

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CAMPUS DOIS VIZINHOS  
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

Alana Dreves

**TESTE DE DESAFIO NATURAL FRENTE A ANTISSÉPTICOS COMERCIAIS À  
BASE DE ÁCIDO LÁTICO E IODO NO MANEJO DE PRÉ E PÓS-ORDENHA EM  
VACAS LEITEIRAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS  
2017

ALANA DREVES

**TESTE DE DESAFIO NATURAL FRENTE A ANTISSÉPTICOS COMERCIAIS À  
BASE DE ÁCIDO LÁTICO E IODO NO MANEJO DE PRÉ E PÓS-ORDENHA EM  
VACAS LEITEIRAS**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Zootecnista.

Orientadora: Profa. Dra. Marcela Tostes Frata

DOIS VIZINHOS

2017



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Dois Vizinhos  
Gerência de Ensino e Pesquisa  
**Curso de Zootecnia**



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**TCC**

### **TESTE DE DESAFIO NATURAL FRENTE A ANTISSÉPTICOS COMERCIAIS À BASE DE ÁCIDO LÁTICO E IODO NO MANEJO DE PRÉ E PÓS-ORDENHA EM VACAS LEITEIRAS**

Autor: Alana Dreves

Orientador: Profa. Dra. Marcela Tostes Frata

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADA em 21 de novembro de 2017.

---

Prof. Dr. Fernando Reimann Skonieski

---

Zootecnista Rafael Hasse

---

Profa. Dra. Marcela Tostes Frata

## RESUMO

DREVES, Alana. **Teste de desafio natural frente a antissépticos comerciais à base de ácido láctico e iodo no manejo de pré e pós-ordenha em vacas leiteiras**. 2017. Trabalho de conclusão de curso. Programa de graduação em Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.

A utilização do manejo de pré e pós-ordenha é empregado visando a saúde dos tetos e glândulas mamárias e a qualidade físico-química do leite de vaca. Esse manejo tem como intuito desinfetar a pele dos tetos desses animais, antes e após o processo de ordenha. É uma prevenção muito importante devido às condições ambientais em que o animal se encontra, as quais são favoráveis à contaminação por microrganismos causadores de infecções intramamárias. O ácido láctico tem poder de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos, por esse motivo foi testado como antisséptico. Para tanto, foi adotado o teste de desafio natural, onde o produto foi imerso nos tetos de quatro vacas e o sanitizante à base de iodo aplicado em quatro vacas usadas como comparativo. Portanto, foram utilizadas oito vacas lactantes da raça Jersey, com aplicação dos produtos antes e após a ordenha, duas vezes ao dia durante três semanas. Foi realizada uma coleta de *swab* antes da ordenha e outra após a aplicação de antisséptico na pré-ordenha, e após a realização da ordenha, sendo uma pela manhã e uma à tarde, uma a cada semana e efetuadas contagens de bactérias mesófilas totais. Foi realizado o exame *California Mastitis Test* (CMT) de cada animal, além da acidez titulável das amostras de leite. A higiene dos animais foi observada por meio de notas (escores) atribuídas ao grau de sujidades. Os dados foram analisados por frequência de respostas. Confirmou-se a eficácia dos dois produtos testados, onde apresentaram redução de microrganismos presentes nos tetos das vacas em lactação tanto para o *pré*-ordenha quanto para pós-ordenha.

**Palavras chave:** contaminação, infecções intramamárias, mastite, microrganismos, ordenha.

## ABSTRACT

DREVES, Alana. **Test of natural challenge against a commercial antiseptic based on lactic acid and iodine in the management of pre and post milking in dairy cows.** 2017. Trabalho de conclusão de curso. Programa de graduação em Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.

The use of pre and post-milking management is used for the health of the udders and mammary glands and the physical-chemical quality of milk from dairy cows. This management had the intention of disinfecting the skin of the udders of these animals, before and after the milking process. It is a very important prevention due to the environmental conditions in which the animal is, which are favorable to the contamination by microorganisms that cause intramammary infections. Lactic acid has the potential to inhibit the growth of pathogenic microorganisms and has therefore been tested as an antiseptic. For this, the test of natural challenge was adopted, where the product was immersed in the udders of four cows and the iodine based sanitizer applied to four cows used as comparative. Therefore, eight lactating Jersey cows were used, with application of the products before and after milking, twice a day for three weeks. A swab collection was performed prior to milking and another after pre-milking and after milking, one in the morning and one in the afternoon, one each week, and counts of total mesophilic bacteria. The California Mastitis Test (CMT) of each animal, and the titratable acidity of the milk samples were performed. The hygiene of the animals was observed through notes (scores) attributed to the degree of dirty. Data were analyzed by frequency of responses. The effectiveness of the two tested products was confirmed, where they obtained reduction of microorganisms present in the udders of lactating cows for both pre-dipping and post-dipping.

**Keywords:** Contamination, intramammary infections, mastitis, microorganisms, milking

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Sistema de avaliação de escores de sujidades em vacas leiteiras (página 13)

Quadro 1– Cronograma de atividades ligadas ao TCC 1 do ano de 2017 (página 33)

Quadro 2– Orçamento dos materiais utilizados para o experimento (página 34)

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tempo de lactação de cada animal utilizado no experimento (página 11)

Tabela 2 - Dados pluviométricos referente a um dia anterior às coletas e aos dias de coleta de dados (página 12)

Tabela 3 - Análise de sujidades do dia 26/05/2017 nos períodos matutino e vespertino (página 15)

Tabela 4 - Análise de sujidades do dia 02/06/2017 nos períodos matutino e vespertino (página 17)

Tabela 5 - Análise de sujidades do dia 09/06/2017 nos períodos matutino e vespertino (página 18)

Tabela 6 - Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da manhã de 26/05/2017 (página 19)

Tabela 7 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da tarde de 26/05/2017 (página 21)

Tabela 8 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da manhã de 02/06/2017 (página 22)

Tabela 9 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da tarde de 02/06/2017 (página 23)

Tabela 10 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da manhã de 09/06/2017 (página 25)

Tabela 11 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da tarde de 09/06/2017 (página 26)

Tabela 12 – Resultados de (*California Mastitis Test*) – CMT (página 28)

Tabela 13 - Acidez titulável de leite cru (página 30)

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	OBJETIVOS.....	3
2.1.	<b>Objetivo geral</b> .....	3
2.2.	<b>Objetivos específicos</b> .....	3
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1.	<b>Produção e qualidade do leite</b> .....	4
3.2.	<b>Mastite</b> .....	4
3.3.	<b>Bactérias patogênicas</b> .....	4
3.4.	<b>Bactérias de contaminação ambiental</b> .....	5
3.4.1	Coliformes.....	5
3.4.2	<i>Streptococci</i> ambientais.....	6
3.5.	<b>Bactérias contagiosas</b> .....	6
3.5.1	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	6
3.5.2	<i>Streptococcus agalactiae</i> .....	7
3.5.3	<i>Mycoplasma bovis</i> .....	7
3.5.4	<i>Corynebacterium bovis</i> .....	8
3.6.	<b>Desinfetantes</b> .....	8
3.6.1	Ácido láctico.....	8
3.6.2	Iodo.....	9
3.7.	<b>Pré-ordenha</b> .....	9
3.8.	<b>Pós-ordenha</b> .....	9
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	11
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
6.	CONCLUSÃO.....	32
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

## 1. INTRODUÇÃO

A antissepsia dos tetos é importante para o manejo antes e após a ordenha, associados à higiene do local e dos animais para a qualidade microbiológica do leite. A mastite é uma doença inflamatória que atinge a glândula mamária das vacas, causada por microrganismos patogênicos que entram em contato com a mesma, diminuindo a qualidade e a produtividade, determinando perdas elevadas por descarte do leite, gastos com medicamentos, perda funcional da glândula e até por morte do animal (FONSECA; SANTOS, 2000).

A mastite é uma patologia que representa grande perda econômica para a bovinocultura de leite. A maneira mais eficaz de controle é a prevenção por meio de assepsia e testes periódicos como o teste de caneca de fundo preto e o CMT (*California Mastitis Test*) (MASSEI et al., 2008).

Sendo assim, a antissepsia dos tetos (imersão em solução desinfetante) antes (*pré-dipping*) e após as ordenhas (*pós-dipping*) é uma alternativa de fácil execução e de baixo custo que desempenha importante papel nos programas de controle da mastite bovina (ABRÃO, 2005).

O ácido láctico é um composto muito utilizado como antisséptico, pelo seu poder de inibição do crescimento de microrganismos patogênicos, assim como o iodo, que tem ação antimicrobiana e é um dos mais antigos e eficientes antissépticos que se conhece (BLOCK, 1991; KNOOW, 2017).

O elevado impacto econômico evidencia a necessidade de monitoramento da doença, para diminuir os prejuízos causados pela mesma. As despesas com tratamento preventivo representaram grande impacto econômico na atividade leiteira, o que demonstra vantagem em investir nessa prática, pois ela irá contribuir significativamente para o impacto econômico da mastite (DEMEU et al., 2011).

A Instrução Normativa nº 62 (IN-62), de 29 de dezembro de 2011, do Ministério de Agricultura e Abastecimento (MAPA) prevê exigências na qualidade do leite para que possa ser comercializado. Em 1º de julho de 2016, deveriam entrar em vigor os novos limites para Contagem de Células Somáticas (CCS), que ficariam em  $4,0 \times 10^5$  CS/mL e Contagem Bacteriana Total (CBT)  $1,0 \times 10^5$  UFC/mL do leite. No entanto, em 03 de maio de 2016, o MAPA publicou a IN-7, que estendeu os prazos estipulados por mais dois anos. Com isso, as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste deverão se adequar às normas até 30/06/2018, e as regiões Norte e Nordeste até 30/06/2019. A nova IN modificou os limites básicos da CCS para  $5,0 \times 10^5$  CS/ mL e a CBT para  $3,0 \times 10^5$  UFC/mL (MAPA, 2016).

