



MARIANA D' AGOSTO MIGUEL FONSECA

**DINÂMICA DA MASTITE E SAÚDE DO ÚBERE DE VACAS
LEITEIRAS EM SISTEMA *COMPOST BARN* SOB
CONDIÇÕES TROPICAIS**

LAVRAS – MG

2017

MARIANA D' AGOSTO MIGUEL FONSECA

**DINÂMICA DA MASTITE E SAÚDE DO ÚBERE DE VACAS LEITEIRAS EM
SISTEMA *COMPOST BARN* SOB CONDIÇÕES TROPICAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para obtenção do título de mestre.

Prof. Dr. Alessandro de Sá Guimarães

Orientador

Dr. Bruno Campos Carvalho

Dr. Márcio Roberto da Silva

Coorientadores

LAVRAS – MG

2017

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Fonseca, Mariana D Agosto Miguel.

Dinâmica da mastite e saúde do úbere de vacas leiteiras em sistema Compost Barn sob condições tropicais / Mariana D Agosto Miguel Fonseca. - 2017.

62 p. : il.

Orientador(a): Alessandro de Sá Guimarães.

Coorientador(a): Bruno Campos Carvalho, Márcio Roberto da Silva.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Mastite. 2. Compostagem. 3. Qualidade do leite. I. Guimarães, Alessandro de Sá. II. Carvalho, Bruno Campos. III. Silva, Márcio Roberto da. IV. Título.

MARIANA D' AGOSTO MIGUEL FONSECA

**DINÂMICA DA MASTITE E SAÚDE DO ÚBERE DE VACAS LEITEIRAS EM
SISTEMA *COMPOST BARN* SOB CONDIÇÕES TROPICAIS**

**DYNAMICS OF MASTITIS AND UDDER HEALTH OF DAIRY COWS IN
COMPOST BARN SYSTEM UNDER TROPICAL CONDITIONS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para obtenção do título de mestre.

APROVADA em 08 de Agosto de 2017.

Dr. Geraldo Márcio de Carvalho UFLA

Dra. Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira UFMG

Prof. Dr. Alessandro de Sá Guimarães
Orientador

**LAVRAS – MG
2017**

Aos meus pais, Roselene (*in memoriam*) e Paulo, por todo amor e apoio incondicional que me permitiram alcançar meus objetivos.

À minha querida Tia Elaine (*in memoriam*) pelo seu carinho, apoio e incentivo que me fizeram seguir em frente.

Às minhas queridas e amadas irmãs, Helena e Letícia, minhas companheiras de vida, pelo amor, amizade, paciência e incentivo.

Aos meus amigos Raquel, Renata, João e Matheus por sempre estarem presentes na minha vida.

Aos meus amigos Raphael, Thiago e Lucas pelo carinho e pelos momentos de descontração.

À minha pequena, Amélie, pelo seu amor incondicional e companheirismo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e à Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela oportunidade de realização do mestrado.

A CAPES/Embrapa, pelo auxílio financeiro com a bolsa de estudos.

Ao meu orientador Dr. Alessandro de Sá Guimarães pela oportunidade, apoio e pelo acompanhamento das atividades durante o mestrado.

Ao pesquisador Guilherme Nunes de Souza, por toda paciência e ajuda nas análises estatísticas.

Aos meus coorientadores Bruno Campos Carvalho e Márcio Roberto da Silva pela colaboração no projeto.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, em especial ao Christian, Ana Paula e Geraldo, pelas contribuições na minha formação profissional e também pela atenção durante as disciplinas.

À profa. Dionéia (UFJF) pela ajuda nas coletas e nas análises da cama.

À Letícia Caldas Mendonça, analista da Embrapa Gado de Leite, cujo apoio foi essencial para a realização do projeto.

Aos pesquisadores, funcionários e estagiários da Embrapa Gado de Leite, pela recepção e auxílio.

À colega de laboratório Juliana, e também ao Marcos Aurélio, funcionário do Laboratório de Microbiologia do Leite pela ajuda na realização das análises microbiológicas.

Agradeço aos proprietários que disponibilizaram suas fazendas para realizar o estudo, e aos seus funcionários que sempre foram prestativos em nos ajudar na coleta das amostras e dados.

