

Presença de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* nos rebanhos bovinos e os limites de contagem de células somáticas e contagem total de bactérias estabelecidos na Instrução Normativa 51

Guilherme Nunes de Souza¹, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva Brito¹,
Carla Christine Lange¹, Humberto de Mello Brandão¹,
Letícia Caldas Mendonça¹, José Renaldi Feitosa Brito²

¹ Embrapa Gado de Leite - Grupo de Saúde Animal e Qualidade do Leite; ² Pólo de Excelência do Leite - Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado de Minas Gerais - endereço eletrônico do autor: gnsouza@cnppl.embrapa.br

Introdução

O agronegócio do leite no Brasil vem sofrendo grandes transformações nos últimos anos e tem-se observado por parte do governo, das empresas de lácteos e dos produtores, grande esforço com o objetivo de proporcionar melhoria na qualidade do leite cru. Por parte do governo federal pode-se destacar duas importantes ações. A primeira foi a instituição da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite (RBQL) (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 2002b), que tem como principal objetivo avaliar e monitorar a qualidade do leite cru produzido nos rebanhos bovinos leiteiros. A segunda ação foi a publicação da Instrução Normativa 51 (IN51), que define limites mínimo para os indicadores de qualidade composicional e higiênico sanitário do leite (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 2002a).

Entre os indicadores de qualidade do leite estabelecidos na IN51 podemos citar a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem total de bactérias (CTB), que são indicadores de qualidade higiênico sanitária do leite cru. Tais parâmetros são utilizados para avaliar a saúde da glândula mamária e os procedimentos de higiene adotados na produção e armazenamento do leite na propriedade. Dados da RBQL têm mostrado que desde o início da vigência da IN51 o percentual de amostras de leite que não atendem aos limites de CCS e CTB não sofreu alterações significativas (MESQUITA et al., 2006; BARBOSA et al., 2008).

A redução da CCS e CTB passa necessariamente pela adoção de um programa de controle e prevenção da mastite, adequada limpeza dos utensílios e equipamentos utilizados na propriedade e refrigeração imediata do leite. Para que ocorra a adoção de estratégias que promovam a melhoria da qualidade do leite na fazenda, faz-se necessário entender as

diferenças entre os patógenos da mastite e as principais fontes de contaminação bacteriana do leite. Entre os patógenos causadores de mastite, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* possuem posição de destaque, visto que tanto a incidência quanto a prevalência desses agentes foram mais importantes quando comparado aos demais agentes causadores de mastite em rebanhos bovinos leiteiros no Brasil (COSTA et al., 1995; BRITO et al., 1999; FAGUNDES e OLIVEIRA, 2004; NADER FILHO et al., 2007). Neste artigo serão apresentados aspectos relacionados a epidemiologia e fisiopatologia dos patógenos da mastite bem como medidas de controle e prevenção, com ênfase no *S. aureus* e *S. agalactiae*, que devem ser levados em consideração nas metas de atendimento dos limites estabelecidos na IN 51 para CCS e CTB.

Epidemiologia e classificação dos agentes da mastite

Dois padrões distintos são reconhecidos na epidemiologia da mastite (BRAMLEY e DODD, 1984; SCHUKKEN e KREMER, 1996; BRADLEY, 2002). O primeiro é o contagioso, que envolve a transmissão do agente etiológico de um animal infectado para um susceptível que é essencial para a propagação da doença. Os principais patógenos contagiosos são *S. aureus*, *S. agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Mycoplasma bovis* e *Corynebacterium bovis* (BRAMLEY e DODD, 1984; ELVINGER e NATZKE, 1992). O segundo padrão é de caráter ambiental, marcado por infecções com microrganismos oportunistas que encontram fatores para o seu desenvolvimento relacionados ao ambiente ou mesmo ao indivíduo, expondo assim o animal ao risco (SCHUKKEN e KREMER, 1996). Neste caso, há forte interação entre microrganismos, hospedeiro e meio ambiente. Este triângulo epidemiológico deve ser levado em consideração na solução de problemas nos rebanhos cuja causa principal de mastite são patógenos classificados como ambientais. Os principais agentes etiológicos responsáveis são *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, fungos e leveduras (BRAMLEY e DODD, 1984; ELVINGER e NATZKE, 1992; LEIGH, 1999).