A alta contagem de células somáticas no leite não consiste fator de risco para a saúde do consumidor, uma vez que os patógenos, geralmente, são destruídos no processo de pasteurização. Porém, as enzimas microbianas não são destruídas nesse processo e permanecem nos produtos lácteos, diminuindo o seu tempo de prateleira e conferindo sabor desagradável devido à lipólise e proteólise (MAGALHÃES et al., 2006).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de antissépticos comerciais à base de ácido láctico e iodo na prevenção de mastite.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Analisar a eficácia de antissépticos comerciais à base de ácido láctico e iodo, no manejo de pré e pós-ordenha em vacas da raça Jersey, com o intuito de prevenir a mastite, reduzindo a contagem bacteriana total e mantendo a qualidade do leite.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Monitorar e qualificar a higiene dos animais antes da ordenha;
- Aplicar os antissépticos à base de ácido láctico e de iodo antes e após as duas ordenhas diárias, durante três semanas;
- Realizar contagem de bactérias totais dos tetos antes, após a aplicação do produto pré-ordenha e após a ordenha;
- Efetuar a análise de acidez do leite de cada animal;
- Aplicar o *California Mastitis Test* (CMT) em cada animal;
- Verificar se houve redução na contagem bacteriana com o tratamento pré e pós-ordenha na prevenção da ocorrência de mastite.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. Produção e qualidade do leite**

A atividade leiteira no Brasil é de suma importância se tratando da economia mundial, ocupando o quarto lugar de maior produtor de leite no mundo (ZOCCAL, 2016). O Brasil produziu segundo IBGE (2017), cerca de 35 bilhões de litros de leite em 2016.

A qualidade do leite além de ser exigida pelo consumidor interno deve atender as exigências do mercado internacional. Por isso a Instrução Normativa (IN-7), exigida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estipula o número de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), sendo essencial para a produção de leite de boa qualidade no país (MAPA, 2016). Segundo Mendonça (2011), devido a todas as exigências do mercado leiteiro, a preocupação com a capacitação dos produtores nessa área é de suma importância, pois trás reflexos sobre a produtividade e qualidade do leite.

#### **3.2. Mastite**

A mastite acomete comumente os tetos de vacas leiteiras, decorrente da inflamação na glândula mamária, devido à contaminação por microrganismos patogênicos (FONSECA; SANTOS, 2000). Especificamente essa doença se distingue em dois grupos: mastite clínica e mastite subclínica (ANNEMULLER; LAMMELER; ZSCHOCKS, 1999).

A mastite clínica é totalmente perceptível fisicamente no animal, apresentando sintomas como vermelhidão, inchaço e aumento da temperatura das glândulas mamárias, além da presença de grumos, pus ou qualquer substância que descaracterize o leite em si (REBHUN; GUARD; RICHARDS, 1995). Já a mastite subclínica, é um parâmetro mais preocupante da doença, pois a mesma é imperceptível com análise visual, devendo-se realizar o diagnóstico da mesma, com testes específicos que mostrem alterações na contagem de células somáticas (CCS), aumento dos teores de cloro, sódio, proteínas séricas e também a diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura do leite (FONSECA; SANTOS, 2000).

#### **3.3 Bactérias patogênicas**

Os agentes causadores da mastite, também são classificados em dois grupos, os ambientais e os contagiosos (WATTS, 1988).

De acordo com Santos (2001), na mastite ambiental o animal é infectado por microrganismos presentes no próprio ambiente em que ele convive com a transmissão até o interior da

glândula mamária. Representa a maioria dos casos clínicos agudos de mastite com rápida evolução. Ocorrendo principalmente no pós-parto e em épocas chuvosas.

Já no contagioso, o agente patogênico se instala no interior da glândula mamária e sob a parte superficial da pele dos tetos de forma adaptada ao hospedeiro. A principal forma de contaminação se dá no momento em que “vetores”, como utensílios utilizados no manejo da ordenha e fômites, que entraram em contato com o úbere contaminado, entram na sequência em contato com os úberes sadios (COSTA et al., 2000). Devido à sua individualidade, é comum ser responsável por causar infecções subclínicas, que podem gerar mastites crônicas (BRESSAN, 2000).

Segundo Fonseca e Santos (2006), dentre as bactérias com classificação ambiental, estão os Coliformes, que são grupos de bactéria gram-negativas destacando-se *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* e *Enterobacter sp.* Também se tem o grupo de bactérias formado por *Streptococci* ambientais, que são o *Streptococcus uberis* e o *Streptococcus dysgalactiae*.

As bactérias consideradas contagiosas são classificadas em duas categorias, as principais e as secundárias (HARMON, 1994). Como principais estão o *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, e *Mycoplasma bovis*, seguidos pela secundária *Corynebacterium bovis* (FONSECA; SANTOS, 2006).

### **3.4 Bactérias de contaminação ambiental**

#### **3.4.1 Coliformes totais**

Os grupo dos Coliformes totais são pertencem à família *Enterobacteriaceae*, incluindo 44 gêneros e 176 espécies. São bacilos Gram-negativos, que fermentam a lactose com produção de gás a 35°C em 24 – 48 horas. Mais de 20 espécies se encaixam nessa definição, encontrando-se bactérias entéricas como a *Escherichia coli* e não entéricas, como *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, entre outras (SILVA, 2017)

Os coliformes termotolerantes, são um subgrupo dos coliformes totais, portanto, são bactérias que apresentam as características do grupo dos coliformes, porém à temperatura de incubação de 45,5°C. Incluem a *E. coli* e também bactérias de origem não fecal, tais como diversas cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii* (SILVA, 2017).

Atualmente tem-se grande preocupação quanto à qualidade do leite, devido às empresas visarem o pagamento do produtor referente a isso. Os coliformes mesmo não sendo patogênicos tendem a fixar-se no trato digestivo, apresentando correlação positiva com o aparecimento de organismos patogênicos (APHA, 2001, DIEZ-GONZALEZ et al., 1998; VAN KESSEL et al., 2002; LAVEN et al., 2003).

#### 3.4.2 *Streptococci* ambientais

Como o nome pressupõe, são grupos de bactérias Gram-positivas que causam contaminação ambiental possuindo o *Streptococcus uberis* e *Streptococcus dysgalactiae*, que causam cerca de 60% das ocorrências de mastite clínica (COLDEBELLA, 2003).

O *Streptococcus uberis* e *Streptococcus dysgalactiae* apresentam características de patógeno contagioso e ambiental (HARMON, 1994), devido às suas formas de transmissão tanto no momento da ordenha, quanto pelo próprio ambiente (PHILPOT, 2002).

### 3.5 Bactérias contagiosas

#### 3.5.1 *Staphylococcus aureus*

Segundo Zschock et al., (2000), o *Staphylococcus aureus* é um dos patógenos que possui maior frequência em casos de mastite em bovinos.

Comumente responsável por doenças purulentas em humanos e em animais (BEAN & GRIFFIN, 1990), causa intoxicação alimentar (PENNA et al., 1998), por produzir enterotoxinas (OMOE et al., 2002). Desse modo, o *Staphylococcus aureus* se aloja em leite e seus derivados levando à intoxicação alimentar tanto de animais como de humanos (BERGDOLL, 1989).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva, que se aloja no interior da glândula mamária e sob a pele, sendo mais susceptível no animal que possui lesões na região do teto. Quando a mesma se instala na região glandular, esse agente fixa-se sob as células epiteliais, liberando toxinas e gerando a infecção, que seguidamente necrosa o estroma e o parênquima mamário, resultando na perda efetiva da função e secreção do leite e, conseqüentemente, reduzindo a produtividade e a qualidade do leite, pelo aumento de CCS (FONSECA; SANTOS, 2000).

Além de ser uma bactéria que gera perdas econômicas na pecuária, é altamente resistente a vários antibióticos. Desse modo, se faz importante a análise laboratorial sob a

sensibilidade antimicrobiana, que dará um resultado eficaz no controle desse agente patogênico (BRITO et al., 2001).

### 3.5.2 *Streptococcus agalactiae*

O *Streptococcus agalactiae*, invade o sistema de ductos da glândula mamária, diminuindo significativamente a produção de leite. Em outras circunstâncias forma um tecido fibroso no lugar do secretor, o que pode acarretar a perda do quarto mamário. Essa bactéria pode levar a casos clínicos agudos e subclínicos crônicos, levando à morte do animal (ELVINGER e NATZKE, 1992).

Essa bactéria fica alojada na glândula mamária, no entanto na parte externa do úbere tem chances reduzidas de sobreviver. Portanto, o *Streptococcus agalactiae* tem sido erradicado de locais com animais leiteiros e também de alguns países (KEEFE et al., 1997).

É uma bactéria que pode contaminar os animais principalmente no momento da ordenha, por ser altamente contagiosa (BRAMLEY e DODD, 1984; BARTLETT et al., 1992).

Segundo Keefe, (1997) e Cruz et al., (2004), se essa bactéria for isolada dentro de um rebanho, será necessário realizar a blitz terapia, que é o tratamento de todo os animais que estão infectados com a bactéria, dessa forma, se eliminará por completo o agente causador.

### 3.5.3 *Mycoplasma bovis*

Segundo Mettifogo et al., (1996) o primeiro registro de mastite causada por *Mycoplasma bovis* no Brasil, ocorreu na região de Londrina, Estado do Paraná. É considerado o patógeno de maior importância (QUINN et al., 2005), ou seja, de maior patogenicidade e contagiosidade nos rebanhos (BUSHNELL, 1984). A contaminação por essa bactéria pode ocorrer por utensílios utilizados na ordenha, assim como fômites e os próprios animais entre si (QUINN et al., 2005).

Quando se tem grande rotatividade de novos animais introduzidos no rebanho, a chance de contaminação do mesmo por *Mycoplasma bovis* aumenta (THOMAS, WILLEBERG, & JASPER, 1981; FOX, HANCOCK, MICKELSON & BRITTEN, 2003), pois alguns animais podem ser portadores assintomáticos (FOX, KIRK & BRITTEN, 2005).