Aos meus amigos, por dividirem os momentos de alegria e pelo apoio durante os momentos de dificuldade.

À minha família, em especial ao meu pai Paulo Otávio e minhas irmãs Helena e Letícia, por sempre estarem presentes na minha vida.

“... sua sensibilidade incomodava sem ser dolorosa, como uma unha quebrada.
e se quisesse podia permitir-se o luxo de se tornar ainda mais sensível,
ainda podia ir mais adiante...” (Clarice Lispector).

RESUMO

O objetivo desse estudo foi descrever os índices epidemiológicos da mastite e a higiene do úbere em animais confinados no sistema *Compost Barn*, assim como buscar associações entre os patógenos isolados, com a ordem de parto, o período de lactação, o período do ano e a umidade da cama. Três fazendas participaram do estudo, sendo as coletas feitas em momentos diferentes em cada fazenda. Amostras individuais foram coletadas em duplicata para análise da CCS e exame microbiológico. Foi avaliado o escore de sujidade do úbere. Amostras de material da cama foram coletadas em duas fazendas para análise da densidade bacteriana e umidade. Os patógenos ambientais foram os mais isolados dos casos de mastite clínica, sendo *Escherichia coli* o patógeno com maior número de isolamentos. Na mastite subclínica os patógenos mais isolados foram os *Staphylococcus* coagulase negativa e dentre os patógenos contagiosos o que apresentou maior prevalência foi *Streptococcus agalactiae*. A umidade da cama permaneceu dentro do limite esperado durante o estudo e não foi associada à incidência de patógenos ambientais. Os animais permaneceram em boas condições de higiene durante o estudo. A maior sujidade contribuiu para o aumento da incidência de patógenos ambientais em uma das fazendas. No período 1 foi observado maior número de animais com escore de sujidade ≥ 2 . Os terços médios e finais de lactação apresentaram maior risco na incidência de patógenos contagiosos, oportunistas e ambientais. Ordem de parto ≥ 2 teve associação com o aumento da incidência de patógenos contagiosos e ambientais. Os resultados do presente estudo indicam que o perfil dos patógenos isolados do leite é semelhante ao de outros sistemas de confinamento. O período do ano teve influência no escore de sujidade de úbere o que reforça a importância do manejo da cama durante todo o ano. Os resultados desta pesquisa mostraram a dinâmica da mastite e saúde do úbere em sistema de confinamento *Compost Barn*. Foi possível também observar que o escore de sujidade pode ser uma ferramenta auxiliar para controle de patógenos ambientais na rotina das fazendas.

Palavras-chave: Mastite. Compostagem. Qualidade do leite.

ABSTRACT

The objective of this study was to describe the epidemiological indexes of mastitis and udder hygiene in confined animals in the *Compost Barn* system, as well as to search associations between isolated pathogens from milk with, the order of calving, the lactation period, the period of the year and the humidity of the bed. Three dairies participated in the study, the samples were collected in different periods in each farm. Individual samples were collected in duplicate for SCC analysis and microbiological examination. The udder hygiene score was assessed. Bed material samples were collected on two farms for analysis of bacterial density and moisture. Environmental pathogens were the most isolated cases of clinical mastitis, with *Escherichia coli* being the most isolated pathogen. In subclinical mastitis the most isolated pathogens were coagulase negative *Staphylococcus* and of the contagious pathogens, which presented the highest prevalence was *Streptococcus agalactiae*. Bed moisture remained within the control range during the study and was not associated with the incidence of environmental pathogens. The animals remained in good udder hygiene during the study. Poor udder hygiene contributed to the increased incidence of environmental pathogens in one of the farms. During the warmer and higher rainfall period, a higher number of animals with a score of ≥ 2 were observed. The mid and late lactation periods presented a higher risk of incidence of contagious, opportunistic and environmental pathogens. Calving order ≥ 2 was associated with na increased incidence of contagious and environmental pathogens. The results of the present study indicate that the profile of pathogens isolated from milk in animals confined in *Compost Barn* is similar to other confinement systems. The period of the year had na influence on the udder hygiene score even the system being a closed confinement, which reinforces the importance of bed management throughout the year. The results of this research showed the dynamics of mastitis and udder health in *Compost Barn* confinement system. It was also possible to observe that the udder hygiene can be na auxiliary tool to control environmental pathogens in the farm routine.

