

# QUALIDADE DO LEITE CRU E PRÁTICAS DE MANEJO EM FAZENDAS LEITEIRAS

**Cristina Simões Cortinhas<sup>1</sup>, Susana Nori de Macedo<sup>1</sup>, Camila Silano<sup>1</sup>, Alessandra  
Módena Orsi, Aline Gerato Dibbern<sup>1</sup>, Marcos Veiga dos Santos<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Pós-graduandos do Departamento de Nutrição e Produção Animal – FMVZ/USP.

<sup>2</sup>Professor Doutor do Departamento de Nutrição e Produção Animal – FMVZ-USP

## RESUMO

O aumento da exigência do mercado consumidor tem elevado a necessidade de produção de leite de melhor qualidade. E para que os produtos lácteos atinjam níveis satisfatórios de qualidade, é imprescindível a adoção de programas de boas práticas de manejo e de controle da mastite. Nestes programas, são realizadas análises periódicas do leite de tanque para identificação das principais fontes de contaminação do leite. Essas análises, aliadas com a avaliação dos fatores de risco, possibilitam a elaboração de um plano de ação para o controle da qualidade do leite produzido. Nessa revisão objetivou-se apresentar resultados recentes de pesquisas sobre o efeito da mastite subclínica bovina na composição e na qualidade higiênica do leite de tanque, contribuição relativa dos patógenos causadores de mastite subclínica sobre a qualidade do leite, avaliação dos fatores de risco para a baixa qualidade do leite e avaliação do nível de conhecimento e opiniões sobre mastite e qualidade do leite.

**Palavras-chave:** leite de tanque, mastite subclínica, cultura microbiológica, fatores de risco

## INTODUÇÃO

A produção de matérias primas de alta qualidade é um dos principais desafios para o aumento da competitividade do sistema agroindustrial do leite. Dentro deste contexto, a qualidade do leite cru é um dos principais critérios para o processamento, rendimento e aceitabilidade dos derivados lácteos.

A mastite, inflamação da glândula mamária, exerce influência negativa sobre a composição e as características físicas e químicas do leite, e é responsável por grandes perdas econômicas na atividade. O estabelecimento de medidas de prevenção e controle da mastite é realizado com base na cultura microbiológica e na contagem de células somáticas (CCS) da vaca e do leite de tanque. A CCS aumenta quando ocorre a invasão da glândula mamária por micro-organismos, o que desencadeia resposta imunológica, que culmina num processo

inflamatório denominado mastite. O aumento da CCS depende da intensidade da resposta inflamatória que, por sua vez, é determinada pelo tipo de micro-organismo causador (Bradley, 2002). Durante episódios de mastite, dependendo da etiologia, os patógenos causadores são eliminados no leite e podem aumentar a contagem bacteriana total (CBT) do leite de tanque (Rysanek et al., 2009b; a).

Um dos pontos críticos para implantação de programas de melhoria da qualidade do leite é a avaliação do nível de conhecimento técnico e das opiniões dos produtores de leite sobre as causas, prejuízos e medidas de controle da mastite bovina e para a melhoria da qualidade do leite. Este tipo de avaliação deve ser regionalizada para auxiliar na determinação da forma que novos conhecimentos podem ser apresentados aos produtores, buscando um referencial de avaliação de mudanças no conhecimento e sensibilização dos produtores frente a novos conceitos. No entanto, ainda são escassas informações sobre conhecimentos dos produtores sobre as causas da mastite e sobre protocolos de prevenção e tratamento mais adequados (Mcleod, 2008).

Além disso, a produção de leite cru com baixa contagem bacteriana depende de diversos fatores, tais como: a saúde e higiene da vaca, a higiene dos equipamentos de ordenha, o tempo e a temperatura de armazenamento do leite. Para monitorar a qualidade higiênica do leite é possível utilizar análises microbiológicas do leite coletado diretamente do tanque de expansão. Estas análises indicam, quando realizadas rotineiramente, e interpretadas em associação com as práticas de manejo utilizadas na fazenda, a saúde do rebanho e as condições ambientais de produção e armazenamento do leite (Jayarao; Wolfgang, 2003). Para avaliação da qualidade do leite de tanque utilizadas: contagem bacteriana total (CBT), contagem no leite com incubação preliminar (CIP), contagem de leite pasteurizado (CLP) e contagem de coliformes (CC). A CBT é a mais utilizada e mais indicada para avaliação da condição higiênica geral durante a produção do leite (Elmoslemany et al., 2009a).

No Brasil, os critérios mínimos de qualidade do leite foram estabelecidos pelo Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL), cuja base legal foi instituída pela Instrução Normativa nº 51 (IN 51), alterada pela Instrução Normativa nº 62 (IN 62) para aprovar o regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite comercializado no Brasil (Brasil, 2002; 2011; Oliveira et al., 2011).

O aumento da exigência dos consumidores por produtos de melhor qualidade interfere na cadeia produtiva do leite, de modo que se torna necessária a melhoria da qualidade higiênica e da composição do leite. A análise da qualidade microbiológica do leite de tanque é uma ferramenta que pode ser utilizada pelos produtores e pela indústria para a identificação

de problemas e a busca por possíveis soluções. Dessa forma, na presente revisão objetivou-se apresentar resultados recentes de pesquisas sobre o efeito da mastite subclínica bovina sobre a composição, qualidade higiênica do leite de tanque, assim como a contribuição relativa dos patógenos causadores de mastite subclínica sobre a qualidade do leite, avaliação dos fatores de risco para a baixa qualidade do leite e avaliação do nível de conhecimento e opiniões sobre mastite e qualidade do leite.

## **CONCEITOS GERAIS SOBRE MASTITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS)**

A mastite é uma inflamação da glândula mamária e causa de enormes perdas econômicas ao agronegócio do leite. Para a indústria de lácteos, é a doença que causa os maiores prejuízos, devidos principalmente ao menor rendimento de fabricação de derivados lácteos em decorrência de alteração na composição do leite e pela menor vida de prateleira do leite pasteurizado e seus derivados (Åkerstedt et al., 2012). Para o produtor, as perdas se devem à redução da produção e descarte do leite, ao trabalho e custo extra para tratamento e aplicação de antibióticos e ao aumento do risco de doenças subsequentes, além de ser uma das principais causas de descarte de animais em rebanhos leiteiros (Groenendaal et al., 2004).

As infecções intramamárias são causadas por micro-organismos classificados em dois grupos: contagiosos e ambientais. O primeiro grupo é adaptado a sobreviver dentro da glândula mamária e é transmitido entre vacas ou quartos infectados para vacas ou quartos sadios. São também caracterizados pela baixa incidência da forma clínica da doença e alta incidência dos casos subclínicos, com consequente aumento da CCS. Os patógenos classificados como ambientais não são bem adaptados para sobreviver no interior da glândula mamária, porém, podem entrar pelo canal do teto, causando resposta inflamatória aguda (Freitas et al., 2005; Santos; Fonseca, 2007).

As infecções da glândula mamária podem ser causadas por diversos micro-organismos, porém, a maior parte das infecções é causada por bactérias, principalmente dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* e do grupo dos coliformes (Freitas et al., 2005; Langoni et al., 2009). O início da infecção intramamária ocorre quando micro-organismos entram pelo canal do teto e se multiplicam nas cisternas do teto e da glândula, atingindo os tecidos secretores. Estes micro-organismos causadores de mastite podem ser transmitidos a glândula mamária durante a ordenha, por meio do equipamento de ordenha ou pela colonização da pele do teto. (Akers; Nickerson, 2011).

A mastite pode se manifestar de duas formas: clínica e subclínica. Na forma clínica, a mastite apresenta sintomas visíveis, com alterações na vaca (edema, sensibilidade aumentada do úbere, febre) e no leite (presença de grumos, pus ou sangue). A mastite subclínica pode ultrapassar os 70% dos casos totais de mastite (Bradley, 2002), enquanto que a forma clínica da doença tem incidência média de 25 a 30% dos casos totais do rebanho. Além disso, as perdas causadas pela mastite subclínica podem representar até dois terços do custo total da mastite em uma propriedade leiteira. (Cavero et al., 2008).

Para o monitoramento da saúde da glândula mamária, os índices mais frequentemente analisados são a incidência de mastite clínica e a CCS, e com menor frequência devido ao custo mais elevado, a identificação de patógenos específicos. A CCS é a principal variável para mensurar a prevalência e a incidência de infecções intramamárias. Além disso, a CCS pode ser analisada em amostras de leite individuais ou do leite total da propriedade. No leite oriundo de vacas saudáveis, a CCS é inferior a 200.000 células/mL, sendo que a maioria é de células epiteliais de descamação e leucócitos. Com o início de uma inflamação, ocorre um aumento da CCS, devido à elevação da quantidade de leucócitos na glândula mamária (Akers; Nickerson, 2011; Dufour et al., 2011).