Alguns dos sinais clínicos que a mastite por *Mycoplasma bovis* pode ocasionar, não são esperados, podendo apresentar claudicação, edema nos membros anteriores e poliartrites (WILSON et al., 2007).

### 3.5.4 *Corynebacterium bovis*

É uma bactéria Gram-positiva, que não apresenta sintomas aparentes de mastite clínica. Ocorrendo principalmente em animais que são lactantes (GONÇALVES, 2012).

Segundo Watts et al., (2000) essa bactéria se aloja no canal do teto com maior frequência nos rebanhos que não utilizam da prática de antissepsia pós-ordenha.

O *Corynebacterium bovis* é uma bactéria que não apresenta perdas significativas na produtividade de leite, mas que apresenta resultados relevantes se tratando da qualidade do leite, pois demonstra aumentar a CCS (VICTÓRIA et al., 2005).

Esta bactéria demonstra diferentes visões como agente causador da mastite. Para Levan et al., (1985) e Pocięcha, (1989) não consideram como sendo uma bactéria importante nos casos de mastite. Já para Costa et al., (1985) e Hogeveen, (1998) consideram relevantes o aumento de células somáticas além de responsável pela mastite clínica.

## 3.6 Desinfetantes

### 3.6.1 Ácido láctico

É considerado ácido orgânico, cuja formulação química se dá por três carbonos, com seis pontes de hidrogênio e três oxigênios ( $C_3H_6O_3$ ). Não possui cor, seu gosto é levemente salino e é solúvel em água. Foi descoberto pelo químico sueco Carl Wilhelm Scheele no século XVIII (KNOOW, 2017).

O ácido láctico possui pKa de 3,83 e também pode ser produzido por fermentação microbiana. É considerado um dos mais antigos conservantes utilizados, por fazer parte da constituição natural de diversos alimentos. Também possui baixa toxicidade não havendo limite adotado para o consumo diário desse componente e de seus sais (NASCIF JÚNIOR, 2005).

Esse composto é muito utilizado como antisséptico, pelo seu poder de inibição do crescimento de microrganismos patogênicos (KNOOW, 2017).

O desempenho antimicrobiano do ácido láctico é voltado para a inibição de bactérias, abrangendo as formadoras de esporos, no qual o ácido láctico age na membrana celular desses microrganismos (BLOCK, 1991).

NASCIF JÚNIOR (2005) comprovou a eficiência da ação do ácido láctico como antisséptico dos tetos das vacas após as ordenhas, mostrando resultados positivos se tratando de redução de casos de infecção intramamárias das mesmas, onde o ácido láctico reduziu em 50,7% as bactérias patogênicas.

### 3.6.2 Iodo

Aproximadamente 45 a 70% dos países do mundo aplicam produtos antissépticos à base de iodo, no Brasil ocupa-se o segundo lugar do mercado de antissépticos para tetos (HEMLING, 2002).

O iodo tem ação antimicrobiana e é um dos mais antigos e eficientes que se conhece (BLOCK, 1991), sendo este solúvel em álcool, porém não muito solúvel em água (HUBER, 1992). Os compostos à base de iodo possuem pouca reatividade com proteínas e quase nenhuma dependência do pH para agir, de tal forma que este possui excelente opção para uso como desinfetante e antisséptico. São avaliados como pouco tóxicos se utilizados dentro das recomendações indicadas, porém podem causar irritações na pele quando o uso não for apropriado. Apresentam grande espectro de ação sobre fungos, vírus, formas vegetativas e alguns endósporos de bactérias, na dependência da concentração utilizada. Sua ação é baseada, basicamente, na oxidação dos grupos S-H dos aminoácidos e interferindo na função das proteínas (PANKEY et al., 1984; BLOCK, 1991).

### 3.7 Pré-ordenha

O tratamento antisséptico antes da ordenha (*pré-dipping*) é considerado efetivo nos casos de mastite ambiental. Porém, também apresenta resultado no controle da mastite contagiosa (FONSECA & SANTOS, 2000). Dentre as maneiras de intensificar o efeito da antisepsia antes da ordenha, deve-se realizar a higienização dos tetos com água clorada. Após esse processo, então é realizada a aplicação do antisséptico, que entra em contato com a pele por aproximadamente trinta segundos (PANKEY et al., 1987).

Isso representa eficácia na redução de até 50% em possíveis infecções ambientais. Nesse processo é importante fazer a imersão total dos tetos com a solução antisséptica. Sendo importante salientar que para cada animal se usa papel toalha descartável, para a retirada do antisséptico, por ser mais uma precaução na transmissão de bactérias de um animal para o outro (CHAPAVAL & PIEKARSKI, 2000). Essa associação de técnicas aperfeiçoa a limpeza dos tetos na ordenha, tornando-a mais veloz e eficaz. Além disso, outros benefícios podem ser visíveis, como a intensificação da secreção do leite. Isso, devido aos impulsos de estimulação que aumentam os níveis de ocitocina (MULLER, 2002).

### 3.8 Pós-ordenha

Um dos métodos mais necessários para prevenção de infecções contagiosas das glândulas mamárias é a antisepsia ao terminar a ordenha (*pós-dipping*). Esse método condiz

com a imersão completa dos tetos sob a solução antisséptica, ao qual no mínimo dois terços dos tetos devem ser imersos completamente (FONSECA & SANTOS, 2000).

Segundo Fonseca & Santos (2000) os principais compostos que apresentam os melhores efeitos positivos são: iodo, 0,7% a 1,0%; clorexidina, 0,5% a 1,0% e cloro, 0,3% a 0,5%. A melhor forma de aplicação é por caneca, principalmente a de modelo sem retorno (*one way*), onde ocorre a imersão dos tetos na solução e a mesma não retorna para o frasco. Também pode se utilizar spray como forma de aplicação, porém é importante verificar a cobertura completa do produto nos tetos.

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido entre os dias 26/05/2016 e 09/06/2017, na Unidade de Ensino Pesquisa (UNEPE) de bovinocultura de leite e no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, situada no sudoeste do Paraná, no município de Dois Vizinhos.

A realização do experimento *in vivo* ocorreu devido ao teste de eficácia dos dois produtos comerciais, sendo um à base de ácido láctico e outro de iodo.

Segundo as informações do fabricante, o produto utilizado como antisséptico antes da ordenha com o princípio ativo ácido láctico, contém tensoativos que ajudam na remoção das sujidades e emolientes, além de possuir propriedades cosméticas. Já o produto antisséptico a base de ácido láctico utilizado após a ordenha, possui alta ação bacteriostática durante horas, além de contribuir para a hidratação da pele dos tetos.

Contudo, o Iodo que foi o produto utilizado tanto para a antissepsia antes e após a ordenha, contém ação antimicrobiana, não danificando a pele dos tetos dos animais, podendo ser utilizado para desinfecção de superfícies em geral.

A aplicação dos produtos ocorreu durante três semanas, nos períodos da manhã e tarde. Foram aplicados os produtos antes da ordenha e após a ordenha, sendo quatro animais tratados com o produto à base de ácido láctico e quatro à base de iodo.

A realização das ordenhas ocorreu no horário das 07h30min da manhã e à tarde às 16h00min, com duração de 30 minutos, sendo completamente mecanizada.

Os oito animais foram agrupados conforme o estágio de lactação semelhante, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Tempo de lactação de cada animal utilizado no experimento

Animal	Tratamento	Dias de Lactação
144	Ácido Láctico	100
400	Ácido Láctico	100
109	Ácido Láctico	100/300
133	Ácido Láctico	100/300
141	Iodo	100

<b>191</b>	Iodo	100
<b>176</b>	Iodo	100/300
<b>401</b>	Iodo	100/300

FONTE: DREVES, 2017.

O grupo tratado com o ácido láctico composto pelos animais identificados com números 144 e 400 apresentando até 100 dias de lactação e pelos números 109 e 133 apresentando de 100 a 300 dias de lactação. Já o grupo tratado com iodo foi formado pelos animais 141 e 191, apresentando até 100 dias de lactação e pelos números 176 e 401 apresentando de 100 a 300 dias de lactação.

Os dados foram coletados uma vez na semana, durante as sextas feiras, nos dias 26/05/2017, 02/06/ 2017 e 09/06/2017.

As condições climáticas e precipitações dos dias subsequentes às semanas e aos dias de coleta foram retiradas dos dados da estação meteorológica da UTFPR – DV, através do site do INMET (Tabela 2).

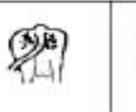
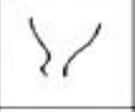
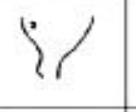
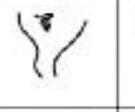
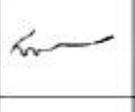
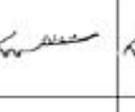
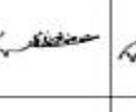
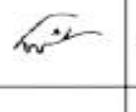
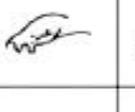
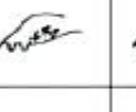
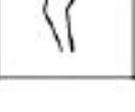
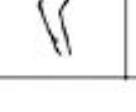
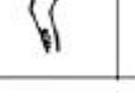
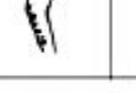
Tabela 2 – Dados pluviométricos referente a um dia anterior às coletas e aos dias de coleta de dados

<b>DADOS</b>	<b>25/05/2017</b>	<b>26/05/2017</b>	<b>01/06/2017</b>	<b>02/06/2017</b>	<b>08/06/2017</b>	<b>09/06/2017</b>
PRECIPITAÇÃO (mm)	0	0	2	0	2	0
TEMPERATURA MIN (°C)	18,4	20	10,9	11,5	21,5	6,2
TEMPERATURA MÁX (°C)	28,7	29,1	14,2	14,7	23,4	13,5
UMIDADE MIN (%)	61	65	80	79	76	54

FONTE: INMET

Primeiramente foram classificado a quantidade e intensidade de sujidades presentes nos animais por meio de notas (escores), para analisar se existe interferência na contagem de bactérias totais (Figura 1).