Keywords: Mastitis. Composting. Milk quality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Dinâmica da infecção subclínica (células x 1000/mL) no período de Outubro de 2014 a Fevereiro de 2016 na fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais	38
Figura 2 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados de contagem de células somáticas no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais	39
Figura 3 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos para patógenos contagiosos da mastite no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais	40
Figura 4 – Prevalência da mastite subclínica com base em resultados positivos para <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais.....	41
Figura 5 – Dinâmica de mastite subclínica com base em resultados positivos para <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais.....	41
Figura 6 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos para patógenos ambientais da mastite no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais	42
Figura 7 – Incidência de mastite clínica no período de Outubro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais	42
Figura 8 – Dinâmica da infecção subclínica (células x 1000/mL) durante o período de Fevereiro de 2015 a Fevereiro de 2016, na fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais ..	43
Figura 9 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base na contagem de células somáticas no período de Março de 2015 a Fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais	44
Figura 10 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos para patógenos contagiosos da mastite no período de Março de 2015 a Fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais	44
Figura 11 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos para patógenos ambientais da mastite no período de Março de 2015 a fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais	45

Figura 12 – Prevalência e incidência com base nos resultados positivos para <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa no período de Março de 2015 a Fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais	46
Figura 13 – Incidência de mastite clínica durante o período de Outubro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais	46
Figura 14– Dinâmica da infecção subclínica (células x 1000/mL) no período de Maio de 2016 a Fevereiro de 2017, na fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais.....	47
Figura 15 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base na contagem de células somáticas no período de Junho de 2016 a Fevereiro de 2017, fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais	48
Figura 16 – Prevalências (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos de exames microbiológicos no período de Maio de 2016 a Fevereiro de 2017, fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais	48
Figura 17 – Incidência de mastite clínica no período de Maio de 2016 a Fevereiro de 2016, fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais	49
Figura 18 – Escore de sujidade do úbere (percentual).....	51
Figura 19 – Umidade, Precipitação e Temperatura, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais.....	52
Figura 20 – Umidade, Precipitação e Temperatura, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais.....	53
Figura 21 – Umidade, Precipitação e Temperatura, fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Resultados dos exames microbiológicos (mastite clínica) na Fazenda 1 (município de Itamonte) e Fazenda 2 (município de Cruzília), Minas Gerais.....	35
Tabela 2– Resultados dos exames microbiológicos do leite (mastite subclínica) na Fazenda 1 (município de Itamonte), Fazenda 2 (município de Cruzília) e Fazenda 3 (município de Barbacena), Minas Gerais.....	36
Tabela 3 – Correlação da infecção por <i>Streptococcus agalactiae</i> e contagem de células somáticas (células x 1000/mL).....	38
Tabela 4 – Variação das médias da umidade da cama durante o período de Outubro de 2014 a Fevereiro de 2016fazendas 1 (município de Itamonte) e fazenda 2 (município de Cruzília), Minas Gerais.....	50
Tabela 5 – Associação do escore de sujidade com a incidência de patógenos ambientais, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais	52
Tabela 6 – Associação entre período do ano e escore de sujidade, fazendas 1, 2 e 3, Minas Gerais.....	54
Tabela 7 – Correlação do período do ano com a incidência de <i>Staphylococcus</i> coagulase	54
Tabela 8 – Associação do período de lactação com a incidência de estreptococos ambientais,fazendas 1, 2 e 3, Minas Gerais.....	55
Tabela 9 – Associação do período de lactação com a incidência de <i>Streptococcus agalactiae</i> , fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais	55
Tabela 10 – Associação do período de lactação e a incidência de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa, fazendas 1 e 2, Minas Gerais	56
Tabela 11 – Associação da ordem de parto com a incidência de estreptococos ambientais, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais	57
Tabela 12 – Associação da ordem de parto com a incidência de <i>Streptococcus agalactiae</i> , fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais	57
Tabela 13 – Associação da ordem de parto com a incidência de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa, fazendas 1 e 2, Minas Gerais	57