## **CONCEITOS GERAIS SOBRE INDICADORES DE QUALIDADE HIGIÊNICA DO LEITE**

Os métodos de referência utilizados para a determinação da qualidade do leite cru são a CBT e a CCS. Com a CBT é possível estimar a quantidade de bactérias que estão presentes no leite produzido na propriedade e a CCS é um indicativo de saúde da glândula mamária. Quando estes índices estão dentro dos valores de normalidade, a pasteurização é altamente efetiva para destruir os micro-organismos patogênicos que poderiam ameaçar a saúde humana (Pantoja et al., 2009).

A CBT em amostras de leite de tanque é um indicativo do estado de saúde do rebanho, das condições sanitárias da propriedade e dos equipamentos de ordenha, das condições higiênicas e da temperatura de estocagem do leite. É utilizada para determinar a qualidade do leite produzido, porém tem baixo valor para a identificação da fonte de contaminação. O aumento da CBT pode ser causado pela proliferação de bactérias no equipamento de ordenha não adequadamente higienizado, pela contaminação de tetos e úberes sujos, pelo resfriamento inadequado do leite e pela presença de patógenos causadores de mastite (Berry et al., 2006; Pantoja et al., 2009; Bava et al., 2011).

A CBT é determinada pela inoculação de alíquotas de leite em placas que são incubadas em ambiente aeróbico e temperatura de  $32\pm 1^\circ\text{C}$  por  $48\pm 3$  horas (American Public Health Association, 2004). Sob esta temperatura, alguns grupos de micro-organismos não se proliferam e, portanto, há necessidade de outras análises para a correta identificação da fonte de contaminação do leite de tanque. Para isso, geralmente são determinadas as contagens de micro-organismos psicotróficos, que se multiplicam em baixas temperaturas, de termodúricas, que sobrevivem à temperatura de pasteurização, e de coliformes, usado internacionalmente como indicador de higiene em leite de tanque (Marth; Steele, 2001).

A análise da qualidade microbiológica do leite cru é importante tanto para os produtores quanto para a indústria de lácteos, pois é uma forma de garantir a qualidade do leite pasteurizado e seus derivados (Marth; Steele, 2001). No Brasil, a IN 62/2011 estabeleceu um limite de CBT calculado pela média geométrica de ao menos uma análise mensal da CBT do leite de tanque de cada propriedade por um período de três meses. Para as regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste brasileiras até junho de 2014 a CBT máxima estabelecida é de 600.000 UFC/mL e a partir de julho de 2014 deverá ser de no máximo 300.000 UFC/mL (Brasil, 2011).

Para a redução da CBT é necessária a adoção de técnicas adequadas de higiene na ordenha e manejo dos animais, uso de água limpa, correta higienização dos equipamentos de ordenha e resfriamento adequado do leite. Quando o processo de limpeza e desinfecção não é adequado, restam resíduos de leite na superfície do equipamento de ordenha que favorecem a proliferação de diversos micro-organismos. Com a passagem do leite da ordenha subsequente, ocorre a contaminação do leite, que se não for resfriado adequadamente, favorecerá a multiplicação dos micro-organismos (Barbano et al., 2006; Bava et al., 2011).

O rápido resfriamento do leite reduz a proliferação dos micro-organismos contaminantes, e, embora favoreça a multiplicação de psicotróficos, a maioria desses micro-organismos não resiste à temperatura de pasteurização. No entanto, esse grupo de bactérias produz enzimas proteolíticas e lipolíticas que resistem à temperatura de pasteurização e que são capazes de hidrolisar toda a caseína disponível em peptídeos solúveis, que deixam o leite com sabor amargo e diminuem a durabilidade do leite pasteurizado e seus derivados. O aumento do tempo de estocagem do leite associado à baixa temperatura favorece a proliferação deste grupo de micro-organismos, principalmente as *Pseudomonas* spp. Estas bactérias podem se multiplicar em ambientes de  $0^\circ$  a  $20^\circ\text{C}$ , independentemente do ponto ótimo de proliferação (Marth; Steele, 2001; Yagoub et al., 2008; Perko, 2011).

Os micro-organismos psicrotróficos são amplamente distribuídos no ambiente, sendo encontrados na água não tratada, no solo, na vegetação e na pele dos tetos e úbere. Geralmente, estes micro-organismos entram em contato com o leite pela contaminação do equipamento de ordenha com água não tratada, ou contato com os tetos. Na maioria das propriedades leiteiras, a água utilizada na ordenha não é tratada. Embora somente o contato da água com o leite não seja suficiente para elevar a CP do tanque, os resíduos de leite no equipamento de ordenha podem favorecer a rápida multiplicação destes micro-organismos, que entram em contato com o leite na ordenha subsequente, podendo elevar a contagem de psicrotróficos no leite do tanque (Santos; Fonseca, 2007; Elmoslemany et al., 2009b).

O grupo dos coliformes compreende todas as bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas, gram-negativas, não formadoras de esporos e que fermentam a lactose com produção de ácido e gás em temperatura entre 32 e 35° C. Os principais micro-organismos pertencentes ao grupo dos coliformes são dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. A presença desses micro-organismos nos produtos lácteos indica falhas de higiene nas práticas adotadas na produção, processamento e estocagem do leite. A CC é utilizada para mensurar a qualidade sanitária do processamento do leite a fim de minimizar a contaminação bacteriana dos produtos lácteos (Davidson et al., 2004).

Os coliformes estão presentes no trato intestinal das vacas e são comumente encontrados nas fezes, no material das camas, no solo e na água contaminada. Estes micro-organismos podem entrar em contato com o leite pela contaminação do equipamento de ordenha com a água, ou contato com os tetos não higienizados corretamente. Além disso, os coliformes podem permanecer incubados em filmes residuais dos equipamentos de ordenha com higiene imprópria. A elevada CC indica práticas de produção com deficiências de higiene e inadequada preparação da vaca para ordenha (Elmoslemany et al., 2009b; Pantoja et al., 2009; Elmoslemany et al., 2010).

A CLP está diretamente relacionada à formação de biofilmes por falhas no processo de limpeza, como: temperatura e dureza inadequadas da água de limpeza dos equipamentos e tanque; agitação insuficiente; baixa concentração ou baixa qualidade dos detergentes e desinfetantes utilizados; partes de borracha do equipamento em más condições de conservação ou excessiva temperatura (Jones; Sumner, 1999; Jayarao; Wolfgang, 2003).

O processamento térmico (62,8°C por 30 minutos) de amostras de leite, realizado antes dos procedimentos de contagem padrão em placas, permite a contagem de bactérias termodúricas e mesófilas, que sobrevivem ao processo de pasteurização (Jones; Sumner, 1999; Jayarao; Wolfgang, 2003; Bava et al., 2011). Este grupo de bactérias causa deterioração

e reduz a vida de prateleira do leite, mesmo após os processos de pasteurização (Elmoslemany et al., 2010).

A análise da produção e da composição do leite são ferramentas que devem ser utilizadas para o gerenciamento da propriedade leiteira. A qualidade dos produtos lácteos depende da qualidade do leite e de seus principais componentes: proteína e gordura. A análise periódica desses parâmetros traz informações sobre problemas que podem afetar a produção e a qualidade do leite. Alterações na produção de leite podem ser reflexo de problemas na sanidade dos animais do rebanho (Forsbäck et al., 2010).

Um estudo recente, realizado pelo Laboratório de Pesquisa em Qualidade do Leite (Qualileite) da FMVZ/USP, avaliou o efeito da CCS em tanque de rebanhos leiteiros comerciais sobre os teores de gordura, proteína, sólidos totais e extrato seco desengordurado e a CBT, CP e CC. Para tanto, foram selecionadas 204 propriedades leiteiras localizadas nas regiões oeste de São Paulo e sul de Minas Gerais, distribuídas em três grupos de acordo com a média geométrica da CCS de 5 amostras de tanque coletadas no mês anterior ao início das coletas: a) Baixa CCS (76 rebanhos com média de CCS <250.000 céls/mL); b) Média CCS (71 rebanhos com média de CCS entre 250.001 e 750.000 céls/mL); e c) Alta CCS (57 rebanhos com média de CCS >750.001 céls/mL). Os rebanhos foram amostrados duas vezes ao mês, durante três meses, totalizando seis coletas por rebanho.

A CBT e a CC foram menores no grupo com CCS até 250.000 céls/mL (Tabela 1). A CCS de tanque é um indicativo da incidência média de mastite no rebanho e a ocorrência de animais com mastite no rebanho pode causar elevação da CBT do tanque. Segundo Jayarao et al. (2004), há baixa correlação entre a CC e a presença de outras bactérias causadoras de mastite contagiosa.