Figura 1 – Sistema de avaliação de escores de sujidades em vacas leiteiras

ÁREA DE OBSERVAÇÃO	ESCORE				
	1	2	3	4	5
 <p><b>Base da cauda: Raio imaginário da inserção da cauda até a base da vulva.</b></p>					
 <p><b>Área da base da vulva até o jarrete.</b></p>					
 <p><b>Parte ventral do abdome: região anterior ao úbere</b></p>					
 <p><b>Úbere: Toda a região do úbere e tetas</b></p>					
 <p><b>Toda a região abaixo do jarrete</b></p>					

FONTE: PRATES, 2008.

Os dados foram analisados por frequências de respostas.

A coleta individual de leite para amostragem foi realizada manualmente antes de iniciar a ordenha, eliminando os três primeiros jatos de leite, conservando em frascos de 80 mililitros contendo Bronopol, que é um bactericida e antimicrobiano, onde foram acondicionadas em caixa isotérmicas e encaminhadas para o laboratório de Microbiologia. A análise de acidez foi determinada por titulometria de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2008), e foi realizada no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Para as análises microbiológicas, foram realizadas três coletas de *swab* dos tetos dos animais, sendo uma com os tetos sem higienizar, onde se denominou de pré-ordenha, a segunda após a aplicação do pré-*dipping* denominada de após o pré-*dipping*, e a terceira após a realização da ordenha com a aplicação já do pós-*dipping*, denominada de pós-ordenha. Dessa forma, foram coletados três *swabs* de cada animal em cada período amostrado. A coleta consistia em umedecer o *swab* em solução peptonada tamponada 0,1% estéril e friccionar o *swab* ao redor da pele do teto, passando em todo o perímetro do teto e orifício, por uma altura de 2,5 cm utilizando metodologia de Cavalcante et al., (2013).

Após a finalização de cada coleta, as amostras de *swab* foram acondicionadas em caixa isotérmica e encaminhadas ao laboratório de Microbiologia e imediatamente efetuadas as análises seguindo as orientações para contagem segundo Silva et al., (2017).

Para a determinação de bactérias aeróbias mesófilas, os *swabs* foram mergulhados em 10 mL de solução salina peptonada tamponada 0,1% estéril e homogeneizados, gerando a diluição  $10^{-1}$ , a partir desta diluição, foram efetuadas as demais diluições, até a diluição  $10^{-3}$ . Em seguida, foram semeados 100 $\mu$ L de cada diluição em placas de Petri estéreis contendo ágar padrão para contagem (PCA) e espalhados com alça de Drigalski estéril. Em seguida, as placas foram invertidas e incubadas a  $36 \pm ^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após esse período, realizou-se a contagem das colônias por placa. Foram contadas as placas que apresentaram de 25 a 250 colônias.

Também realizou-se o exame de CMT (*California Mastitis Test*), que foi empregado para identificação de mastite subclínica nos animais. Utilizou-se a raquete para o teste, com quatro cavidades para que o leite fosse colocado individualmente de cada teto nas cavidades condizentes e seguidamente homogeneizado com o reagente do CMT. A leitura fez-se após aproximadamente dez segundos. De acordo com a quantidade de células somáticas do leite, formou-se um gel, de espessura variada, onde cada espessura determinou a intensidade da mesma. Se a quantidade de células somáticas é baixa, não forma gel, o resultado é negativo. De acordo com a espessura do gel, o resultado é dado em escores, segundo Embrapa (2017) que variaram de traços - (leve formação de gel) a + (fracamente positivo), ++ (reação positiva) e +++ (reação fortemente positiva).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Apesar dos dados coletados pelo INMET demonstrarem pouca precipitação nos dias das coletas e nos anteriores, verificou-se em alguns dias das semanas em que foram realizadas as amostragens apresentaram precipitação de até 11 mm, baixas temperaturas e umidades relativas altas, o que mantinha o local onde os animais ficavam sempre com presença de barro, o que justifica os resultados de sujidades apresentados.

Nas tabelas a seguir estão representados os escores de sujidades de cada categoria de avaliação, presentes nos animais, classificadas de 1 a 5, sendo a avaliação dividida em cinco localidades diferentes: base da cauda, área da base da vulva até o jarrete, região anterior ao úbere, toda a região de úbere e tetos, região abaixo do jarrete.

Tabela 3 - Análise de sujidades do dia 26/05/2017 nos períodos matutino e vespertino

MANHÃ								
Animais								
Área de observação	109	401	176	133	144	191	400	141
Base da cauda	2	2	1	2	2	2	1	2
Vulva até o jarrete	2	1	2	2	1	1	2	2
Região anterior ao úbere	1	1	2	2	1	1	2	1
Região do úbere e tetos	2	1	1	1	1	1	1	1
Região abaixo do jarrete	3	2	2	3	3	2	3	2
TARDE								
Animais								
Área de observação	109	401	176	133	144	191	400	141
Base da cauda	1	2	2	2	2	2	2	2
Vulva até o jarrete	2	2	2	2	2	0	1	2
Região anterior ao úbere	3	3	2	2	1	2	1	2
Região do úbere e tetos	3	2	2	2	2	2	1	2
Região abaixo do jarrete	2	3	1	3	2	3	2	2

FONTE: DREVES, 2017.

Durante a manhã, pôde-se verificar que na região de observação base da cauda, na área de base da vulva até o jarrete, na região anterior ao úbere e do úbere e tetos, a maior incidência foi de escores 2 em todos os animais, apresentando escores 3 apenas na região

abaixo do jarrete, que compreende as patas, nos animais 109, 133, 144 e 400, devido à permanência em decúbito lateral durante o período da noite (Tabela 3).

Observou-se que no período da tarde, a área da região abaixo do jarrete, categoria que pela manhã houve um maior o grau de sujidades presentes, obteve escore 3 apenas para os animais 401, 133 e 191, esse fato ocorreu pois havia presença maior de barro no corredor do piquete até a sala de espera em que os animais em questão passaram, enquanto que o restante dos animais apresentou escores de 1 a 2.

Apenas os animais 109 e 401 apresentaram escore 3 na região anterior ao úbere e na região do úbere e tetos. O restante das categorias avaliadas nos animais variou de 1 a 2. Essa alteração de escores de um período para o outro, é possivelmente explicado pela movimentação dos animais, que faz o deslocamento das sujidades para outras regiões.

Os escores de sujidades no geral mantiveram-se baixos, pois não houve precipitação nos dias próximos a coleta de dados assim como a umidade estava relativamente normal (Tabela 2).

Tabela 4 - Análise de sujidades do dia 02/06/2017 nos períodos matutino e vespertino

<b>MANHÃ</b>								
<b>Animais</b>								
<b>Área de Observação</b>	<b>109</b>	<b>401</b>	<b>176</b>	<b>133</b>	<b>144</b>	<b>191</b>	<b>400</b>	<b>141</b>
<b>Base da cauda</b>	4	2	2	3	2	2	2	2
<b>Base da vulva até o jarrete</b>	4	2	3	5	3	5	2	3
<b>Região anterior ao úbere</b>	4	3	4	4	3	3	3	3
<b>Toda região do úbere e tetos</b>	4	3	3	4	3	3	4	3
<b>Região abaixo do jarrete</b>	5	4	4	5	5	5	5	3
<b>TARDE</b>								
<b>Animais</b>								
<b>Área de Observação</b>	<b>109</b>	<b>401</b>	<b>176</b>	<b>133</b>	<b>144</b>	<b>191</b>	<b>400</b>	<b>141</b>
<b>Base da cauda</b>	3	4	3	3	3	2	3	2
<b>Base da vulva até o jarrete</b>	4	4	4	5	4	4	3	3
<b>Região anterior ao úbere</b>	3	4	4	4	3	4	3	3
<b>Toda região do úbere e tetos</b>	4	4	4	4	3	4	3	3
<b>Região abaixo do jarrete</b>	3	5	5	4	3	5	5	3

FONTE: DREVES, 2017.

Pôde-se observar que no período da manhã a base da cauda apresentou maior índice de sujidades no escore 2, onde o animal 109 apresentou escore 4 e o 133 escore 3. Enquanto que a área da base da vulva até o jarrete apresentou variação no escore de 2 a 5, indicativo de maior incidência de excrementos e barro (Tabela 4).

Na região anterior ao úbere os escores 3 e 4 apresentaram maiores índices de sujidades, assim como a área de observação de todo o úbere e tetos. Na região abaixo do jarrete verificou-se maior sujidade no escore 5, devido a precipitação ocorrida no dia anterior a coleta de dados, ao qual provocou aumento de barro no corredor de acesso a sala de ordenha.

No período da tarde, observou-se mudança na frequência dos escores. A base da cauda apresentou maior frequência no escore 4, já a área da base da vulva até o jarrete, região anterior ao úbere e do úbere e tetos houve uma equivalência entre o escore 3 e 4. Na região abaixo do jarrete o escore 5 prevaleceu nos animais 401, 176, 191 e 400, os motivos se dão pela mesma razão do período matutino, além de que durante o dia, os animais ficam em pastejo, o que pode aumentar o escore de sujidades da região abaixo do jarrete.

Tabela 5 - Análise de sujidades do dia 09/06/2017 nos períodos matutino e vespertino.

<b>MANHÃ</b>								
<b>Animais</b>								
<b>Área de Observação</b>	<b>109</b>	<b>401</b>	<b>176</b>	<b>133</b>	<b>144</b>	<b>191</b>	<b>400</b>	<b>141</b>
<b>Base da cauda</b>	3	3	4	5	3	4	2	4
<b>Base da vulva até o jarrete</b>	5	4	5	5	5	4	3	5
<b>Região anterior ao úbere</b>	5	5	5	5	5	4	4	5
<b>Toda região do úbere e tetos</b>	5	5	5	5	5	4	5	5
<b>Região abaixo do jarrete</b>	5	5	5	5	5	5	5	5
<b>TARDE</b>								
<b>Animais</b>								
<b>Área de Observação</b>	<b>109</b>	<b>401</b>	<b>176</b>	<b>133</b>	<b>144</b>	<b>191</b>	<b>400</b>	<b>141</b>
<b>Base da cauda</b>	2	1	1	1	3	1	1	1
<b>Base da vulva até o jarrete</b>	2	2	2	2	5	1	1	2
<b>Região anterior ao úbere</b>	2	2	2	2	5	1	1	3
<b>Toda região do úbere e tetos</b>	2	2	2	2	5	1	1	2
<b>Região abaixo do jarrete</b>	3	4	3	3	5	3	3	4

FONTE: DREVES, 2017.