No caso das bactérias responsáveis pela mastite, estas podem ser classificadas também como patógenos primários e secundários (HARMON, 1994). Os patógenos primários incluem o *S. aureus*, *S. agalactiae*, coliformes, estreptococos e enterococos de origem ambiental. Mastites causadas por estes patógenos resultam em grandes variações na

composição do leite e na CCS (HARMON, 1994). *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *C. bovis* são considerados patógenos secundários. Infecções por estes microrganismos causam moderado processo inflamatório com CCS excedendo de duas a três vezes a CCS das glândulas mamárias não infectadas (HARMON, 1994). Por exemplo, as médias da CCS verificadas por Wilson et al. (1997) para *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e *C. bovis* foram 170.000 e 150.000 células/ml, respectivamente.

Estes mesmos autores verificaram que a CCS de glândulas mamárias infectadas por *S. aureus* e *S. agalactiae* foi 440.000 e 640.000 ml, respectivamente. Estudo realizado no Brasil mostrou que a infecção intramamária foi o principal fator responsável pelo aumento da CCS de vacas leiteiras e que esse aumento pode ser relacionado especificamente com determinados microrganismos, sendo o *S. agalactiae* o responsável pelo maior aumento (SOUZA et al., 2009) (Tabela 1).

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

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

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

Fonte: SOUZA et al., 2009

Um estudo conduzido com rebanhos localizados na região Sudeste do Brasil mostrou a variação da CCS do rebanho em função do percentual de vacas em lactação infectadas por *S. aureus* e *S. agalactiae* (Embrapa Gado de Leite - Projeto PRODETAB 2000.213-01). A prevalência de vacas infectadas por *S. aureus* e *S. agalactiae* nos rebanhos variou de 3,0% a 69,0% e de 9,0% a 42,0%, respectivamente. No caso de infecção concomitante pelos dois agentes, a CCS foi superior a 1.000.000 células/mL (Tabela 2). Rebanhos com animais infectados somente por *S. aureus* apresentaram uma prevalência entre 3,0% e 10,0% e a CCS do rebanho variou de 285.000 células/mL a 869.000

células/mL. Foi observado que em dois rebanhos a prevalência de vacas com infecção intramamária por *S. aureus* foi de 9,0% e 10,0% mas a CCS de 464.000 células/mL a 869.000 células/mL. A diferença de CCS entre rebanhos com a mesma prevalência de animais infectados por *S. aureus* provavelmente foi devido ao padrão cíclico de liberação de bactérias pela glândula mamária e CCS. Com base no exposto, o controle e prevenção da mastite por *S. aureus* e *S. agalactiae* é fundamental para que os rebanhos brasileiros possam atender os limites de CCS estabelecidos na IN51 de 400.000 células/mL. Porém, estratégias diferenciadas devem ser utilizadas quando se considera a possibilidade de erradicação de *S. agalactiae*.

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

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

Fonte: Embrapa Gado de Leite - Projeto PRODETAB 2000.213-01

Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae

Na maioria dos países, *S. aureus* é a causa predominante de mastite subclínica sendo frequente também seu isolamento em casos de mastite clínica (BRAMLEY e DODD, 1984). A manifestação pode variar de forma hiper-aguda a subclínica, sendo a forma subclínica crônica com episódios clínicos como a mais observada (QUINN et al., 2002). Casos subclínicos crônicos de mastite causada por *S. aureus* promovem atrofia do alvéolo mamário, fibrose e micro-abscessos, o que limita a ação fagocítica de células, bem como a ação de antibióticos. Tal condição, causa infecções profundas no tecido mamário, com episódios de liberação de bactérias dos quartos mamários infectados acompanhados de altas CCS (PYÖRÄLÄ, 1995; QUINN et al., 2002). Geralmente, os casos de mastite causada por

S. aureus são subclínicos, crônicos e de longa duração, podendo persistir por semanas ou meses. O tratamento com antibiótico dos casos clínicos frequentemente falha em eliminar o estado de infecção particularmente em vacas mais velhas e com histórico de episódios clínicos da doença (BRAMLEY e DODD, 1984; BRAMLEY, 1992).