Os grupos com CCS abaixo de 750.000 céls/mL apresentaram maiores teores de ESD. Grupos com CCS acima de 250.001 céls/mL apresentaram os maiores teores de gordura e proteína e o maior teor de sólidos totais foi observado no grupo de média CCS (>250.001 e <750.000 céls/mL). Alta CCS no leite de tanque é um indicador de ocorrência de mastite no rebanho. Esta doença pode causar alterações na composição do leite, tais como diminuição dos teores de gordura, proteína e sólidos totais. Porém, se a redução da produção de leite for mais acentuada que a produção de gordura, ocorre aumento da concentração deste componente. O teor de gordura do leite também pode ser alterado pelo esvaziamento do úbere, pois a concentração de gordura no leite ao final da ordenha e no leite residual é maior do que no início. Falhas no controle do vácuo no equipamento de ordenha podem diminuir a

eficiência da ordenha e ocasionar redução dos teores de gordura do leite (Machado et al., 2000; Forsbäck et al., 2010).

O aumento dos teores de proteína total do leite quando há aumento da CCS pode ocorrer pelo aumento das proteínas do soro (albumina e imunoglobulina). Isto pode ocorrer devido à alteração do equilíbrio osmótico do leite em relação ao sangue nos animais com mastite. Como mecanismo de compensação para o restabelecimento do equilíbrio osmótico, ocorre a passagem de íons sódio e cloreto, resultando no aumento da condutividade elétrica e no aparecimento de sabor salgado no leite (Santos; Fonseca, 2007; Forsbäck et al., 2009).

Tabela 1. Médias geométricas da contagem bacteriana total (CBT), contagem de psicotróficos (CP), contagem de coliformes (CC) e composição do leite dos grupos de baixa, média e alta CCS.

Variável	CCS (células/mL)			EPM	P
	<250.000	>250.001 e <750.000	>750.001		
Log CBT (10 <sup>3</sup> UFC/mL)	4,43 <sup>a</sup> (97,3)	4,49 <sup>b</sup> (89,5)	4,65 <sup>b</sup> (115,4)	0,0218	0,0003
Log CP (10 <sup>3</sup> UFC/mL)	4,12 (53,5)	4,26 (78,9)	4,22 (71,4)	0,0248	0,0499
Log CC (UFC/mL)	0,98 <sup>a</sup> (167,23)	1,25 <sup>b</sup> (229,32)	1,28 <sup>b</sup> (289,22)	0,0312	<0,0001
Gordura (%)	3,54 <sup>b</sup>	3,73 <sup>a</sup>	3,70 <sup>a</sup>	0,0105	<0,0001
Proteína (%)	3,16 <sup>b</sup>	3,22 <sup>a</sup>	3,23 <sup>a</sup>	0,0047	<0,0001
Sólidos totais (%)	12,26 <sup>c</sup>	12,47 <sup>a</sup>	12,38 <sup>b</sup>	0,0140	<0,0001
ESD (%)	8,72 <sup>a</sup>	8,74 <sup>a</sup>	8,67 <sup>b</sup>	0,0058	0,0001

EPM: Erro padrão da média; ESD: Extrato seco desengordurado; Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Scheffé ( $\alpha=5\%$ ).

## ASSOCIAÇÃO ENTRE PATÓGENOS CAUSADORES DE MASTITE, CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL

O monitoramento de micro-organismos causadores de mastite em rebanhos pode ser realizado por meio de análises de quartos mamários ou por análises do leite de tanque (Brito et al., 1998). Se por um lado o processo de análise do leite por quarto mamário apresenta como inconveniente a necessidade de grande número de amostras, por outro lado, amostras do leite de tanque podem apresentar contaminação por diversos micro-organismos ambientais (Rysanek et al., 2009a). Ainda assim, a cultura do leite de tanque é uma boa opção para determinar os principais micro-organismos causadores de mastite em rebanhos, desde que interpretada de forma cautelosa e em associação com outras informações como o manejo do rebanho, a CCS e a CBT (Jayarao; Wolfgang, 2003).



A relação entre CCS, CBT e a contagem de agentes causadores de mastite no leite de tanque foi descrita por alguns autores (Zadoks et al., 2004; Rysanek et al., 2009b; a). Zadoks et al. (2004) ao avaliar o leite de rebanhos leiteiros no estado de Nova Iorque, EUA, identificaram alta associação entre a contagem de bactérias do gênero estreptococos e a CBT em análises do leite de tanque com CCS acima de 750.000 céls/ml. Rysanek et al. (2009b) identificaram diferença na CCS do leite de tanque com altas contagens de *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus dysgalactiae*, quando comparados com a CCS do leite com ausência destas bactérias. Jarayao et al. (2004) identificaram aumento de frequência de isolamento de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* com o aumento de CCS no leite de tanque. Ainda que alguns estudos avaliaram associações entre CCS, CBT e contagem de micro-organismos causadores de mastite, a dinâmica populacional destes agentes varia com a região ou país estudado e até de acordo com limites regulatórios impostos (Barkema et al., 1998).

No Brasil, bactérias das espécies *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* foram as mais prevalentes como causadores de mastite em estudos nas regiões de Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e São Paulo (Cruppe et al., 2008). Tanto *Staphylococcus aureus* quanto *Streptococcus agalactiae* são considerados patógenos contagiosos, os quais, adaptados a sobreviver e se multiplicar na glândula mamária, podem ser transmitidos entre as vacas no momento da ordenha, são de difícil controle e capazes de causar grande variação na CCS e na composição do leite (Harmon, 1994). Outros micro-organismos causadores de mastite como o *Staphylococcus* spp. coagulase negativo e o *Corynebacterium bovis* podem causar moderado processo inflamatório e menor variação na CCS (Harmon, 1994).

Em estudo recente, realizado no Laboratório de Qualidade de Leite (Qualileite), na FMVZ/USP, foi avaliada a associação entre patógenos causadores de mastite, a CBT e a CCS do leite de tanque de rebanhos leiteiros.

De um total de 454 produtores de leite, localizados no Sul de Minas Gerais e Oeste de São Paulo, foram selecionados 90 com base na CCS (média geométrica) de 10 amostras de leite coletadas durante os meses de junho e julho de 2012 (a cada 6 dias), os quais foram classificados em 3 grupos: a) até 250.000 céls/ml (30 rebanhos); b) entre 251.000 e 600.000 céls/ml (30 rebanhos); c) maior que 600.000 céls/ml (30 rebanhos). Foram coletadas 6 amostras do leite de tanque (a cada 15 dias) dos 90 produtores para as análises de contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), contagem de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), contagem de *Streptococcus agalactiae* (*Strep. agalactiae*), contagem de

estafilococos coagulase negativos (ECN), contagem de estreptococos ambientais e contagem de *Escherichia coli* (*E. coli*).

Foi observado que a contagem de *Strep. agalactiae* apresenta moderada correlação com a CCS e a CBT e, ainda, que este patógeno tem maior correlação com a CCS do que com a CBT (Figuras 1 e 2).

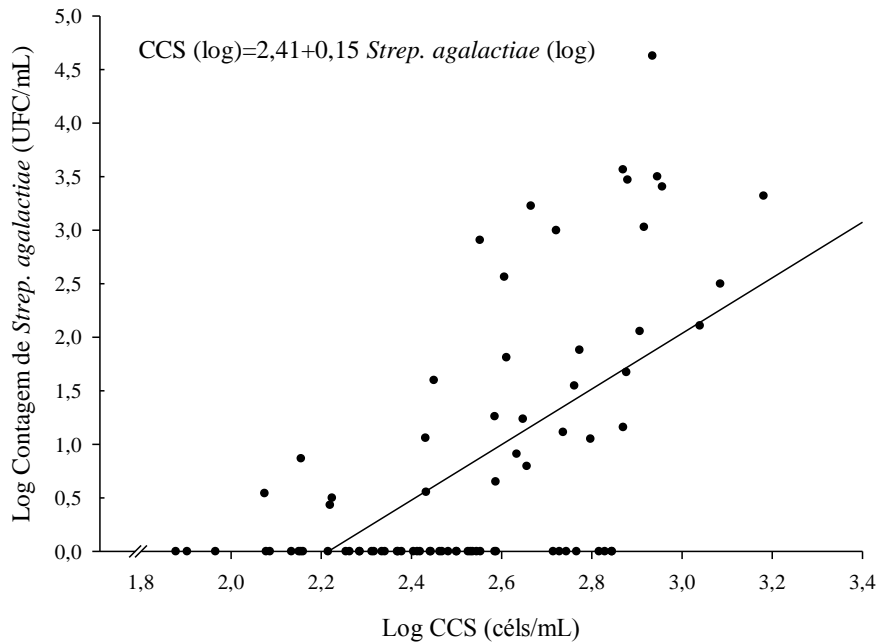


Figura 1. Correlação entre as contagens (em unidades logarítmicas) de células somáticas (CCS) e de *Streptococcus agalactiae* ( $R^2 = 0,41$ ).