Observou-se que no período da manhã, a base da cauda apresentou distribuição entre os escores 2, 3, 4 e 5, respectivamente. Desta forma, na área da base da vulva até o jarrete verificou-se maior concentração nos escores 3, 4 e 5, sendo maior no escore 5 (Tabela 5).

Na região anterior ao úbere o escore 5 apresentou maiores índices de sujidades. Já na área de observação de todo o úbere e tetos o escore 5 apresentou em todos os animais, igualmente na área abaixo do jarrete.

No período da tarde, verificou-se uma distribuição dos escores de sujidades. Na área da base da cauda o escore 1 predominou em seis dos oito animais. Nas regiões da base da vulva até o jarrete, na região anterior ao úbere e toda a região do úbere e tetos, os animais 109, 401, 176 e 133 apresentaram escore 2, já os animais 191 e 400 apresentaram escore 1. Porém, o animal 144 apresentou escore de sujidade 5 em todas as categorias observadas. Como podemos observar na Tabela 2, no dia anterior a coleta de dados, houve precipitação, aumentando a lama do local utilizado para o experimento.

Através do escore de sujidades proposto por Ruegg (2002) que vai de uma escala de 1 a 4, vacas com escore de 2 e 3, que equivalem escore de 3 a 4 proposto por Prates (2008) possuem 1,5 vezes mais chance de apresentarem crescimento dos principais patógenos causadores de mastite em culturas microbiológicas. Segundo experimento de Pereira et al., (2012) 66,2% dos animais, apresentaram escores de sujidade de úbere 2 e 3, propostos por Ruegg (2002), contudo pôde-se entender o nível de risco a que o rebanho esteve exposto.

Devido à alta presença de matéria orgânica, principalmente nos tetos, em decorrência da alta umidade do ambiente e ocorrência de barro, os animais apresentaram escores de maior grau, porém não houve influência na ação dos produtos pré e pós-*dipping*.

Tabela 6 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da manhã de 26/05/2017.

MANHÃ				
Animal	Tratamento	Pré-ordenha/ Após o Pré- <i>dipping</i>	Após o Pré- <i>dipping</i> / Pós-ordenha	
144	Ácido Lático	> 33,3 %	> 650 %	
400	Ácido Lático	< 7,69 %	< 99,17 %	
109	Ácido Lático	< 87,69 %	< 100 %	
133	Ácido Lático	< 31,57 %	< 99,62 %	
141	Iodo	> 4.900 %	< 89,6 %	
191	Iodo	> 455,5 %	< 99,62 %	
176	Iodo	< 20 %	< 78,13 %	
401	Iodo	< 99,47 %	> 150 %	

FONTE: DREVES, 2017

Comparando-se os produtos utilizados antes e após a ordenha pôde-se verificar a redução e/ou aumento de contagens bacterianas no período da manhã do dia 26/05/2017 (Tabela 6).

No animal 144, tratado com ácido láctico, verificou-se aumento de 33,3% na contagem bacteriana até a aplicação do primeiro antisséptico (pré-*dipping*). Já após o pré-*dipping* comparado com pós-ordenha, verificou-se aumento de 650% na contagem, porém a intensidade de sujidades desse animal variou de 1 a 2, oque não representa influência do escore frente ao número de bactérias.

Já nos demais animais tratados com o ácido láctico (400, 109 e 133) apresentaram redução bacteriana de quase 100% ao término da ordenha. O que demonstra a eficácia do produto.

Os animais 141, 191 e 176 (tratados com iodo) também apresentaram redução quase que completa das bactérias se aproximando de 90%, Contudo, o animal 401 após o pré-*dipping* reduziu em 99,47% as bactérias, mas após o término da ordenha aumentou em 150% a contagem das mesmas. Uma explicação para tal pode ser a contaminação ocorrida através da ordenha.

Já no trabalho de Brito et al., (2000), constataram a redução da contaminação bacteriana de aproximadamente 90%, com a utilização de iodo na antissepsia antes da ordenha, em conjunto com a lavagem com água seguida de secagem com papel toalha sob os tetos antes da realização da ordenha. Resultado semelhante aos relatados nos trabalhos realizados por Mckinnon et al., (1983), Galton et al., (1986) e Slaghuis (1996), também demonstraram que este processo de higienização adotado era adequado e eficiente em rebanhos comerciais.

Em trabalho conduzido por Mckinnon et al., (1983), a contagem de coliformes apresentou redução, não sendo observado um padrão uniforme de contaminação por esse grupo de microrganismos. Observou-se que apesar dos tetos encontrarem-se sujos ou não lavados o produto à base de iodo reduziu a contaminação.

Tabela 7 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da tarde de 26/05/2017

TARDE			
Animal	Tratamento	Pré-Ordenha/ Após o Pré- <i>dipping</i>	Após o Pré- <i>dipping</i> / Pós-Ordenha
144	Ácido Láctico	< 66,66%	> 400 %
400	Ácido Láctico	> 200 %	> 500 %
109	Ácido Láctico	< 100 %	< 100 %
133	Ácido Láctico	< 100 %	> 200 %
141	Iodo	< 66,66 %	< 100 %
191	Iodo	> 100 %	< 91,85 %
176	Iodo	> 242,86 %	> 91,66 %
401	Iodo	< 98,6 %	< 42,86 %

FONTE: DREVES, 2017.

No animal 144, com tratamento de ácido láctico, verificou-se redução de 66,66% da pré-ordenha até a aplicação do primeiro antisséptico (*pré-dipping*). Já após o *pré-dipping* comparado com pós-ordenha, verificou-se aumento de 400% na contagem, o que é um indicativo de que possivelmente o animal tenha contaminado os tetos durante a ordenha, pois o mesmo apresentava escore de sujidades 3 (Tabela 7).

Já o animal 400, exibiu aumento bacteriano de 200% após a aplicação do *pré-dipping*, assim como aumentou em 500% após o término da ordenha, podendo ter influência ambiental nesse fator. Assim como o animal 133 também demonstrou aumento bacteriano de 200% ao final da ordenha. Os animais 144, 400 e 133 podem ter sido influenciados com a aplicação do produto novo utilizado à base de ácido láctico. Porém, o animal 109 apresentou redução bacteriana de 100% ao término da ordenha, o que constata a eficácia do produto, quando não interferido por fatores ambientais, que possivelmente foi o caso desse indivíduo.

Entretanto, os animais 141, 191 e 176 (iodo) também apresentaram redução quase que completa das bactérias se aproximando de 100%. Contudo, o animal 401 após o *pré-dipping* reduziu em 98,6% as bactérias, e após o término da ordenha reduziu em 42,86% as mesmas, mostrando a eficácia do iodo frente às bactérias.

Baseado nos principais desinfetantes utilizados, Medeiros et al., (2009) verificaram que a maior atividade desinfetante *in vitro* foi do iodo frente ao *Staphylococcus aureus* e do iodo e ácido láctico para os *Staphylococcus* coagulase positiva. No trabalho, o perfil de sensibilidade dos *Staphylococcus* coagulase positivos, foi de 100 % com iodo a 0,57%, e de 72,7% com ácido láctico a 2%, onde os antissépticos levaram o tempo de 30 segundos de ação no teto.

Tabela 8– Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da manhã de 02/06/2017

MANHÃ			
Animal	Tratamento	Pré-Ordenha/ Após o Pré-dipping	Após o Pré-dipping/ Pós-Ordenha
144	Ácido Láctico	< 68 %	< 62,5 %
400	Ácido Láctico	> 100 %	< 100 %
109	Ácido Láctico	> 50 %	< 94,5 %
133	Ácido Láctico	> 1900 %	< 100 %
141	Iodo	< 100 %	> 4900 %
191	Iodo	< 92,2 %	< 10 %
176	Iodo	< 88,46 %	> 16,6 %
401	Iodo	< 97,7 %	< 100 %

FONTE: DREVES, 2017.

No animal 144 (ácido láctico), verificou-se redução de 62,5% na pós-ordenha evidenciando que o produto fez efeito se comparado a semana anterior de coleta (Tabela 8).

Já os animais 400 e 133 apresentaram redução bacteriana de 100% após o término da ordenha, assim como o animal 109 reduziu 94,5%. O que confirma a eficácia do produto a base de ácido láctico.

Entretanto, constatou-se no animal 141 tratado com iodo, aumento extremo de 4900% após o término da ordenha, com possíveis causas de contaminação, pois com a aplicação do pré-dipping havia reduzido 100% das bactérias totais e seu escore de sujidades estava em 3. Já o animal 191 reduziu em 10% as bactérias totais após o término da ordenha.

O animal 176 demonstrou redução de 88,46 % com a aplicação do pré-*dipping*, mas ao término da ordenha aumentou em 16,6%. Porém o animal 401 após o pré-*dipping* reduziu em 97,7% as bactérias, e após o término da ordenha reduziu em 100, mostrando a eficácia do iodo frente às bactérias.

No trabalho de Bozo et al., (2013) onde utilizou-se lavagem dos tetos com água somente em caso de muita sujidade, antissepsia pré-ordenha com solução clorada a 750 ppm e secagem dos tetos após 30 segundos, com papel-toalha individual, além da realização de antissepsia pós-ordenha com produto à base de ácido láctico, apresentava antes da adoção de boas práticas, a média de CBT era de  $1,36 \times 10^6$  UFC/mL. Observou-se redução média de 93,4% para CBT.