A mais importante fonte de infecção para *S. aureus* dentro do rebanho são glândulas mamárias infectadas, duto do teto colonizado, tetos lesionados infectados, conjunto de teteiras do equipamento de ordenha, pano comum para secar animais e mãos do ordenhador, sendo o momento da ordenha o mais importante na transmissão de *S. aureus* entre vacas (BRAMLEY e DODD, 1984). SOMMERHÄUSER et al. (2003) mostraram que há diferença entre as estirpes de *S. aureus*, e alguns tipos possuíam menor tendência de disseminação entre quartos mamários. Alguns fatores ambientais, tais como procedimentos de desinfecção, reposição de camas e estado de higiene dos estábulos, também foram associados com o risco de mastite por *S. Aureus* (ELBERS et al. 1998). A identificação e eliminação de outras fontes de *S. aureus*, além dos quartos mamários infectados, pode ser crucial para o sucesso de um programa de controle (ZADOCKS, 2002). Infecções intramamárias em vacas primíparas no início da lactação podem ser uma indicação de outras fontes de infecção ou outros reservatórios de *S. aureus* no rebanho (MATTHEWS et al, 1992).

Outra fonte da bactéria, porém não muito elucidada, pode ser o ordenhador, na qual a transmissão bilateral de estirpes de *S. aureus* resistentes a meticilinas entre humanos e bovinos foi aventada por Lee (2003) e por Juhasz-Kaszanyitzky et al. (2007), em ambos os casos, após uma avaliação de homologia morfológica e genética dos isolados bacterianos das duas espécies.

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

2.238.700 ml e em outro estudo a média aritmética foi de 900.000 ml (KEEFE, 1997). Em rebanhos com CCS maior que 800.000 ml, 80% das vacas com CCS maior que 500.000 ml estavam infectadas com *S. agalactiae* (KEEFE, 1997).

S. agalactiae localiza-se somente na glândula mamária, com sobrevivência restrita fora do úbere e alta sensibilidade à penicilina. Devido a estas características, o *S. agalactiae* tem sido erradicado de rebanhos e em alguns casos de países (KEEFE et al., 1997). Programas regionais ou nacionais com o objetivo de erradicar o *S. agalactiae* têm sido implementados em alguns países. No Canadá, foi adotado um programa deste tipo associando penalidades ao não atendimento dos limites mínimos para CCS do rebanho entre outubro de 1992 a março de 1993 (KEEFE et al., 1997).

S. agalactiae é disseminado principalmente no momento da ordenha e é uma bactéria altamente contagiosa (BRAMLEY e DODD, 1984; BARTLETT et al., 1992). Caso o *S. agalactiae* seja isolado de um rebanho, é recomendado a chamada *blitz* terapia, ou seja, o tratamento simultâneo de todos os animais infectados, com o objetivo de eliminar o agente do rebanho (KEEFE, 1997; CRUZ et al. 2004).

Para se compreender a “dimensão” que esta bactéria pode ter para rebanhos leiteiros, Keefe (1997), realizou uma extensa revisão de literatura, e identificou que estudos realizados entre 1976 e 1982, estudo realizado nos Estados do Mississippi e Massachusetts, Estados Unidos, mostrou que a prevalência média de animais infectados por *S. agalactiae* dentro de rebanhos variou de 39,5 a 44,7% (KEEFE, 1997). BARTLETT et al. mostraram que de 48 rebanhos, 27 (56%) possuíam no mínimo uma vaca infectada por *S. agalactiae* no Estado de Ohio, Estados Unidos, e a média de quartos e vacas infectadas foi de 4,1 e 10,0%, respectivamente. Por sua vez muitos autores relataram que os fatores associados à presença de *S. agalactiae* foram identificados como procedimentos inadequados de higiene do úbere e tetos antes da ordenha, falha na desinfecção dos tetos após a ordenha, seleção de animais para tratamento a secagem, ou não realização de tratamento a secagem, limpeza inadequada do meio ambiente e uso de pano comum para limpeza dos tetos e úbere antes da ordenha (BRAMLEY e DODD, 1984; BARTLETT et al., 1992; KEEFE, 1997; SOUZA et al., 2006a; SOUZA et al., 2006b). A desinfecção dos tetos após a ordenha com solução de iodo foi relacionada com redução de novas infecções intramamárias causadas por *S. agalactiae* (BODDIE e NICKERSON, 1997).