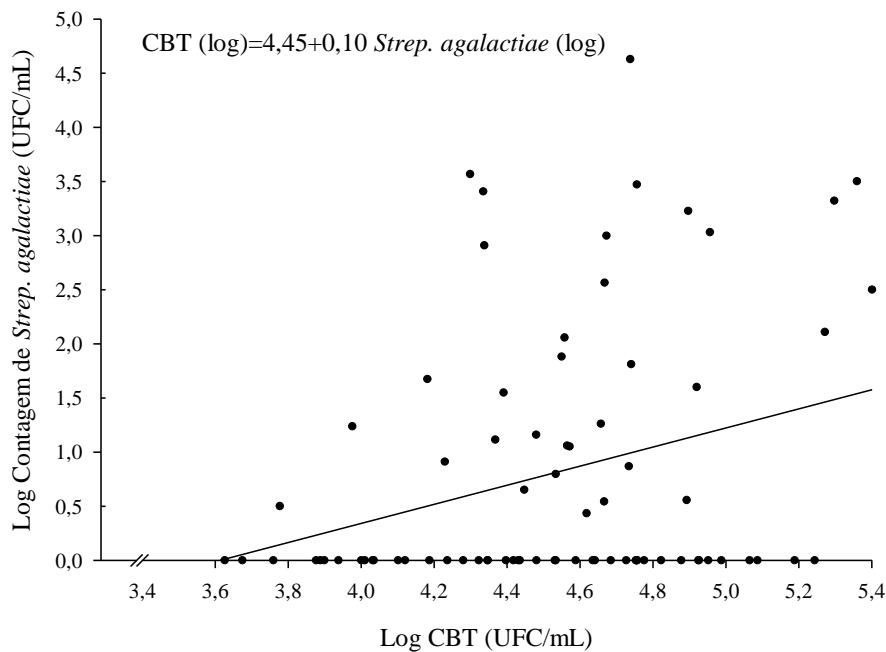


Figura 2. Correlação entre as contagens (em unidades logarítmicas) bacteriana total (CBT) e de *Streptococcus agalactiae* ( $R^2 = 0,09$ ).

Zadoks et al. (2004) descreveram correlação entre a quantidade de vacas com *Strep. agalactiae* e a CBT, e concluíram que os estreptococos são os micro-organismos que mais contribuem para o aumento da CBT, em amostras do leite de tanque. *Streptococcus agalactiae* não tem a capacidade de se multiplicar em superfícies com acúmulo de matéria orgânica, como equipamentos de ordenha mal higienizados, ou em condições de deficiência no resfriamento do leite, por outro lado, têm alta capacidade de multiplicação na glândula mamária (Rysanek et al., 2007). No estágio inicial de infecção por *Strep. agalactiae*, uma vaca no pode eliminar mais de  $100 \times 10^6$  bactérias/ml e, no leite de tanque, estas bactérias causam aumento significativo da CBT (Keefe, 1997).

## **PERFIL SOCIOECONÔMICO, ATITUDES E CONHECIMENTO DE PRODUTORES DE LEITE EM RELAÇÃO À MASTITE E À QUALIDADE DO LEITE**

A inserção de práticas de controle da mastite de forma eficiente em fazendas leiteiras é dependente do fator humano, do estilo de gestão do produtor e de como ele vai agir frente a diferentes formas de tratamento e prevenção de mastite (Jansen et al., 2009). Com relação à mastite, ainda existem lacunas quanto ao nível de conhecimento dos produtores de leite (Mcleod, 2008). Jansen et al. (2009) e Jansen et al. (2010) avaliaram como as atitudes específicas e os conhecimentos dos produtores interferem na CCS de rebanhos leiteiros, bem como sua relação com a incidência de mastite dentro ou fora de programas de controle. Jansen et al. (2009), em estudo realizado com rebanhos leiteiros na Holanda, relataram que o comportamento e atitudes dos produtores explicaram juntos 48% da variação na contagem de células somáticas do leite de tanque, 31% da incidência de mastite clínica e 23% da incidência de mastite subclínica. Em outro estudo, Jansen et al. (2010), com o objetivo de avaliar os efeitos da implantação de um programa nacional de controle da mastite sobre as atitudes, o comportamento e os conhecimentos dos produtores com relação à mastite, concluíram que houve diminuição de CCS no leite de tanque associada às mudanças nas percepções e determinadas práticas de manejo utilizadas pelos produtores.

Apesar de estudos anteriores Jansen et al., (2009, 2010) terem relacionado atitudes e conhecimentos à CCS e à incidência de mastite em rebanhos com e sem a implantação de programas de controle da doença, há escassez de estudos que avaliam o conhecimento técnico e as opiniões dos produtores de leite sobre as causas, prejuízos e medidas de controle da mastite bovina em programas de pagamento por qualidade do leite. Este tipo de avaliação

pode ser utilizado como um referencial de mudanças no conhecimento e sensibilização dos produtores frente a novos conceitos para controle e prevenção da mastite (McLeod, 2008).

Com os objetivos de avaliar a associação os conhecimentos técnicos dos produtores de leite sobre mastite e qualidade do leite e a ocorrência de mastite subclínica, 63 produtores localizados na região Sul de Minas Gerais e Oeste de São Paulo, e inseridos em programas de pagamento de leite por qualidade, foram visitados para aplicação de questionários com perguntas sobre mastite e qualidade do leite e, ainda, sobre as características socioeconômicas da propriedade e do entrevistado.

Foram coletadas amostras de leite durante dois meses (agosto e setembro de 2011), uma vez por semana, para a realização de análises de CCS. Após a realização das análises, as propriedades foram organizadas para compor três grupos: a) baixa CCS: CCS < 250.000 céls/ml (n = 16); b) média CCS: entre 250.000 e 400.000 céls/ml (n = 24); c) alta CCS: > 400.000 céls/ml (n = 23). Os questionários previamente formulados com base em Olival et al. (2004); Jansen et al. (2009) e Oinara et al. (2009), adaptados para a região em estudo e testados por entrevista realizada em uma propriedade, e abordaram questões sobre os seguintes tópicos: a) socioeconômicas (8 questões que visaram estratificar os produtores com relação a sua renda, volume de produção e outros critérios); b) conhecimentos a respeito de células somáticas, contagem bacteriana e mastite (17 questões sobre controle, prevenção e tratamento); c) comportamentos dos produtores com relação a práticas de prevenção da mastite, higiene de ordenha e equipamentos (5 questões).

Foram observadas associações entre a ordem de importância do leite como atividade remunerada na propriedade, o tipo de ordenha utilizado na propriedade, o conhecimento das exigências legais de CCS e CBT e o uso de métodos para detecção de mastite e a CCS (Tabela 2).

Tabela 2. Características dos produtores e das propriedades estratificadas pela contagem de células somáticas ( $\leq 250.000$  céls/mL,  $250.000 \leq 400.000$ ,  $> 400.000$ ).

Variável	Resposta	CCS do tanque ( $10^3$ céls/ml)			P
		< 250 n (%)	$250 \leq$ 400 n (%)	> 400 n (%)	
Qual a principal atividade da propriedade? <sup>1</sup>	Agricultura	1 (6,7)	3 (12,5)	10 (47,6)	0,031
	Leite	13 (86,7)	21 (87,5)	10 (47,6)	
	Carne Bovina	1 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
	Outras	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,8)	
Qual o tipo de ordenha	Manual	1 (6,2)	2 (8,3)	0 (0,0)	0,031

existente na propriedade?	Balde ao pé com bezerro	4 (25,0)	2 (8,3)	1 (4,3)	
	Balde ao pé sem bezerro	3 (18,7)	3 (12,5)	4 (17,4)	
	Canalizado	8 (50,0)	17 (70,8)	18 (78,3)	
Conhece as exigências legais de contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite?	Sim	3 (18,7)	7 (29,2)	13 (56,5)	0,013
	Não	13 (81,3)	17 (70,8)	10 (43,5)	
Faz CMT?	Sim	11 (68,7)	11 (45,8)	8 (34,8)	0,042
	Não	5 (31,3)	13 (54,2)	15 (65,2)	

No presente estudo, a maior parte dos produtores com CCS até  $400 \times 10^3$  tinham a pecuária leiteira como principal atividade remunerada, contra menos de 50% dos produtores com CCS  $> 400 \times 10^3$ . Além disso, o leite tendeu a ser a principal atividade para mais de 80% dos entrevistados do grupo com CCS até  $400 \times 10^3$ , em comparação com o grupo  $>400.000$  céls/ml (47,8%). Estes resultados são diferentes dos encontrados por Oinara et al. (2009), que avaliaram 54 produtores quanto às percepções de qualidade, tomando como base os padrões da Instrução Normativa 51 do MAPA, e verificaram que a produção de leite foi a principal atividade em apenas 11,1% das propriedades estudadas. Para estes autores, apesar da ausência de avaliações dos critérios de qualidade do leite (principalmente CCS e CBT), o fato da produção de leite não ser a principal atividade na propriedade faz com que os produtores dediquem maior parte do seu tempo a outros afazeres e deixem de realizar práticas simples que não envolvem grande dispêndio de tempo e dinheiro, como hábitos de higiene pessoal e a eliminação dos primeiros jatos de leite. Segundo Botaro et al. (2013), existe associação entre a adoção de programas de pagamento por qualidade do leite e a redução tanto da CCS quanto da CBT no leite de tanque e, ainda, que o estabelecimento de um programa de qualidade desempenha papel fundamental na motivação de produtores de leite para concentrar seus esforços em práticas de gestão e controle da mastite.