Tabela 9 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da tarde de 02/06/2017

TARDE			
Animal	Tratamento	Pré- ordenha/ Após o Pré- <i>dipping</i>	Após o Pré- <i>dipping</i> / Pós- ordenha
144	Ácido Láctico	> 9.900 %	< 100 %
400	Ácido Láctico	> 81,8 %	< 85 %
109	Ácido Láctico	> 650 %	< 91,6 %
133	Ácido Láctico	< 100 %	> 4.900 %
141	Iodo	< 66,6 %	< 100 %
191	Iodo	< 96,3 %	< 100 %
176	Iodo	< 75 %	Manteve
401	Iodo	< 20 %	> 150 %

FONTE: DREVES, 2017

No animal 144 (ácido láctico), verificou-se redução de 100% na pós-ordenha nos confirmando que o produto fez efeito durante o dia (Tabela 9).

Já no animal 400 houve redução de 85% e no animal 133 de 91,6% após o término da ordenha. Porém, o animal 109 reduziu 100% com a aplicação do pré-*dipping*, mas

contaminou-se após a ordenha, onde obteve aumento drástico de 4.900% de bactérias, podendo ser explicado pelo seu escore de sujidades que variou de 3 a 5, assim como o manejo sanitário incorreto da ordenha.

Porém, em outro experimento utilizando iodo 0,1 % na desinfecção de tetos durante a ordenha, exibiu diminuição nos casos de infecções intramamárias, em relação ao grupo controle, de 87,9% do *Staphylococcus aureus* e 66,5% do *Streptococcus agalactiae* (BODDIE et al., 2004). Os animais 141 e 191 (iodo) apresentaram redução de 100% após o final da ordenha. Já o animal 176 reduziu em 75% as bactérias totais após o pré-*dipping*, mantendo o mesmo parâmetro de bactérias após a ordenha.

Contudo, o animal 401 reduziu 20% com a aplicação do pré-*dipping*, mas ao término da ordenha aumentou em 150%, contrariando os resultados da manhã desse mesmo dia, porém, o animal se encontrava com o escore de sujidades elevado.

Tabela 10 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da manhã de 09/06/2017

MANHÃ			
Animal	Tratamento	Pré- ordenha/ Após o Pré- <i>dipping</i>	Após o Pré- <i>dipping</i> / Pós- ordenha
144	Ácido Lático	< 65,4 %	< 98,8 %
400	Ácido Lático	< 99,9 %	> 24.700 %
109	Ácido Lático	< 69,2 %	< 100 %
133	Ácido Lático	< 23 %	< 75 %
141	Iodo	< 99,6 %	> 259.900 %
191	Iodo	< 48,3 %	< 99,7 %
176	Iodo	> 200 %	< 100 %
401	Iodo	> 8.233,3 %	< 87 %

FONTE: DREVES, 2017

No animal 144 (ácido lático), houve redução de 65,4% após o pré-*dipping* e de 98,8% no pós- ordenha demonstrando que o produto fez efeito durante a manhã (Tabela 10).

Já no animal 400 houve redução de 99,9% após o pré-*dipping*, mas após a ordenha aumentou esse valor em 24.700% indicando contaminação dos tetos por bactérias ambientais, podendo ter sido influencia do escore de sujidades que na região do úbere chegou a 5. Já o animal 109 exibiu redução bacteriana de 100% após a ordenha. No animal 133 a redução após a ordenha chegou a 75%.

O animal 141 (iodo) apresentou redução de 99,6% após o pré-*dipping*, mas aumentou em 259.900% após o final da ordenha indicando também contaminação no momento da ordenha, assim como o animal 400, obtiveram escore de sujidade 5. Já os animais 191 e 176 reduziram em 100% as bactérias totais após a ordenha.

Contudo, o animal 401 aumentou em 8.233,3% as bactérias após a aplicação do pré-*dipping*, mas ao término da ordenha reduziu em 87%, nos mostrando a eficácia do mesmo.

No trabalho de Medeiros et al., (2009) onde avaliaram-se o perfil de sensibilidade em relação ao *Staphylococcus aureus*, *in vitro*, onde o iodo mostrou eficiência de 97,8%, já com ácido lático a 2%, apresentou 17,8%.

Tabela 11 – Relação entre as variações de percentagem no aumento e/ou redução bacteriana em diferentes procedimentos da ordenha da tarde de 09/06/2017

TARDE			
Animal	Tratamento	Pré- ordenha/ Após o Pré- <i>dipping</i>	Após o Pré- <i>dipping</i> / Pós- ordenha
144	Ácido Láctico	< 98 %	< 90 %
400	Ácido Láctico	< 92,8 %	> 1.100 %
109	Ácido Láctico	< 57,7 %	< 100 %
133	Ácido Láctico	< 100 %	0%
141	Iodo	< 96,1 %	< 90 %
191	Iodo	< 94,4 %	< 100 %
176	Iodo	< 100 %	> 150.000 %
401	Iodo	< 20 %	< 100 %

FONTE: DREVES, 2017

No animal 144, (ácido láctico), houve redução de 98% após o pré-*dipping* e 90% após ordenha evidenciando que o produto fez efeito durante o dia (Tabela 11). Podendo comprovar a eficácia do produto a base do ácido láctico frente às sujidades, pois o animal apresentava escore 5 em todas as regiões avaliadas.

Já no animal 400 houve redução de 92,8% após o pré-*dipping*, mas ao término da ordenha aumentou esse valor em 1.100% indicando contaminação dos tetos por bactérias ambientais, o que já havia ocorrido no período da manhã, não sendo indicativo de correlação com o escore de sujidades, pois o mesmo obteve escore 1 em todas as categorias avaliadas. O animal 109 apresentou redução bacteriana de 100% após a ordenha, tal como na manhã deste mesmo dia. No animal 133 a redução após o pré-*dipping* foi de 100% e após a ordenha manteve-se sem bactérias.

O 141 (iodo) demonstrou redução de 96,1% após o pré-*dipping*, e continuou reduzindo após a ordenha em 90%. Já o animal 191 reduziu em 94,4% as bactérias após o pré-*dipping* e após o término da ordenha eliminou 100% das bactérias totais, assim como o animal 401.

Entretanto, o animal 176 reduziu em 100% as bactérias após a aplicação do pré-*dipping*, mas ao término da ordenha aumentou em 150.000%, demonstrando a contaminação

no momento da ordenha, não apresentando interferência de escore de sujidades, pois o mesmo apresentou escores que variaram de 1 a 2 (Tabela 5)

Observaram-se aumentos drásticos de contagem bacteriana em alguns animais, porém o efeito do produto foi relevante, por de fato, no momento da ordenha ter possíveis contaminações, não havendo ordem definida na entrada dos animais para a realização da mesma, assim como pode ter havido possíveis falhas de higienização.

Segundo experimento de Nascif Júnior (2005) o grupo de vacas submetidas ao pós-*dipping* com ácido láctico apresentou um percentual de redução de 50,8%, 66,5% e 65,1% de novos casos de infecção intramamária causadas, por *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* spp. e por *Streptococcus* spp., respectivamente.

No trabalho de Corrêa, et al., (2013) os animais tratados com ácido láctico demonstraram CBT de  $1 \times 10^6$  UFC/mL enquanto os animais tratados com iodo foi de  $6,0 \times 10^5$  UFC/mL. Os resultados obtidos das amostras de leite de vacas que tiveram os tetos desinfetados com o produto à base de ácido láctico não apresentaram diferença avaliada quando comparados com os resultados obtidos com o uso do produto à base de iodo.

Na tabela a seguir estão representados os resultados de teste da raquete para CMT. Estas análises foram realizadas como informação diagnóstica para avaliação da condição em que estavam os animais no início do experimento.

Tabela 12 – Resultados de (*California Mastitis Test*) – CMT

Animal	Tratamento	TAD	TAE	TPD	TPE
144	Ácido Láctico	-	-	-	-
400	Ácido Láctico	++	+	+	++
109	Ácido Láctico	++	+	+	++
133	Ácido Láctico	++	+++	-	+++
141	Iodo	-	-	-	+
191	Iodo	+++	-	-	-
176	Iodo	+++	-	+	++
401	Iodo	+++	+++	+++	+++

FONTE: DREVES, 2017.

Teto anterior dentro (TAD); Teto anterior esquerdo (TAE); Teto posterior direito (TPD); Teto posterior esquerdo (TPE) Acidez titulável. De acordo com a espessura do gel, o resultado é dado em escores, segundo Embrapa (2017) que variaram de traços - (leve formação de gel) a + (fracamente positivo), ++ (reação positiva) e +++ (reação fortemente positiva).

Pôde-se verificar que o animal 144 não apresentou grumos em nenhum dos tetos, o que indica não haver mastite subclínica no mesmo.

Já nos animais 400 e 109 indicaram reação positiva nos tetos direito de dentro e no de trás esquerdo, e reação leve nos tetos de dentro esquerdo e de trás direito.

Contudo, o animal 133 apresentou no teto de dentro direito, reação positiva. Já nos tetos de dentro esquerdo e no de trás esquerdo, reação fortemente positiva. Porém, no teto de trás direito não apresentou reação.

O animal 141 apresentou grumos de fracamente positivo apenas no teto de trás esquerdo, e no restante dos tetos não apresentou reação, nos mostrando a sanidade de ambos.

Já o animal 191 apresentou grumos de reação fortemente positiva apenas no teto de dentro direito, porém o restante dos tetos não apresentou reação.

No animal 176 o teto de dentro direito apresentou forte reação positiva, no teto de dentro esquerdo não apresentou reação. Já no teto de trás direito apresentou reação fracamente positiva e no teto de trás esquerdo apresentou reação positiva.

O animal 401 apresentou reação fortemente positiva em ambos os tetos, indicando mastite subclínica, o que interfere na qualidade do leite.

O teste de CMT tanto nos animais tratados com ácido láctico e iodo indicaram que 25% dos animais estavam com mastite subclínica, devido os quartos de teto estarem com forte reação no teste da raquete. Esses resultados estão acima dos citados por Silva e Nogueira (2010), em que a incidência de mastite subclínica deve ser igual ou inferior a 15%.