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

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

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

Fonte: UDDER, 2009

Dados não publicados do Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite mostram que nos rebanhos localizados na região Sudeste do Brasil não houve grandes mudanças nas médias anuais de CCS e os percentuais de rebanhos com média anual de CCS superior a 400.000 mL e 750.000 mL (Tabela 4). Estudo realizado por Brito et al. (1999) em 48 rebanhos localizados na Zona da Mata de Minas Gerais mostrou que em 47 (98,0%) havia pelo menos um animal infectado por *S. aureus*, sendo que em 37 deles havia até 20% de quartos mamários infectados. No caso do *S. agalactiae*, 29 (60,4%) rebanhos estavam infectados, e em 24 destes rebanhos a média de quartos infectados foi de 3,6%. Considerando os resultados atuais de CCS dos rebanhos localizados na região Sudeste, é possível que a prevalência de *S. aureus* e *S. agalactiae* seja superior à verificada nos rebanhos dos Estados Unidos.

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

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

N - Número de rebanhos

Programa de controle e prevenção da mastite

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

O Conselho Nacional de Mastite dos Estados Unidos (NMC) recomenda um programa de controle de mastite formado por dez pontos (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 2001). Tal programa, além dos cinco pontos citados anteriormente, foram acrescentados um sistema de metas e avaliação periódica de objetivos para a saúde do úbere, ambos com base em resultados de análises laboratoriais para CCS e identificação de patógenos. A importância do suporte laboratorial na identificação de patógenos, bem como no diagnóstico da mastite clínica ou subclínica fornece informações sobre o padrão de infecção do rebanho, auxiliando no controle e erradicação de patógenos da mastite como *S. aureus* e *S. agalactiae*, respectivamente. Por isso, tal prática é evidenciada de várias formas nesse programa de controle (JACKSON, 1971; BRAMLEY e DODD, 1984; DINSMORE et al., 1991; GUTERBOCK et al., 1993; HOGEVEEN et al. 1995; SOL et al. 1997; BRITO et al., 1999; OSTERAS et al., 1999). Estudo realizado no Brasil mostrou que a não realização de exames microbiológicos para identificação de patógenos da mastite foi

identificado como fator de risco para infecção intramamária causada por *S. aureus* e *S. agalactiae*, aumentando em aproximadamente quatro vezes a chance de vacas estarem infectadas por estes patógenos em relação aos rebanhos que tem suporte laboratorial para diagnóstico microbiológico da mastite (SOUZA et al., 2006a; SOUZA et al., 2006b).

O impacto da implementação de estratégias de controle da mastite, em particular o plano dos cinco pontos no Reino Unido, foi bem sucedido em controlar patógenos contagiosos e induziu uma significativa redução de mastite clínica (Tabela 5) e subclínica, causados por estes patógenos, e conseqüentemente da CCS do rebanho (Tabela 6). Com esta redução de mastite por patógenos contagiosos, os microorganismos ambientais tiveram sua importância ampliada (LEIGH, 1999; BRADLEY, 2002). Em estudos comparativos entre rebanhos com baixa e alta CCS, foi verificado em que rebanhos que tiveram os patógenos contagiosos controlados, 80% das mastites foram devido a patógenos ambientais (BRADLEY, 2002), colocando *S. uberis* e *E. coli* como responsáveis por dois terços dos casos de mastite clínica nos rebanhos do Reino Unido (HILLERTON et al., 1993).

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

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

Fonte: Bradley, 2002

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

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

Fonte: Bradley, 2002

Souza *et al.* (2005) demonstraram que a adoção das medidas de controle e prevenção da mastite mencionado no plano do cinco pontos não estavam bem difundidas entre os rebanhos bovinos na Região da Zona da Mata de Minas Gerais mostrou (Tabela 7). Essas formas incluem o tratamento dos casos clínicos, tratamento à secagem de todos os quartos mamários e descarte de vacas com infecção crônica. Estudo realizado em rebanhos localizados na região Sudeste do Brasil mostrou que a não realização do tratamento à secagem e/ou a seleção de vacas para realização do tratamento à secagem proporcionava 2,44 e 15,50 vezes mais chance de infecção intramamária causada por *S. aureus* e *S. agalactiae* (SOUZA et al., 2006a; SOUZA et al., 2006b). Considerando estes aspectos, a seleção de animais para tratamento a secagem ou não a não utilização deste tratamento, e a ausência de descarte de animais com infecção crônica pode contribuir para que a CCS do rebanho apresente valores superiores a 400.000 por mL.