A maior parte (95%) dos produtores avaliados utilizava ordenha mecanizada, resultados diferentes dos descritos por Souza et al. (2005) que descreveram apenas metade dos rebanhos com ordenha mecanizada, na Zona da Mata Mineira, e com os de Barbosa et al. (2009), que descreveram 71% dos rebanhos com ordenha manual, na região do triângulo Mineiro. Além disso, todos os produtores avaliados com ordenha manual apresentaram CCS abaixo de 400.000 céls/ml, resultados que corroboram com os descritos por Barbosa et al. (2009) que observaram efeito do tipo de ordenha sobre a incidência de mastite. Por estar em

contato direto com os tetos da vaca no momento de extração do leite, o equipamento de ordenha pode ser um fator de risco em potencial para a ocorrência de novas infecções intramamárias e este risco aumenta com deficiências na manutenção e uso inadequado destes equipamentos (Mein et al., 2004).

Com relação ao conhecimento sobre os limites legais dos principais critérios de qualidade do leite, foi observado que a maior parte dos entrevistados com conhecimento das exigências para CCS e CBT eram responsáveis pelos rebanhos com maiores CCS (>400.000 céls/ml), sendo seguidos pelos responsáveis pelos rebanhos com CCS entre 250 e 400.000 céls/ml e na sequência aqueles com menor CCS (<250.000 céls/ml). Um fator que pode ter colaborado para a maior busca de conhecimentos sobre os limites legais de CCS e CBT, por parte dos responsáveis pelas propriedades com maior CCS, é a penalização recebida pelo leite entregue com CCS acima de 600.000 céls/ml, limite que coincide com o da atual legislação vigente na região estudada. Desta forma, o conhecimento das exigências legais não garante que atitudes sejam tomadas para reduzir a CCS. Além disso, a penalização recebida pelo litro de leite entregue com CCS acima de 600.000 céls/ml (CCS entre 600.000 e 750.000 céls/ml - R\$ 0,010 /L e acima de 750.001 céls/ml - R\$ 0,020 /L), possivelmente não foi suficiente para estimular os responsáveis pelos rebanhos a implantar medidas para reduzir a CCS. Segundo Jansen et al. (2009), a variação de CCS do leite de tanque pode ser explicada pela formação de um quadro normativo como referência para mastite, pelas percepções dos produtores sobre a eficácia do controle de mastite e pela percepção dos efeitos da penalidade recebida pela CCS.

O CMT (California Mastitis Test), método desenvolvido por Schalm et al. (1957), é uma maneira prática de se estimar de forma indireta a CCS do leite, cujo princípio consiste na interação de ácidos nucléicos com detergente lipolítico formando-se uma solução viscosa. No presente estudo, o uso do CMT foi 22,9% maior no grupo de produtores com CCS <250.000 céls/ml quando comparado com o grupo com CCS entre 250.000 e 400.000 céls/ml, e 33,9% maior do que no grupo de produtores com CCS acima de 400.000 céls/ml. No entanto, não foram observadas diferenças para o teste de CCS individual entre os três grupos avaliados. Tanto o CMT quanto a CCS são utilizados para detecção da mastite subclínica, porém, o CMT é um método indireto que tem a facilidade de ser realizado ao pé da vaca, é prático, tem baixo custo de resultado imediato, e a CCS tem maior custo e, devido à necessidade de envio das amostras ao laboratório, o resultado não é imediato. Independentemente de qual método foi utilizado, os resultados do presente estudo indicam que a falta de diagnóstico está associado com aumento de CCS no leite de tanque. Estes resultados diferem dos observados

por Oliveira et al. (2011) que descreveram apenas 2% dos produtores com o uso de CMT, e não observaram alterações na CCS pelo uso do CMT, ao avaliar 50 rebanhos na Paraíba. Nero et al. (2009), ao relacionar práticas de manejo com a qualidade microbiológica do leite, observaram que 68,3% dos produtores não realizavam o CMT como teste de triagem para a detecção de mastite subclínica. A utilização do CMT permite a detecção da mastite subclínica, o que é fundamental para a tomada de decisões quanto a prevenção e o tratamento da mastite, apesar disso, no presente estudo não houve diferença com relação às outras medidas de prevenção para esta doença, entre os três grupos avaliados.

## **PRÁTICAS DE MANEJO ASSOCIADAS À QUALIDADE HIGIÊNICA DO LEITE CRU EM REBANHOS LEITEIROS**

A contaminação bacteriana do leite pode ocorrer por três principais vias: superfície externa dos tetos e úberes, superfície dos equipamentos de ordenha e contaminação por micro-organismos causadores de mastite (Elmoslemany et al., 2010). A análise periódica do leite de tanque tem sido utilizada há mais de três décadas para monitorar a qualidade do leite e o estado sanitário da glândula mamária, bem como para identificar possíveis fontes de contaminação (Jayarao; Wolfgang, 2003). Dentre as análises microbiológicas utilizadas no leite de tanque destacam-se: a contagem bacteriana total (CBT) - que estima o número total de colônias de bactérias aeróbias presentes no leite; a contagem com incubação preliminar (CIP) - utilizada para estimar o grupo de bactérias psicotróficas; a contagem do leite pasteurizado (CLP) - que quantifica o grupo de bactérias termodúricas; e a contagem de coliformes (CC) - indicador de contaminação fecal (Bava et al., 2011).

Estudos anteriores realizados por Elmoslemany et al. (2009a,b, 2010); Kelly et al. (2009); Nero et al. (2009); Bava et al. (2011) e Oliveira et al. (2011) avaliaram a relação entre as práticas de manejo e a qualidade do leite de tanque. Kelly et al. (2009) relataram que práticas de manejo como a utilização de água quente na sala de ordenha, o corte de pelos da cauda ao menos uma vez por ano e a limpeza frequente da sala de ordenha foram altamente associadas com a baixa contagem bacteriana, em rebanhos irlandeses mantidos a pasto.

Elmoslemany et al (2009a,b) avaliaram os fatores de risco associados à alta CBT, CIP, CLP, e CC, na Ilha de príncipe Edward, Canadá. Elmoslemany et al. (2009a) identificaram a inadequada limpeza da extremidade dos tetos e a alta concentração da solução de detergente alcalino (>500 ppm), utilizada para limpeza dos equipamentos, como fatores de risco para a alta contagem bacteriana. A identificação de fatores de riscos específicos para a alta CBT, CIP, CLP e CC foi realizada por Elmoslemany et al. (2009b), na qual a alta CBT e CIP foram

associados à limpeza dos tetos e à ausência de desinfetante pré-ordenha. A alta CLP e CC foram associadas à baixa temperatura da água de limpeza dos equipamentos de ordenha, com a dureza da água, e com a alta concentração da solução detergente alcalino.

No Brasil, Nero et al. (2009) avaliaram a relação entre práticas higiênicas de ordenha e a qualidade higiênica do leite e relataram que a refrigeração do leite até 7° C foi o principal procedimento para manter baixa a CBT, em estudo conduzido na região de Viçosa (Minas Gerais). Oliveira et al. (2011) identificaram a ausência de desinfetante pré e pós-ordenha como potenciais fatores de risco para a alta contaminação do leite de tanque por bactérias mesófilas e *Staphylococcus aureus*, ao avaliarem rebanhos no estado da Paraíba. Embora estudos anteriores de Nero et al. (2009) e Oliveira et al. (2011) tenham avaliado práticas de manejo como fatores de risco para a qualidade do leite cru no Brasil, são escassos os estudos sobre práticas de manejo associadas com a qualidade do leite cru em rebanhos submetidos a programas de pagamento do leite por qualidade. Desta forma, Cortinhas (2013) realizou um estudo com os objetivos de identificar e analisar práticas de manejo associadas à contagem bacteriana do leite de tanque em rebanhos submetidos a programas de pagamento por qualidade do leite no Sul de Minas Gerais e Oeste de São Paulo.