Segundo Pereira et al., (2012), a alta contagem de células somáticas no decorrer da lactação pode advir de prática imprópria, concordando com Galton et al., (1982) que afirmam ainda que o funcionamento inadequado do equipamento de ordenha e as práticas impróprias são fatores de risco para a ocorrência de mastite. A peculiaridade do manejo da UNEPE de bovinocultura de leite da UTFPR, onde este estudo foi conduzido, indica que a dificuldade de manter a padronização das práticas de manejo provocada pela rotatividade de alunos, pode acarretar em maior prevalência de mastite, podendo causar estresse aos animais e determinando queda na produção.

Adequado pavimento, limpeza regular do piso, antissepsia do teto durante a ordenha, o tratamento de novos casos clínicos de imediato, a identificação da mastite subclínica e terapia da vaca seca, podem reduzir a prevalência de mastite (RAHMAN et al., 2009).

Em estudo realizado com objetivo de justificar ou não o uso de desinfetante (iodo) e vacina de cepas de *Staphylococcus aureus*, comprovou-se diminuição de 53,49% do número de contagem de células somáticas, em relação ao grupo controle, em 3 meses (MUHAMMAD et al., 2008).

Na Tabela a seguir estão representadas as análises de acidez do leite cru de vacas Jersey em Graus Dornic (°D).

Tabela 13 - Acidez titulável de leite cru

<b>Acidez titulável em graus Dornic (°D) da população total do leite de vaca</b>			
<b>Amostra/Animal</b>	<b>Acidez titulável 26/05/2017</b>	<b>Acidez titulável 02/06/2017</b>	<b>Acidez titulável 09/06/2017</b>
<b>144</b>	19,6	22,5	22,0
<b>400</b>	17,6	16,4	19,2
<b>109</b>	19,3	19,3	19,8
<b>133</b>	18,9	17,9	19,1
<b>141</b>	19,1	20,0	20,3
<b>191</b>	18,0	17,8	17,3
<b>176</b>	18,6	19,3	18,1
<b>401</b>	16,0	18,3	22,2

FONTE: DREVES, 2017

Observou-se que no primeiro dia de coleta que o teor de acidez variou de 16 (animal 401, tratado com iodo) a 19,6°D (animal 144, ácido láctico). Acidez superior a 18°D indica leite ligeiramente ácido, provavelmente por serem animais com até 100 dias de lactação em início de processo de fermentação do leite (BRITO, 2012).

Portanto, as amostras (animais) dentro da normalidade foram: 400 (ácido láctico), 191 (iodo) e 401 (iodo), que estavam entre 14 e 18°D (BRITO, 2012).

Observou-se que no segundo dia de amostragem a acidez apresentou-se ligeiramente maior, variando de 16,40 a 22,54°D. Contudo, o animal 109 manteve a acidez em 19,3°D. Já a amostra 133 apresentou menor acidez com 17,9°D, e na amostra 141 a acidez foi de 19,9°D, representando aumento irrelevante.

Já a amostra 400 indicou redução de acidez apontou 16,3°D, considerada acidez normal. A amostra 191 apresentou 17,8 °D. Porém a amostra 176 obteve 19,3°D. Na amostra 401 apresentou aumento de acidez se comparado à semana anterior, com 18,3°D, mas ainda próximo ao parâmetro de normalidade de acidez do leite.

Na terceira etapa de coleta observou-se que na amostra 144 houve redução na acidez que foi para 21,9°D, mas que mesmo assim apresenta fragilidade do aquecimento de até 100°C, segundo Rodrigues et al., (1995). Contudo, na amostra 109 aumentou ligeiramente a acidez em 19,8°D. Já a amostra 133 apresentou maior acidez com 19,1°D, e na amostra 141 acidez de 20,3 °D, representando leite ácido.

Já a amostra 400 indicou aumento de acidez (19,2°D) se comparada com a semana anterior. A amostra 191 apresentou 17,2 °D, mostrando pouca redução, mas ainda com parâmetros normais de acidez. Contudo, a amostra 176 apresentou ligeira redução (18,1°D).

Porém, a amostra 401 apresentou aumento de acidez se comparado às semanas anteriores as coletas, com 22,2°D, indicando que o leite não resiste aquecimento de 100°C. Quando analisasse esses dados comparados as análises de CMT, pôde-se confirmar que não há interferência sobre os valores de acidez. O animal 144 que possuiu a acidez mais elevada, não estava com mastite subclínica em nenhum dos quartos mamários. Já o animal 401 que estava com todos os quartos mamários com reação fortemente positiva no CMT, manteve sua acidez considerada normal até a segunda semana de experimento, e só na última semana elevou para 22,2°D.

De acordo com Instrução Normativa nº 51 do MAPA o teor de acidez do leite deve ser de 14° a 18 °D. Principalmente na última semana de experimento, as amostras não estavam dentro dos padrões aceitáveis preconizados. Resultados estes que se igualam dos encontrados por Fonseca (2010), onde foram analisadas 30 amostras de leite *in natura* na cidade de Janaúba/MG, sendo que 51,6% das amostras estavam fora do padrão preconizados pela legislação. A alta acidez é provocada quando há falta de higiene na manipulação do leite ou contaminação microbiana decorrente da mastite.

Já no trabalho de Silva (2011), onde avaliou-se a presença de resíduos antimicrobianos no leite, 92,53% deram negativos, além de não ocorrer alteração na acidez titulável do leite, apresentando valores dentro do padrão preconizado. Assim como o trabalho de Santos et al., (2016), apresentaram resultados negativos a resíduos antimicrobianos utilizados em antissepsias na ordenha, também apresentando resultados de acidez titulável dentro dos padrões ideais.

## 6. CONCLUSÃO

Cada produto especificadamente apresenta vantagens, sendo que ambos foram eficientes para realização do pré e pós-*dipping*. Entretanto, com base nos resultados dessa pesquisa o ácido láctico apresentou maior tendência em ser mais eficiente quando utilizado para a antissepsia na ordenha, pois apresentou maior redução de bactérias se comparado ao iodo.

Com a alta presença de matéria orgânica nos tetos, devido à alta umidade do ambiente nos dias de coleta, o iodo não conseguiu superar a eficiência antimicrobiana do ácido láctico, principalmente no pré-*dipping*, apesar dos resultados de escore de sujidades não serem significativos frente à contagem bacteriana, mostrando a eficácia de ambos os produtos. Os resultados de acidez do leite, também não foram consideráveis frente aos produtos e não apresentaram correlação ao teste de CMT.

Desta forma, recomenda-se a utilização do produto à base de ácido láctico, quando comparado ao iodo, pois o mesmo comprova atender às expectativas do produto, tal como a redução bacteriana.

Portanto, através do manejo sanitário correto tanto dos animais como equipamentos utilizados durante a ordenha, e aplicação do produto de forma coerente e correta, sua finalidade é atendida, ou seja, há redução de casos de mastite e infecções, devido à diminuição de microrganismos patogênicos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: APHA, 2001. 676p
- ANNEMULLER C. , LAMMELER, Ch., ZSCHOCRS, M . **Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis**. Veterinary Microbiology, Amsterdam, v. 69 217-224, 1999.
- 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.
- BEAN, N.H. & GRIFFIN, P.M. **Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles, and trends**. Journal of Food Protection, v.53, n.9, p.804-817, 1990.
- BERGDOLL, M.S. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE, M.P. (Ed.). **Foodborne bacterial pathogens**. New York: Marcell Dekker, 1989, p.463-523.
- BODDIE, R. L. et al. **Efficacy of a 0.1% iodine teat dip against staphylococcus aureus and streptococcus agalactiae during experimental challenge**. Journal of dairy science. v.87. n. 9,p. 3089-3091, setembro, 2009.
- BOZO, G.A. et al. **Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.65 no.2 Belo Horizonte Apr. 2013
- BLOCK, S. S. (Ed.) **Desinfection, sterilization and preservation**. 4, ed. London; Lea & Febiger, 1991.
- 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.
- BRESSAN, M. **Práticas de manejo sanitário em bovinos de leite**. Juiz de Fora: Embrapa/CNPGL, 2000. 65p.
- 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, Santa Maria, v.30, n.5, p.847-850, 2000.

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 de vacas em lactação.** Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.51, n.2, p.129-135, 1999.

BRITO, M. A., et al. **Mastite.** Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária – Embrapa. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_202\\_21720039247.htm](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_202_21720039247.htm) < >. Acesso em 17/10/2017.

BUSHNELL R.B. **Mycoplasma mastitis.** Symposium on mastitis. Vet Clin North Am Large Anim Pract. 1984; 6:301-12.

CHAPAVAL, L.; PIEKARSKI, P.R.B. **Leite de qualidade: manejo reprodutivo, nutricional e sanitário.** Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2000. 195p.

COLDEBELLA, A. **Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas.** Tese (Doutorado em Agronomia) – ESALQ/USP. Piracicaba, SP, 2003, 99p.

COSTA, E. O. et al. **Estudo da etiologia das mastites bovinas nas sete principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo.** Napgama, São Paulo, Ano III, no. 4, p. 6 – 13, 2000.

CORRÊA, A.A.F, et al. **Influência do pós-dipping com produto à base de ácido lático em comparação com produto à base de iodo sobre contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e composição do leite.** Vet. e Zootec. 2013 jun.; 20(2 Supl 1): 129

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.

DEMEU, F. A. et al. **Influência do descarte involuntário de matrizes no impacto econômico da mastite em rebanhos leiteiros.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 35, n. 1, p. 195-202, jan./fev., 2011.

DIEZ GONZALEZ, F. et al. **Grain feeding and the dissemination of acid-resistant *Escherichia coli* from cattle.** Science, v. 281, n. 5383, p. 1666-1668, 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.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite.** São Paulo: Lemos, 2000. 175 p.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite.** Barueri: Manole. 2006. 314 p.

FOX, L.K., Hancock, D.D., Mickelson, A. & Britten, A. (2003). **Bulk tank milk analysis: factors associated with appearance of *Mycoplasma sp.* in milk.** J. Vet. Med., B 50, 235-240.