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	15
1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Caracterização da Mastite	16
2.2 Sistema de confinamento <i>Compost Bedded Pack Barn</i>	18
2.2.1 Local de construção do galpão	18
2.2.2 Estrutura do galpão.....	19
2.2.3 Sistema de Compostagem	20
2.2.4 Manejo do Composto	21
2.2.5 Saúde do úbere, qualidade do leite e bem-estar animal no sistema <i>Compost Barn</i> .	22
3 CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO 2	27
Epidemiologia da Mastite e Interações entre Fatores Ambientais e Saúde do Úbere no Sistema <i>Compost Barn</i>	27
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 Seleção das fazendas e amostragem	28
2.2 Características das fazendas e do rebanho	29
2.3 Amostragem do leite para contagem de células somáticas e cultivo microbiológico.....	30
2.4 Avaliação da sujidade do úbere	30
2.5 Procedimentos de isolamento e identificação microbiológica e contagem de células somáticas.....	31
2.6 Procedimentos de coleta e análise da cama	31
2.7 Ordem de parto e período de lactação	32
2.8 Análise estatística.....	32
2.8.1 Definições e padrões utilizados na classificação dos animais em função da contagem de células somáticas e identificação dos patógenos	32
2.8.2 Procedimentos analíticos.....	33
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
3.1 Perfil dos patógenos isolados dos casos de mastite	34
3.2 Epidemiologia da mastite.....	37

3.2.1 Fazenda 1.....	37
3.2.2 Fazenda 2.....	43
3.2.3 Fazenda 3.....	47
3.3 Umidade e densidade bacteriana da cama nas fazendas 1 e 2	49
3.4 Sujidade do úbere e Período do ano nas fazendas 1, 2 e 3	50
3.5 DEL e Ordem de Parto nas fazendas 1, 2 e 3.....	55
4 CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS	60

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o quinto maior produtor de leite no mundo e em 2013 apresentou uma produção de 35 bilhões de litros de leite (IBGE, 2014). A intensificação e a maior produtividade por vaca em fazendas bem manejadas e tecnificadas têm trazido novos desafios para a atividade. Dentre esses desafios podem ser citados o aumento na incidência de mastite nos rebanhos leiteiros e também problemas relacionados à resistência dos patógenos causadores da mastite aos antimicrobianos utilizados na rotina.

A mastite é caracterizada inflamação da glândula mamária causada principalmente por bactérias, acarreta grandes perdas econômicas, pela baixa qualidade e diminuição na produção de leite, descarte de animais acometidos e também gastos com veterinário e medicamentos.

Os agentes antimicrobianos utilizados no tratamento da mastite são frequentemente os mesmos, ou são estreitamente relacionados. Dessa forma, a eficiência desses agentes é muito comprometida quando a resistência emerge em patógenos relevantes. Essa resistência é influenciada pelo uso de qualquer substância antimicrobiana, e sofre impactos pelo uso de antimicrobianos tanto na produção animal quanto na população humana. Tais desafios impostos pelo aumento da incidência de mastite e da resistência antimicrobiana são observados principalmente em fazendas no Brasil, onde o uso de antimicrobianos é feito de forma indiscriminada e muitas vezes sem orientação de um profissional capacitado.

Outro desafio encontrado na pecuária de leite que se caracteriza como uma das causas do aumento de mastite no rebanho é a intensificação e maior produtividade por vaca. Com a diminuição do número de pequenos produtores, o resultado é um considerável crescimento da média de produção de leite por fazenda no Brasil. Além disso, o produtor passou a se defrontar com a escassez e o encarecimento da mão de obra no campo. Assim como em outras economias mais desenvolvidas, o produtor brasileiro vem buscando aumentar eficiência, buscando escala de produção. Faz-se necessário e urgente, todavia, que a pesquisa disponibilize alternativas de sistemas de produção que: (a) permitam manejar rebanhos maiores e de produtividade reconhecida; (b) apresentem flexibilidade e facilidade de manejo; e (c) tragam características de bem-estar e índices de reprodução e sanidade animal adequados.