Foram selecionados 120 produtores de leite, de acordo com a média geométrica da contagem bacteriana total (CBT) de dez amostras de leite coletadas em dez semanas consecutivas, para compor dois grupos: 60 produtores com alta CBT ( $1,1 \times 10^4$  UFC/ml) e 60 produtores com baixa CBT ( $4,4 \times 10^3$  UFC/ml). Oito amostras de leite do tanque de expansão de cada produtor foram coletadas durante dois meses, uma vez por semana, para a realização das análises de CBT, contagem do leite com incubação preliminar (CIP), contagem do leite pasteurizado (CLP), contagem de coliformes (CC), contagem de células somáticas (CCS) e concentrações de gordura, proteína e sólidos totais. Após a realização das análises laboratoriais, 63 produtores foram visitados para aplicação dos questionários sobre: a) aspectos gerais de manejo da fazenda; b) manejo de ordenha; c) procedimentos de limpeza de equipamento de ordenha e utensílios; d) controle da mastite; e) condições de limpeza da vaca. Durante as visitas, foi avaliada a adequação dos procedimentos de limpeza pela presença de filmes orgânicos em 4 diferentes pontos do equipamento de ordenha (teteira, unidade final ou balde ao pé, copo coletor da teteira e na saída do tanque de expansão) pela metodologia de bioluminescência de ATP (3M™ Clean-Trace™ Surface ATP), e a dureza da água pelo método titulométrico de complexação do EDTA.

Para as análises estatísticas foram formados dois grupos em relação à CBT, CIP, CLP e CC (oito análises realizadas durante os meses de agosto e setembro): grupo com alta CBT



(n=28), produtores com mais de quatro análises com valores de CBT  $> 1,0 \times 10^4$  UFC/mL, e grupo baixa CBT (n=35), produtores com quatro análises ou menos com valores CBT  $< 1,0 \times 10^4$  UFC/ml (Jayarao; Wolfgang, 2003); grupo com alta CIP (n=38), produtores com mais de quatro análises com valores de CIP  $> 50.000$  UFC/ml, e grupo baixa CIP (n=25), produtores com quatro análises ou menos com valores CIP  $< 50.000$  UFC/ml (Jayarao; Wolfgang, 2003); grupo com alta CLP (n=32), produtores com quatro análises ou mais com valores de CLP  $> 200$  UFC/ml, e grupo baixa CLP (n=31), produtores com menos de quatro análises valores CLP  $< 200$  UFC/ml (Jayarao; Wolfgang, 2003); grupo com alta CC (n=26), produtores com mais de quatro análises com CC  $> 50$  UFC/ml, e baixa CC (n=37), produtores com valores de CC  $< 50$  UFC/ml (Jayarao; Wolfgang, 2003) em quatro análises ou menos.

O uso de desinfecção de tetos pré e pós-ordenha e a utilização do bezerro ao pé da vaca no momento da ordenha, para facilitar a extração do leite, foram práticas associadas à CBT. Com relação à presença de material orgânico no equipamento de ordenha após a limpeza, foi identificada diferença na quantidade de filme orgânico (ATP) na válvula de saída do tanque de expansão (Tabela 2).

A frequência de uso de desinfecção de tetos pré-ordenha foi 21,4% maior no grupo de produtores com baixa CBT do que no grupo com alta CBT. A utilização de desinfetantes de tetos pré-ordenha é uma prática de manejo utilizada com os objetivos principais de reduzir a contaminação bacteriana nos tetos, imediatamente antes da ordenha, e de reduzir o risco de mastite por bactérias ambientais (Jayarao et al., 2004). Os resultados deste estudo corroboram com os relatados por Jayarao et al. (2004) e Elmoslemany et al. (2009a) que descreveram relação entre a falta de uso do desinfetante de tetos pré-ordenha e a alta contagem de bactérias aeróbias totais. No Brasil, em estudo realizado na região nordeste da Paraíba, Oliveira et al. (2011) descreveram que apenas 32% das propriedades avaliadas utilizaram o desinfetante e que esta prática não estava associada à alta CBT; estes autores atribuíram a ausência de alguns efeitos ao reduzido número de rebanhos analisados (50) e reduzida variação entre eles.

Adicionalmente, o uso de desinfecção de tetos pós-ordenha foi 35% maior no grupo de produtores com baixa CBT do que no grupo de produtores com alta CBT. O desinfetante de tetos pós-ordenha tem sido utilizado com o objetivo principal de prevenção de novos casos de mastite causada por micro-organismos contagiosos, por reduzir e eliminar micro-organismos presentes na pele e orifício dos tetos após a ordenha (Wesen; Schultz, 1970). Segundo Zadoks et al. (2004), um dos fatores que podem contribuir para a alta CBT é a ocorrência de mastite, visto que espécies como *Streptococcus agalactiae* são altamente correlacionadas com a alta CBT. Os resultados do presente estudo corroboram com os relatados por Oliveira et al. (2011)

que descreveram associação entre o uso de desinfetante de tetos pós-ordenha e a baixa CBT, pelo o teste exato de Fisher.

A presença de bezerro ao pé da vaca durante a ordenha é prática utilizada para estimular a produção de ocitocina endógena, hormônio que estimula a ejeção do leite, comum em rebanhos com vacas mestiças provenientes do cruzamento da raça Holandesa com raças zebuínas (Araújo et al., 2012). Esta prática tem como inconvenientes o aumento da mão de obra, necessidade de adaptação da sala de ordenha (em caso de ordenha mecânica) e pode dificultar a execução de práticas higiênicas, tais ordenhar tetos limpos e secos (Brito et al., 2000; Araújo et al., 2012). Em estudo realizado por Brito et al. (2000), , foi observado que a mamada do bezerro aumentou em mais de dez vezes a carga microbiana na superfície dos tetos, mas que esta contaminação foi reduzida em 90% após o uso do desinfetante de tetos pré-ordenha. Segundo Jayarao e Wolfgang (2003) a alta CBT pode estar relacionada ao preparo ineficiente do úbere e tetos para a ordenha. Cortinhas (2013) observou associação entre a utilização do bezerro ao pé da vaca na ordenha e a CBT, na qual o número de produtores que faziam uso do bezerro ao pé da vaca foi maior no grupo de produtores com alta CBT. De forma contrária, outros autores não observaram diferenças na associação entre a CBT e a presença do bezerro ao pé da vaca durante a ordenha (Araújo et al., 2012).

Além das práticas de manejo avaliadas, o pH, a dureza, a temperatura e a quantidade de água utilizada para a limpeza dos equipamentos de ordenha, a utilização de detergentes apropriados, o bom funcionamento dos equipamentos com um sistema de turbilhamento eficiente, são fatores que interferem na limpeza dos equipamentos de ordenha e que podem estar associados à alta CBT. Com os objetivos de avaliar a efetividade da limpeza dos equipamentos de ordenha utilizados, Cortinhas (2013) realizou a técnica da bioluminescência do ATP, cujo princípio é a conversão da energia química associada ao ATP pelo complexo de enzima-substrato em luz, em uma reação estequiométrica (MacLeod et al., 2001). Segundo Wu et al. (2011), a bioluminescência do ATP apresenta um tempo de resposta rápido, pode ser realizada em cinco minutos e é adequada para o monitoramento da higiene em programas de qualidade na indústria. Neste estudo, a quantidade de material orgânico na válvula de saída do tanque de expansão do grupo de produtores com alta CBT foi 6,9 vezes maior do que a do grupo de produtores com baixa CBT. Elmoslemany et al. (2009a) identificaram a quantidade de matéria orgânica presente no início e no final da linha do leite, obtida pelo método de ATP bioluminescência, como fatores associados à alta CBT. A metodologia de bioluminescência detecta não só a contaminação bacteriana como também e contaminação não bacteriana, por exemplo, o leite residual ou outro tipo de material orgânico, por este motivo, a

bioluminescência é um método sensível na detecção da eficácia da limpeza dos equipamentos de ordenha (Vilar et al., 2008).

Tabela 3. Frequências das variáveis qualitativas relacionadas aos procedimentos de manejo de ordenha e quantidade de filme orgânico (média geométrica de ATP) na saída do tanque de expansão nos produtores dos grupos de alta e baixa contagem bacteriana total (CBT).