Tabela 7 - Frequência da adoção de medidas de controle da mastite com base no programa dos cinco pontos em rebanhos bovinos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil, de acordo com o ano do estudo

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

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

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

Fontes de contaminação bacteriana no leite

De forma geral, as principais fontes de contaminação bacteriana do leite cru podem ser divididas em três: glândula mamária infectada; pele de tetos e úbere; e utensílios e equipamentos utilizados na ordenha (MURPHY e BOOR, 2010). Entretanto, quando os

procedimentos de higiene no momento da ordenha e a limpeza adequada de utensílios e equipamentos que entram em contato com o leite estão adequados, as bactérias causadoras de mastite podem ser a principal fonte de contaminação do leite e influenciar significativamente na CTB do leite total do rebanho (HAYES et al., 2001; ZADOKS et al., 2004). Como mencionado anteriormente, os patógenos da mastite podem causar diferentes processos fisiopatológicos e diferentes padrões de CCS e, também, diferentes padrões de eliminação de bactérias pela glândula mamária (BRAMLEY et al., 1984; SEARS et al., 1990; HARMON, 1994; KEEFE, 1997). O leite proveniente de úberes sadios contém normalmente um número reduzido de bactérias, geralmente inferior a 1.000 bactérias por mL (KURWEIL, 1973). Estudos sobre a variação da CCS em vacas infectadas por *S. aureus* mostraram uma relação entre a infecção subclínica, o aumento da SCC e do aparecimento de bactérias no leite (SHOSHANI et al., 2000; DE HAAS et al., 2002). Vacas com infecção intramamária têm o potencial de eliminar 10^7 bactérias por mL de leite (BRAMLEY et al., 1990). Glândulas mamárias infectadas por *S. agalactiae* geralmente eliminam números elevados de bactérias, com um padrão cíclico liberação típico. Vacas infectadas e em fase inicial da infecção pelo *S. agalactiae* pode eliminar de 10^2 a 10^6 bactérias por mL (KEEFE, 1997). O número de *S. aureus* e *S. agalactiae* eliminado em infecções crônicas aumentam e reduzem, de acordo com um padrão cíclico (SEARS et al., 1990; DINSMORE et al., 1991; HARMON, 1994).

Por sua vez, existe uma correlação positiva significativa entre o número de patógenos no leite do tanque e a porcentagem de vacas infectadas no rebanho (GONZALEZ et al., 1986; ZADOKS et al., 2004; RYSANEK et al., 2005). A influência da mastite na CTB do leite de rebanhos depende do tipo de cepa da bactéria infectante, do estágio da infecção, e da porcentagem de vacas infectadas no rebanho (ZADOKS et al., 2004). As bactérias da mastite encontradas na maioria das vezes associadas à elevação da CTB são do gênero *Streptococcus* spp., principalmente *S. agalactiae* e *S. uberis* (GONZALEZ et al., 1986, HAYES et al., 2001; ZADOKS et al., 2004). Júnior et al. (2009) quantificaram a liberação de bactérias de quartos mamários de acordo com os patógenos da mastite. Os resultados encontrados mostraram que os estreptococos foram responsáveis pelas maiores quantidades de bactérias eliminadas pela glândula mamária, com destaque para o *S. agalactiae* (Tabela 8).

Tabela 8 - Variação da liberação de bactérias de quartos mamários por meio da contagem total de bactérias (x 1,000 ufc/mL) realizada em equipamento de citometria de fluxo de acordo com resultados de exames microbiológicos

Estatística descritiva	Resultados de exames bacteriológico				
	SC	SCN	STA	STR	SAG
N	421	64	69	39	45
Média geométrica	12	17	77	108	333
Média aritmética	10	31	260	239	759
Desvio padrão	256	59	460	452	749
ICM 95%	38 - 87	16 - 46	150 - 371	92 - 385	531 - 987
Percentil 10%	2	4	14	21	18
Percentil 25%	6	8	23	48	174
Mediana	10	15	66	100	590
Percentil 75%	22	35	269	189	1,028
Percentil 90%	79	56	772	758	2.078

ICM - intervalo de confiança da média; SC - sem crescimento; SCN - estafilococos coagulase negativo; STA - *Staphylococcus aureus*; STR - outros estreptococos; SAG - *Streptococcus agalactiae*