Diante disso, os produtores de leite do Estado de Virgínia (EUA) desenvolveram o sistema conhecido como *Compost Barn* (CB), conceito tipo “celeiro”, para melhorar o

conforto e aumentar a longevidade das vacas, reduzir os custos iniciais das instalações (BARBERG et al., 2007a) e, ao mesmo tempo, reduzir os riscos de ocorrência de mastite no rebanho. O sistema foi inicialmente desenvolvido para a realidade norte-americana e logo se disseminou por várias partes do mundo, com adaptações a diferentes cenários, instalações e mão de obra. Os trabalhos publicados até o momento foram desenvolvidos basicamente em regiões de clima temperado. Entretanto, algumas instalações CB já foram construídas em propriedades leiteiras nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás, grandes produtores nacionais de leite. A principal vantagem, não cientificamente investigada em condições brasileiras, é seu custo reduzido de implantação quando comparado a outros sistemas de confinamento como o *free-stall*, instalação amplamente utilizada em propriedades tecnificadas e de produção intensiva. Por isso, projetos de pesquisa precisam ser conduzidos em regiões tropicais, para avaliação da viabilidade econômica e técnica dessa tecnologia.

Entende-se como prioritário o atendimento às demandas específicas da cadeia produtiva do leite, visto que há poucas informações científicas que respondam questões básicas sobre o *Compost Barn* em condições tipicamente brasileiras.

Diante disso, o objetivo é realizar um estudo epidemiológico prospectivo para patógenos ambientais e contagiosos em propriedades leiteiras comerciais do Sul de Minas Gerais e do Campo das Vertentes, que estão implantando o *Compost Barn* em condições tropicais, com objetivo de avaliar os impactos do sistema sobre a sanidade com foco em qualidade do leite (CCS), produtividade, sujidade de úbere, ocorrência de mastite subclínica e clínica e os principais patógenos presentes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Caracterização da Mastite

A mastite se caracteriza como uma inflamação da glândula mamária, podendo ser considerada cosmopolita e acarreta grandes prejuízos econômicos aos produtores de leite. Esses prejuízos podem ser devidos à diminuição da quantidade de leite produzido, diminuição na qualidade do leite e, por conseguinte, consequências negativas no segmento lácteo, e também aumento dos custos com medicamentos e honorários veterinários. A etiologia dessa doença é variada e está associada a causas infecciosas e não-infecciosas. As infecciosas são a

de maior importância e podem ser causadas por bactérias, fungos, vírus e algas, sendo as infecções bacterianas as mais comuns (COSTA, 1991).

A mastite pode ser classificada como clínica ou subclínica de acordo com a sua forma de apresentação.

A mastite clínica é caracterizada pelos sintomas clássicos da inflamação presentes no úbere: edema, rubor, dor, aumento da temperatura e perda da função. Nos casos mais graves, podem aparecer sinais clínicos sistêmicos, tais como: perda do apetite, respiração acelerada, desidratação, fraqueza, depressão e endotoxemia (SANTOS; FONSECA, 2007). A mastite clínica pode ainda ser classificada como aguda, quando o aparecimento é rápido com sintomas mais graves, ou crônica, persistindo por longos períodos de tempo mas sem causar alterações sistêmicas (BLOWEY; EDMONDSON, 1995). As vacas acometidas pela mastite clínica também apresentam modificações físico-químicas na composição do leite, alterações na coloração, presença de leucócitos e formação de coágulos (RADOSTITS, 2000).

A mastite subclínica não apresenta sinais clínicos aparentes, sendo caracterizados pelo aumento das células somáticas presentes no leite. As células somáticas são constituídas pelas células epiteliais de descamação da própria glândula mamária e também pelos leucócitos, que se constituem principalmente por neutrófilos, que são células de defesa do sistema imune (RADOSTITS et al., 1994; SANTOS; FONSECA, 2007). Os microrganismos causadores da mastite subclínica podem ser detectados através da cultura microbiológica do leite ou através do aumento das células somáticas presentes no mesmo (NMC, 1996).