Variáveis	CBT		
	Alta n	Baixa n	<i>P</i>
Presença de bezerro ao pé da vaca durante a ordenha	12 (42,9 %)	4 (11,8 %)	0,008
Desinfecção dos tetos pré-ordenha	22 (78,6 %)	35 (100, 0 %)	0,005
Desinfecção dos tetos pós-ordenha	15 (53,6 %)	31 (88,6 %)	0,003
Filme orgânico na saída do tanque de expansão (URL)	4767 (log 3,7)	691,4 (log 2,8)	0,001

A utilização do bezerro ao pé da vaca no momento da ordenha e o uso de desinfetantes de tetos pós-ordenha, foram práticas associadas à CIP. Da mesma forma com que ocorreu para a CBT, a utilização de desinfecção de tetos pós-ordenha foi maior (28,8%) no grupo com baixa CIP, quando comparado ao grupo com alta CIP. Quanto ao uso de desinfetante pré-ordenha, no presente estudo não foram observadas diferenças na frequência de utilização desta prática entre os dois grupos, no entanto, o uso de desinfetante de tetos pré-ordenha tendeu a ser maior (15,8%) para grupo de produtores com baixa CIP. Os resultados do presente estudo corroboram com os de Jayarao et al. (2004) que descrevem que o uso de desinfetantes de tetos pré e pós-ordenha reduzem tanto a CBT quanto a CIP.

De forma similar ao observado com a CBT, o uso do bezerro ao pé da vaca no momento da ordenha foi maior no grupo de produtores com alta CIP, e a frequência de produtores com sistema de ordenha mecânica canalizada tendeu a ser maior no grupo com baixa CIP. A utilização de um sistema de ordenha mecânica tem como objetivos reduzir a mão de obra e o tempo de ordenha, mas não implica necessariamente em produção de leite com melhor qualidade, mas sim em mais um possível fator de contaminação microbiana (Guerreiro et al., 2005). Os resultados do presente estudo diferem dos descritos por Guerreiro et al. (2005) que, ao avaliar a influência da adoção de diferentes técnicas profiláticas de higiene e limpeza sobre a CIP, descreveram resultado inicial onze vezes maior em propriedades com ordenha mecânica do que em propriedades com ordenha manual.

Tabela 4. Frequências das variáveis qualitativas relacionadas aos procedimentos de manejo de ordenha dos produtores dos grupos de alta e baixa contagem bacteriana do leite com incubação preliminar (CIP).

Variáveis	CIP		
	Alta n	Baixa n	<i>P</i>
Presença de bezerro ao pé da vaca durante a ordenha	14 (36,8 %)	2 (8,3 %)	0,017
Desinfecção dos tetos pós-ordenha	24 (63,2 %)	23 (92,0 %)	0,016

A utilização do bezerro ao pé da vaca no momento da ordenha foi a única prática de manejo associada a CC, também foi identificada diferença na quantidade de filme orgânico (ATP) na válvula de saída do tanque de expansão (Tabela 6). A CC gera informações sobre o nível de contaminação por meio da matéria orgânica, que ocorre principalmente a partir do contato com o exterior do úbere e tetos dos animais e equipamentos de ordenha mal higienizados e de ocorrência de mastite por coliformes (Edmondson, 2005). Neste contexto, a prática de ordenha com o bezerro ao pé da vaca pode dificultar a execução de práticas de higiene pré-ordenha e resultar em contaminação por matéria orgânica proveniente do úbere e tetos e, conseqüentemente, resulta em CC mais elevada. Cortinhas (2013) observaram que a frequência de produtores que ordenharam com o bezerro ao pé da vaca foi 28% maior no grupo de produtores com alta CC, quando comparado com o grupo com baixa CC.

Fatores relacionados com a limpeza dos equipamentos de ordenha, como a dureza da água, alcalinidade e temperatura da solução de limpeza foram descritos por Elmoslemany et al. (2009b). Estes autores também avaliaram a quantidade de filme orgânico (ATP) nos equipamentos de ordenha após os procedimentos de limpeza, e concluíram que a válvula de saída do tanque de expansão é uma das maiores fontes de contaminação para o leite de tanque. Os resultados do presente estudo corroboram com os de Elmoslemany et al. (2009) que descreveram associação tanto da CC quanto da CBT e da CIP com a quantidade de ATP (bioluminescência) na válvula de saída do tanque de expansão.

Tabela 5. Frequência da variável qualitativa relacionada ao procedimento de manejo de ordenha e quantidade de filme orgânico (média geométrica de ATP) na saída do tanque de expansão nos produtores dos grupos de alta e baixa contagem de coliformes (CC).

Variáveis	CC		P
	Alta n	Baixa n	
Presença de bezerro ao pé da vaca durante a ordenha	11 (42,3 %)	5 (14,3 %)	0,019
Filme orgânico na saída do tanque de expansão (URL)	4159,3(log 3,6)	773,4 (log 2,9)	0,003

Não foram observadas associações entre as práticas de manejo avaliadas e a CLP.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação periódica do leite de tanque aliada à adoção de boas práticas de manejo são fundamentais para a produção de leite de boa qualidade. Além disso, para a produção de leite com boa qualidade é necessário que produtores e funcionários tenham conhecimento sobre os principais micro-organismos causadores de mastite as alterações que estes micro-organismos causam na CCS e composição do leite assim como diferentes formas de tratamento e prevenção da mastite causada por estes micro-organismos.

## AGRADECIMENTOS

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro. Aos técnicos do laboratório Qualileite FMVZ-USP que auxiliaram nas análises laboratoriais realizadas. Ao laticínio colaborador e aos produtores de leite que participaram deste projeto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKERS, R. M.; NICKERSON, S. Mastitis and its Impact on Structure and Function in the Ruminant Mammary Gland. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 16, n. 4, p. 275-289, 2011.

ÅKERSTEDT, M.; WREDLE, E.; LAM, V.; JOHANSSON, M. Protein degradation in bovine milk caused by *Streptococcus agalactiae*. **Journal of Dairy Research**, v. 79, n. 3, p. 297-303, 2012.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. Microbiological Count Methods. APHA, p. 153, 2004.

ARAÚJO, W. A. G.; CARVALHO, C. G. V.; MARCONDES, M. I.; SACRAMENTO, J. R.; PAULINO, P. V. R. Ocitocina exógena e a presença do bezerro sobre a produção e qualidade do leite

de vacas mestiças. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 6, p. 465-470, 2012.

BARBANO, D. M.; MA, Y.; SANTOS, M. V. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. **Journal of dairy science.**, v. 89 Suppl 1, n., p. E15-19, 2006.

BARBOSA, C. P.; BENEDETTI, E.; GUIMARÃES, E. C. Incidência de mastite em vacas submetidas a diferentes tipos de ordenha em fazendas leiteiras na região do Triângulo Mineiro. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 6, p. 121-128, 2009.

BARKEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y.; LAM, T. J. G. M.; BEIBOER, M. L.; WILMINK, H.; BENEDICTUS, G.; BRAND, A. Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Herds Grouped in Three Categories by Bulk Milk Somatic Cell Counts. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 411-419, 1998.

BAVA, L.; ZUCALI, M.; SANDRUCCI, A.; BRASCA, M.; VANONI, L.; ZANINI, L.; TAMBURINI, A. Effect of cleaning procedure and hygienic condition of milking equipment on bacterial count of bulk tank milk. **Journal of Dairy Research**, v. 78, n. 2, p. 211-219, 2011.

BERRY, D. P.; O'BRIEN, B.; O'CALLAGHAN, E. J.; SULLIVAN, K. O.; MEANEY, W. J. Temporal Trends in Bulk Tank Somatic Cell Count and Total Bacterial Count in Irish Dairy Herds During the Past Decade. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 4083-4093, 2006.

BOTARO, B. G.; GAMEIRO, A. H.; SANTOS, M. V. Quality based payment program and milk quality in dairy cooperatives of Southern Brazil: an econometric analysis. **Scientia Agricola**, v. 70, n., p. 21-26, 2013.

BRADLEY, A. J. Bovine Mastitis: An Evolving Disease. **The Veterinary Journal**, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 51**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União, p. 13, 20/09/2002.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 62**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite Cru Refrigerado, do Leite Pasteurizado e Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União, p. 1, 29/12/2011.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; VERNEQUE, R. S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 847-850, 2000.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; SOUZA, H. M. D.; VARGAS, O. L. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 18, n., p. 39-44, 1998.

CAVERO, D.; TÖLLE, K. H.; HENZE, C.; BUXADÉ, C.; KRIETER, J. Mastitis detection in dairy cows by application of neural networks. **Livestock Science**, v. 114, n. 2-3, p. 280-286, 2008.

CORTINHAS, C.S. Qualidade do leite cru e práticas de manejo em fazendas leiteiras. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013. (Dados não publicados).