FOX, L.K., Kirk, J. H. & Britten A. (2005). **Mycoplasma mastitis: A Review of Transmission and Control.** J. Vet. Med., B 52, 153-160.

GALTON, D.M., PETERSSON, L.G., MERRILL, W.G. **Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats.** Journal of Dairy Science, v.69, p.260- 266, 1986.

GALTON, D.M., PETERSSON, L.G., MERRILL, W.G. **Evaluation of udder preparations on intramammary infections.** Journal of Dairy Science, v.71, p.1417-1421, 1988.

GALTON, D. M.; ADKINSON, R. W.; THOMAS, C. V.; et al. **Effects of premilking udder preparation on environmental bacterial contamination of milk.** 1982. J. Dairy Sci. 65:1540.

GONÇALVES, J. L. **Produção e composição do leite de vacas com mastite causada por *Corynebacterium spp.*** 2012. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

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

HEMLING, T. C.; MCKINZIE, M. D. **Efficacy and teat conditioning properties of a film forming 1% iodine teat dip.** In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DE LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2, 2002, Ribeirão Preto. Anais... São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2002. p

HUBER, W. G. **Quimioterapia de doenças microbianas, fúngicas e virais: anti-sépticos e desinfetantes.** In: BOOTH, N. H.; MACDONALD, L. E. (Ed). Farmacologia e terapêutica em veterinária, 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p. 617- 641.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária nacional, Março de 2017.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/>> Acesso em 17/05/2017.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Consulta Dados da Estação Automática: Dois Vizinhos (PR).** Disponível em: <[http://www.inmet.gov.br/sonabra/pg\\_dspDadosCodigo\\_sim.php?QTg0Mw==>](http://www.inmet.gov.br/sonabra/pg_dspDadosCodigo_sim.php?QTg0Mw==>) Acesso em 18/10/2017

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.

KNOOW ENCICLOPÉDIA TEMÁTICA. **Conceito de Ácido Láctico.** Disponível em: <http://knoow.net/cienciterravida/biologia/acido-lactico/>> Acesso em 18/05/2017.

LAVEN, R. A.; ASHMORE, A.; STEWART, C. S. ***Escherichia coli* in the rumen and colon of slaughter cattle, with particular reference to *E. coli* O157.** Veterinary Journal, v. 165, n. 1, p. 78-83, 2003.

LEVAN, P. L.; BERHART, R. J.; ESLER, E. **Effects of natural intramammary *Corynebacterium bovis* infection on milk yield and composition.** Journal of Dairy Science, v. 68, p. 3329-3336, 1985.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 7, de 3 de maio de 2016. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 4 mai. 2016. Seção 1, p. 11.

MAGALHAES., et al. **Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa.** R. Bras. Zootec., v.35, n.2, p.415-421, 2006.

MASSEI., et al . **Mastite – diagnóstico, tratamento e prevenção: revisão de literatura.** Revista científica eletrônica de medicina veterinária. V. 6 , n.10 , Janeiro de 2008.

MEDEIROS, Sampaio de et al. **Avaliação in vitro da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina.** Pesq. Vet. Bras. V.29,n.1, p.71-75, Janeiro 2009.

MENDONÇA, A.H. et al. **Qualidade físico-química de leite cru resfriado: comparação de diferentes procedimentos e locais de coleta.** In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 18., 2001, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Templo. 2001. p.276-282.

MULLER, E.E. **Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite.** Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, Anais II Sul-Leite, Toledo, PR, p.206-217, 2002.

MUHAMMAD, G. et al. **Impact of post milking teat dipping and staphylococcus aureus vaccination on somatic cell count and serum antibody titre in sahiwal cows.** Pak. J. Agri. Sci., v. 45, n.2, 2008.

NASCIF JÚNIOR; LUCIF, ABRÃO. **Avaliação da eficácia do ácido láctico frente ao iodo na antissepsia dos tetos após a ordenha na prevenção da mastite bovina.** 2005. ix, 65 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/103832>>. Acesso em 18/05/2017.

OMOE, K.; ISHIKAWA, M.; SHIMODA, Y. HU, D.; UEDA, S.; SHINAGAWA, K. **Detection of seg, she, and sei genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *Staphylococcus aureus* isolates harborin seg, seh, or sei genes.** Journal of Clinical Microbiology, v.40, n. 3, p.857-862, 2002.

PANKEY, J. W.; EBERHART, R. J.; CUMING, A. L.; DAGGETT, R. D.; FARNSWORTH, R. J.; MCDUFF, C. K. **Update on postmilking teat antiseptics.** J. Dairy Sci., Champaign, v. 67, p. 1336–1353, 1984b.

PANKEY, J. W.; WILDMAN, E. E.; DRECHSLER, P. A.; HOGAN, J. S. **Field trial evaluation of premilking teat disinfection.** Journal Dairy Science, Savoy, v. 70, n. 4, p. 867-872, 1987.

PENNA, T.C.V.; COLOMBO, A.J.; ABE, L.E.; MACHOSHVILI, S.A. **Parâmetros de resistência térmica de cepas de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicos no leite.** Revista de Farmácia Bioquímica, v.24, p.113-117, 1998.

PEREIRA, M. N.; CLAUS, P. M.; CARNEIRO, W. E.; CARNEIRO, F. V. M. D. **Influência de variações climáticas, escore de eversão de esfíncter de tetos e de sujidade de úbere sobre a ocorrência de mastite em vacas leiteiras, em Araquari- SC.** Araquari, 2012.

PHILPOT, W.N. **Qualidade do leite e controle de mastite: passado, presente e futuro.** In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2., 2002, Ribeirão Preto. Anais, Ribeirão Preto, 2002. p.23-38.

PRATES, N. C. **Ferramentas para avaliar a higiene da vaca, do úbere e do teto,** 2008. Disponível em: <<http://rehagro.com.br/plus/modulos/noticias/ler.php?cdnoticia=1806>>. Acesso em: 10/05/2017.

QUINN. P.J.; MARKEY. B.K.; CARTER. M.E.; DONNELLY. W.J.; LEONARD. F.C. **Causas bacterianas de mastite bovina.** In: **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.** Porto Alegre: Artmed; 2005. p.451-60.

RAHMAN, M. A. et al. **Prevalence and risk factors of mastitis in dairy cows.** The Bangladesh Veterinarian , v.26, n.2 , p. 54-60, 2009.

REBHUN, W.C.; GUARD, C.; RICHARDS, C.M. **Diseases of Dairy Cattle.** Media, PA, Willams & Wilkins, 1995, pp. 279-308.

RIBEIRO, J. N. **Segurança alimentar no leite à entrada da fábrica.** Segurança e Qualidade Alimentar, Lisboa, n. 4, maio, 2008.

RUEGG, P. L. **Basic epidemiologic concepts related to assessment of animal health and performance.** The Veterinary clinics of North America. Food animal practice, 22(1):1-19, 2006.

RUEGG, P.L. **Relationship between antimicrobial drug usage and antimicrobial susceptibility of grampositive mastitis pathogens.** Journal of dairy science; 90(1):262-73, 2007.

SANTOS, L.O et al. **Análise de resíduos de antimicrobianos, acidez titulável e teor de gordura do leite comercializado em Itapaci-GO.** Revista E.T.C. Educação, tecnologia e cultura, n. 14, 2016.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 5ª Ed. Blucher: São Paulo, 2017, 535p.

SILVA, M.V.M.; NOGUEIRA, J.L. **Mastite: controle e profilaxia no rebanho bovino.** Rev. Cient. e Elet. Med Vet. Ano 8, n.15, julho 2010.

SILVA, T. S. **Qualidade do Leite Produzido no Estado de Goiás Ocorrência de Resíduos de Antimicrobianos e Acidez Titulável.** 2011. 94 f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal) Escola Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia

SLAGHUIS, B. **Sources and significance of contaminants on different levels of raw milk production.** In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION SYMPOSIUM ON BACTERIOLOGICAL QUALITY OF RAW MILK, 1996, Wolfpassing. Proceedings... Wolfpassing, Austria: IDF, 1996. 178p. p.19-27.

THOMAS, C. B., WILLEBERG, P. & JASPER, D. E. (1981). **Case-control study of bovine Mycoplasmal mastitis in California.** Am. J. Vet. Res., 42, 511-515.

VAN KESSEL, J. S. et al. **Effects of ruminal and postruminal infusion of starch hydrolysate or glucose on the microbial ecology of the gastrointestinal tract in growing steers.** Journal of Animal Science, v. 80, n. 11, p. 3027-3034, 2002.

VICTÓRIA, C.; DA SILVA, A.V.; ELIAS, A.O.; LANGONI, H. **Corynebacterium bovis e os padrões de contagem de células somáticas no Brasil.** Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR, 8(2): p. 161-164, 2005.

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

WATTS, J.L.; LOWERY, D.E.; TEEL, J.F.; ROSSBACH, S. **Identification of Corynebacterium bovis and other coryneforms isolated from bovine mammary glands.** Journal of Dairy Science, v.83, n.10, p.2373-2379, 2000.

WILSON, D.J., SKIRPSTUNAS, R.T., TRUJILLO, J.D., CAVENDER, K.B., BAGLEY, C.V. & HARDING, R.L. (2007). **Unusual history and initial clinical signs of Mycoplasma bovis mastitis and arthritis in first-lactation cows in a closed commercial dairy herd.** J. Am. Vet. Med. Assoc., 230(10), 1519-23.

ZOCCAL, Rosangela. **Alguns Números do Leite**. Balde Branco, 2016. Disponível em: <<http://www.baldebranco.com.br/alguns-numeros-do-leite/>>. Acesso em: 09/03/2017.

ZSCHÖCK, M.; BOTZLER, D.; BLÖCHER, S.; SOMMERHÄUSEN, J.; HAMANN, H. P. **Detection of genes for enterotoxins (ent) and toxic shock syndrome toxin-1 (tst) in mammary isolates of *Staphylococcus aureus* by polymerase-chain-reaction**. International Dairy Journal, v.10, p.569-574, 2000.