Fonte: Júnior et al., 2009

Dados categorizados de CCS e CTB de rebanhos com contagens de bactérias inferiores a 200.000 ufc/mL mostraram associação significativa entre as variáveis. Foi observado que rebanhos com CTB inferior a 20.000 ufc/mL apresentaram duas vezes mais chance de ultrapassarem este valor quando a CCS foi superior a 1.000.000 células/mL. Rebanhos com CCS acima de 750.000 mL e 1.000.000 mL apresentaram 1,39 e 1,61 vezes mais chance de apresentarem CTB superior a 100.000 ufc/mL. De acordo com Philpot e Nickerson (1991), rebanhos com CCS entre 750.000 mL e 1.000.000 mL apresentam aproximadamente 40,0% dos animais com infecção subclínica. Os resultados indicaram que quanto maior a CCS do rebanho, maior a influência das infecções subclínicas sobre o leite com melhor qualidade microbiológica, assumindo a CCS como fator indicativo de infecção mamária (Tabela 9). Considerando os dados mostrados na Tabela 9, fica evidente a importância da adoção de medidas de controle da mastite nos rebanhos localizados na região Sudeste do Brasil com CTB inferiores a 100.000 ufc/mL, 50.000 ufc/mL e 20.000 ufc/mL. Ressalta-se que os limites de CTB usados no estudo foram baseados na IN 51 e programas de pagamento de leite baseado em qualidade de empresas localizadas na região Sudeste do Brasil.

Tabela 9 - Distribuição de frequência, nível de significância e risco relativo de amostras de leite de rebanho de acordo com a categorização dos resultados de contagem de células somáticas (CCS) e contagem total de bactérias (CTB) de rebanhos localizados na Região Sudeste do Brasil, 2006-2009

CCS (células/mL)	Contagem total de bactérias (1.000 ufc/mL)				P	RR	IC 95%
	CTB ≤ 100		100 < CTB ≤ 200				
	N	%	N	%			
≤ 750.000	51.540	49,1	43.339	50,9	***	1,39	1,35 - 1,44
> 750.000	8.944	40,9	12.944	59,1			
≤ 1.000.000	56.180	48,8	58.994	51,2	***	1,61	1,55 - 1,67
> 1.000.000	4.304	37,1	7.289	62,9			
CCS (células/mL)	CTB ≤ 50		50 < CTB ≤ 200		P	RR	IC 95%
	N	%	N	%			
	N	%	N	%			
≤ 750.000	19.886	19,0	84.993	81,0	***	1,60	1,54 - 1,67
> 750.000	2.787	12,7	19.101	87,3			
≤ 1.000.000	21.460	18,6	93.714	81,4	***	1,96	1,84 - 2,08
> 1.000.000	1.213	10,5	10.380	89,5			
CCS (células/mL)	CTB ≤ 20		20 < CTB ≤ 200		P	RR	IC 95%
	N	%	N	%			
	N	%	N	%			
≤ 750.000	4.838	4,6	100.041	95,4	***	1,95	1,78 - 2,14
> 750.000	529	2,4	21.359	97,6			
≤ 1.000.000	5.106	4,4	110.068	95,6	***	2,01	1,77 - 2,28
> 1.000.000	261	2,3	11.332	97,7			

N - número de amostras; ufc - unidades formadoras de colônias; P - nível de significância; *** - P<0,001; RR - risco relativo; ICRR - intervalo de confiança

Considerações finais

No que se refere a qualidade do leite cru produzido nos rebanhos brasileiros, a produção de leite com valores inferiores a 400.000 células somáticas/mL e 100.000 ufc/mL é um desafio para grande parte dos rebanhos brasileiros. Com a melhoria da qualidade microbiológica do leite por meio de higiene no momento da ordenha, limpeza de utensílios e equipamentos que entram em contato com o leite e refrigeração imediata, os patógenos da mastite passam a ocupar posição de destaque na CTB no leite de rebanhos. Apesar da prevalência de *S. aureus* e de *S. agalactiae* nos rebanhos brasileiros não ser conhecida, estes patógenos são encontrados frequentemente em estudos de campo. Isto mostra a necessidade e importância do diagnóstico microbiológico da mastite para auxiliar na tomada de decisões no controle e prevenção da mastite. Além da importância do diagnóstico microbiológico, ressalta-se também que a difusão e adoção de medidas de

