimicrobial residues in grade-A raw milk. *Journal American Veterinary Medicine Association.* v.217, n.4, p.541-545, 2000.

SCHUKKEN, Y. H.; VAN DE GEER, D.; GROMMERS, F. J. et al. Intramammary infections and risk factors for clinical mastitis in herds with low somatic cell counts in bulk milk. *Veterinary Record* , v. 125, p. 393-396, 1989.

SCHUKKEN, Y. H., GROMMERS, F. J., VAN DE GEER, D., ERE, 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. *J. Dairy Sci.*, v.74, p.826-832, 1991.

SOUZA, G.N., BRITO, J.R.F. MOREIRA, E.C. et al. Fatores de risco para alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.57, supl.2, p.251-260, 2005.

VALDE, J.P., LAWSON, L.G., LINDBERG, A., AGGER, J.F., SALONIEMI, H., OSTERAS, O. Cumulative risk of bovine mastitis treatments in Denmark, Finland, Norway and Sweden. *Acta Vet. Scand.*, v.45, 201-210, 2004.

WAAGE S., SVILAND S., ØDEGAARD S. A. Identification of risk factors for clinical mastitis in dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v.81, p.1275-1284, 1998.

ZADOKS, R N; GONZÁLEZ, R N; BOOR, K J; SCHUKKEN, Y H. J. Mastitis-causing streptococci are important contributors to bacterial counts in raw bulk tank milk. *Food Prot.*, v.67, 2644-2650, 2004.