- CRUPPE, L. H.; HOE, F.; FRANCO, F. Characteristics of mastitis agents in Brazilian dairy farms. In: NMC ANNUAL MEETING, 2008, New Orleans, LA:National Mastitis Council, p. 218-219.
- DAVIDSON, P. M.; ROTH, L. A.; GAMBREL-LENARZ, S. A. Coliform and Other Indicator Bacteria. In: Wehr, H. M. e Frank, J. F. (Ed.). **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. Washington DC: APHA, 2004. v.17, p.187.
- DUFOUR, S.; FRÉCHETTE, A.; BARKEMA, H. W.; MUSSELL, A.; SCHOLL, D. T. Invited review: Effect of udder health management practices on herd somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 2, p. 563-579, 2011.
- EDMONDSON, P. Practical use of bulk tank analysis for mastitis and milk quality problems. In: NMC ANNUAL MEETING, 2005, Verona, WI:National Mastitis Council, p. 94-100.
- ELMOSLEMANY, A. M.; KEEFE, G. P.; DOHOO, I. R.; JAYARAO, B. M. Risk factors for bacteriological quality of bulk tank milk in prince edward Island dairy herds. Part 1: Overall risk factors. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 6, p. 2634-2643, 2009a.
- ELMOSLEMANY, A. M.; KEEFE, G. P.; DOHOO, I. R.; JAYARAO, B. M. Risk factors for bacteriological quality of bulk tank milk in Prince Edward Island dairy herds. Part 2: Bacteria count-specific risk factors. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 6, p. 2644-2652, 2009b.
- ELMOSLEMANY, A. M.; KEEFE, G. P.; DOHOO, I. R.; WICHTEL, J. J.; STRYHN, H.; DINGWELL, R. T. The association between bulk tank milk analysis for raw milk quality and on-farm management practices. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 95, n. 1-2, p. 32-40, 2010.
- FORSBÄCK, L.; LINDMARK-MÅNSSON, H.; ANDRÉN, A.; ÅKERSTEDT, M.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Udder quarter milk composition at different levels of somatic cell count in cow composite milk. **Animal**, v. 3, n. 05, p. 710-717, 2009.
- FORSBÄCK, L.; LINDMARK-MÅNSSON, H.; ANDRÉN, A.; ÅKERSTEDT, M.; ANDRÉE, L.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Day-to-day variation in milk yield and milk composition at the udder-quarter level. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3569-3577, 2010.
- FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; STAMFORD, T. L. M.; RABELO, S. S. A.; DA SILVA, D. R.; SILVEIRA FILHO, V. M.; SANTOS, F. G. B.; DE SENA, M. J.; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 72, n. 2, p. 171-177, 2005.
- GROENENDAAL, H.; GALLIGAN, D. T.; MULDER, H. A. An Economic Spreadsheet Model to Determine Optimal Breeding and Replacement Decisions for Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 7, p. 2146-2157, 2004.
- GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. D. S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n., p. 216-222, 2005.
- HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2103-2112, 1994.
- JANSEN, J.; VAN DEN BORNE, B. H. P.; RENES, R. J.; VAN SCHAIK, G.; LAM, T. J. G. M.; LEEUWIS, C. Explaining mastitis incidence in Dutch dairy farming: The influence of farmers' attitudes and behaviour. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 92, n. 3, p. 210-223, 2009.

JANSEN, J.; VAN SCHAİK, G.; RENES, R. J.; LAM, T. The effect of a national mastitis control program on the attitudes, knowledge, and behavior of farmers in the Netherlands. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 12, p. 5737-5747, 2010.

JAYARAO, B. M.; WOLFGANG, D. R. Bulk-tank milk analysis - A useful tool for improving milk quality and herd udder health. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 19, n. 1, p. 75-92, 2003.

JAYARAO, B. M.; PILLAI, S. R.; SAWANT, A. A.; WOLFGANG, D. R.; HEGDE, N. V. Guidelines for Monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial Counts. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3561-3573, 2004.

JONES, G. M.; SUMNER, S. **Testing bulk tank milk samples**. Virginia: Virginia Cooperative Extension, Virginia Tech, 1999, Publication 404-405.

KEEFE, G. P. Streptococcus agalactiae mastitis: A review. **Canadian Veterinary Journal**, v. 38, n., p. 429-437, 1997.

KELLY, P. T.; O'SULLIVAN, K.; BERRY, D. P.; MORE, S. J.; MEANEY, W. J.; O'CALLAGHAN, E. J.; O'BRIEN, B. Farm management factors associated with bulk tank total bacterial count in Irish dairy herds during 2006/07. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, n. 1, p. 36-42, 2009.

LANGONI, H.; LAURINO, F.; FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; SILVA, A. V.; MENOZZI, B. D. Cultivo microbiológico e a sensibilidade no isolamento de patógenos nas mastites bovinas. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 4, p. 708-715, 2009.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MARTH, E. H.; STEELE, J. L. **Applied dairy microbiology**. New York: Marcel Dekker, 2001, v.2. 744 p.

MCLEOD, M. Report into the current knowledge and awareness of mastitis in New Zealand by dairy farmers. In: SOCIETY OF DAIRY CATTLE VETERINARIANS OF THE NZVA, 2008 ANNUAL CONFERENCE, p. 171-175.

MEIN, G.; REINEMANN, D.; SCHURING, N.; OHNSTAD, I. Milking machines and mastitis risk: a storm in a teatcup. In: NMC ANNUAL MEETING, 2004, Charlotte, NC:National Mastitis Council, p. 176-188.

NERO, L. A.; VOIÇOSA, G. N.; PEREIRA, F. E. V. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 5, 2009.

OINARA, R. P.; GABRIEL MURAD, V. F.; EDSON, T. Percepção de qualidade no processo produtivo do leite: um estudo de caso no Rio Grande do Sul. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 11, n. 3, p. 436-451, 2009.

OLIVAL, A. A.; SPEXOTO, A. A.; MANO, G. B.; SANTOS, M. V. Avaliação das limitações para melhoria da qualidade do leite na região de Pirassununga-SP. **Revista Ciência em Extensão**, v. 1, n. 2, p. 171-183, 2004.

OLIVEIRA, C. J. B.; LOPES JÚNIOR, W. D.; QUEIROGA, R. C. R. E.; GIVISIEZ, P. E. N.; AZEVEDO, P. S.; PEREIRA, W. E.; GEBREYES, W. A. Risk factors associated with selected



- indicators of milk quality in semiarid northeastern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 6, p. 3166-3175, 2011.
- PANTOJA, J. C. F.; REINEMANN, D.; RUEGG, P. L. Associations among milk quality indicators in raw bulk milk. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 4978-4987, 2009.
- PERKO, B. Effect of prolonged storage on microbiological quality of raw milk. **Mljekarstvo**, v. 61, n. 2, p. 114-124, 2011.
- RYSANEK, D.; BABAK, V.; ZOUHAROVA, M. Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. **Veterinarni Medicina**, v. 52, n. 6, p. 223-230, 2007.
- RYSANEK, D.; ZOUHAROVA, M.; BABAK, V. Monitoring major mastitis pathogens at the population level based on examination of bulk tank milk samples. **Journal of Dairy Research**, v. 76, n. 1, p. 117-123, 2009a.
- RYSANEK, D.; ZOUHAROVA, M.; BABAK, V. Major Mammary Pathogens as Contributors to Total Bacterial Counts in Raw Milk. **Acta Veterinaria Brno**, v. 78, n. 3, p. 455-461, 2009b.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007. 314 p.
- SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observation leading to development of California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Association**, v. 130, n., p. 199-204, 1957.
- SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C.; BRITO, M. A. V. P.; BASTOS, R. R. Risk factors associated with high bulk milk somatic cell count in dairy herds from Zona da Mata of Minas Gerais, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n., p. 251-260, 2005.
- VILAR, M. J.; RODRÍGUEZ-OTERO, J. L.; DIÉGUEZ, F. J.; SANJUÁN, M. L.; YUS, E. Application of ATP bioluminescence for evaluation of surface cleanliness of milking equipment. **International Journal of Food Microbiology**, v. 125, n. 3, p. 357-361, 2008.
- WESEN, D. P.; SCHULTZ, L. H. Effectiveness of a Post-milking Teat Dip in Preventing New Udder Infections. **Journal of Dairy Science**, v. 53, n. 10, p. 1391-1403, 1970.
- WU, H.; WU, Q.; ZHANG, L.; LI, C.; HUANG, Z. Study on rapid quantitative detection of total bacterial counts by the ATP-bioluminescence and application in probiotic products. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 5, p. 921-929, 2011.
- YAGOUB, S. O.; BELLOW, F. A.; EL ZUBEIR, I. E. M. Effect of temperature and storage period on the constituents of milk inoculated with *Pseudomonas aeruginosa*. **Research Journal of Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 30-34, 2008.
- 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, n. 12, p. 2644-2650, 2004.