controle e prevenção abordadas no "plano dos cinco pontos" são fundamentais para o alcance dos limites estabelecidos na IN51 para CCS e CTB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, S.B.P., BATISTA, A.M.V., MONARDES, H. 2008. Leite: segurança alimentar e saúde pública. CCS Gráfica e Editora, Recife, Brasil.
- BARTLETT, P. C.; MILLER, G. Y.; LANCE, S. E.; HANCOCK, D. D.; HEIDER, L. E. Managerial risk factors of intramammary infection with *Streptococcus agalactiae* in dairy herds in Ohio. American Journal of Veterinary Research, v. 53, n. 9, p. 1715-1721, 1992.
- BODDIE, R. L.; NICKERSON, S. C. Evaluation of tow iodophor teat germicides: activity against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. Journal of Dairy Science, v. 80, n.8, p. 1846-1850, 1997.
- BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. Veterinary Journal, v. 164, n.2, p. 116-128, 2002.
- BRAMLEY, A. J. Mastitis. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. Bovine Medicine: Diseases and husbandry of Cattle. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1992. p.289-300.
- BRAMLEY, A. J.; DODD, F. H. Reviews of the progress of Dairy Science: Mastitis control – progress and prospects. Journal of Dairy Research, v. 51, n.3, p. 481-512, 1984.
- BRAMLEY, A.J. MCKINNON, C.H.. 1990. The microbiology of raw milk. Pages 163-208. In: Dairy Microbiology. vol. 1. The Microbiology of Milk. 2nd ed. R.K. Robinson. ed. Elsevier Science Publishers. London. United Kingdom.
- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. *Como (re)conhecer e controlar a mastite em rebanhos bovinos*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2002. 8 p. (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 70).
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 51, n.2, p. 129-135, 1999.
- CAPUCO, A. V.; MEIN, G. A.; NICKERSON, S. C.; JACK, L. J. W.; WOOD, D. L.; BRIGHT, S. A.; ASCHENBRENNER, R. A.; MILLER, R. H.; BITMAN, J. Influence of pulsationless milking on teat canal keratin and mastitis. Journal Dairy Science, v. 77, n.1, p. 64-74, 1994.

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

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

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

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. 2002a. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 18 de abril de 2002. Instituir a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite, com objetivo de realizar análises laboratoriais para fiscalização de amostras de leite cru, recolhidas em propriedades rurais e em estabelecimentos de laticínios.

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

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

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

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

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

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

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

GUTERBOCK, W. M.; VAN EENEHNAAM, A. L.; ANDERSON, R. J.; GARDNER, I. A.; CULLOR, J. S.; HOLMBERG, C. A. Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *Journal Dairy Science*, v. 76, n.11, p.3437-3444, 1993.

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

HAYES, M. C.; RALYEA, R. D.; MURPHY, S. C., CAREY, N. R., SCARLETT, J. M., BOOR, K.J. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. *Journal Dairy Science*, v.84, n.1, p.292-298, 2001.

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

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

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

JUHÁSZ-KASZANYITZKY, É; JÁNOSI, S.; SOMOGYI, P.; DÁN, Á.; BLOOIS, L.G.; DUIJKEREN, E.V.; WAGENAAR, J.A. MRSA Transmission between Cows and Humans. *Emerging Infectious Diseases*, v. 13, n. 4, p.630-632, 2007.

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

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

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

KURWEIL, R., BUSSE, M., 1973. Total count and microflora of freshly drawn milk. *Milchwissenschaft*. 28. 427.

LEE, J.H. Methicillin (oxacillin)-resistant staphylococcus aureus strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. Applied and Environmental Microbiology, v.69, n. 11, p. 6489-6494, 2003.

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

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

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

MURPHY, S.C., BOOR, K.J. Sources and Causes of high bacteria counts in raw milk: an abbreviated review, 2010. Disponível em: http://www.extension.org/pages/Sources_and_Causes_of_High_Bacteria_Counts_in_Raw_Milk:_An_Abbreviated_Review>. Acesso em : 23/07/2010.

NADER FILHO, A., FERREIRA, L.M., AMARAL, L.A., ROSSI JUNIOR, O.D., OLIVEIRA, R.P. Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico por cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas na mastite bovina. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.59, n.5, p.1316-1318, 2007.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SHOSHANI. E.. LEITNER. G.. HANOCHI. B.. SARAN. A.. SHPIGEL. N.Y.. BERMAN. A. Mammary infection with *Staphylococcus aureus* in cows: progress from inoculation to chronic infection and its detection. Journal Dairy Research, v.67, p.155-169, 2000.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ZADOKS. R.N.. GONZALEZ. 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.



**IV CONGRESSO
BRASILEIRO DE
QUALIDADE DO LEITE**

22 a 24 de
Setembro 2010
Florianópolis - SC



PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



Centro de Ciências
Agroveterinárias
Campus III - Lages