Outra forma de classificar a mastite é de acordo com as características do patógeno e a forma de transmissão, podendo ser caracterizada como contagiosa ou ambiental (BLOWEY; EDMONDSON, 1995). A mastite contagiosa é causada por agentes que normalmente estão presentes somente no úbere de vacas infectadas e pode ser transmitida de um animal para o outro, principalmente no momento da ordenha (RADOSTITS et al., 1994). Os principais patógenos contagiosos compreendem *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis* e *Corynebacterium bovis* (SANTOS; FONSECA, 2007). A mastite ambiental é causada por patógenos oportunistas, geralmente presentes no ambiente (solo, cama, água, etc) que invadem a glândula mamária, se multiplicam e causam uma infecção que geralmente é eliminada de forma rápida pela ação do sistema imune. Os patógenos mais comumente envolvidos na patogênese dessa infecção são oscoliformes (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia sp.*) e os estreptococos ambientais (*Streptococcus uberis* e *Streptococcus dysgalactiae*) (BRADLEY, 2002; SANTOS; FONSECA, 2007).

Os *Staphylococcus* coagulase negativa ganharam uma maior atenção nos últimos anos por serem considerados os patógenos mais isolados nos casos de mastite subclínica em várias regiões do mundo (REYHER et al., 2011; SZTACHANSKA et al., 2016). Estudos recentes demonstraram a presença desses patógenos no ambiente do animal (PIESSENS et al., 2011), amostras de leite (SANTOS et al., 2008) e também relacionado a pele do úbere (TAPONEN et al., 2008).

A principal forma de controle da mastite é um programa efetivo de identificação dos patógenos mais comuns no rebanho, visando diminuir o número de animais infectados, assim como protocolos de higiene antes, durante e depois da ordenha, a fim de evitar a disseminação da infecção entre os animais.

2.2 Sistema de confinamento *Compost Bedded Pack Barn*

O *Compost Barn* (celeiro de compostagem) é um sistema de confinamento composto por um galpão baseado em uma área de descanso coberta, aberta e livre de divisórias para as vacas (JANNI et al., 2007) com a cama constituída de material orgânico, serragem ou maravalha, que sob altas temperaturas (55 a 65°C), promove a destruição de patógenos, dentre eles os causadores de mastite no rebanho. Esse processo de compostagem permite que a urina e as fezes sejam estocadas, formando um semi-composto sólido que pode permanecer por até 24 meses (ECKELKAMP et al., 2016).

O sistema de confinamento CB pode trazer muitos benefícios para o produtor e também para os animais, tais como, aumento no conforto animal por permitir uma maior mobilidade, diminuição na sujidade do úbere, baixa manutenção se comparado ao free-stall, diminuição das afecções de cascos e pernas (OFNER-SCHRÖCK et al., 2015; BURGSTALLER et al., 2016), diminuição da contagem de células somáticas no leite (CCS), aumento da produção, aumento na detecção de cio, diminuição de odores e facilidade no manejo dos dejetos (BARBERG et al., 2007; ENDRES et al., 2007; NRCS, 2007; BEWLEY et al., 2012).

2.2.1 Local de construção do galpão

Em qualquer sistema de produção de leite, o local escolhido para construção do galpão é de extrema importância. O galpão deve ser localizado na orientação leste/oeste para aproveitar os ventos prevalentes no verão e o sol na parte da manhã, maximizando a

ventilação natural. O galpão não deve ser construído próximo as outras instalações, que devem estar localizadas a pelo menos 35 metros de distância, evitando assim, a ocorrência de bloqueio na passagem de ar. O calor e a umidade gerados pela compostagem devem ser eliminados, evidenciando a importância da ventilação do celeiro em permitir a entrada de ar fresco, principalmente no verão (BEWLEY et al., 2012).

Ainda segundo BEWLEY et al. (2012), a base do piso do galpão de *Compost Barn* deve ser de terra, cascalho ou concreto. O mais comum é a utilização de base de terra pelo baixo custo, porém deve-se ter cuidado em locais onde existe lençol freático logo abaixo da construção, nesse caso é recomendado a utilização de base de concreto para que não haja contaminação do lençol freático com os dejetos dos animais.

2.2.2 Estrutura do galpão

Existem diversas estruturas, incluindo aquelas que foram adaptadas de galpões já existentes. Porém algumas recomendações são de extrema importância para que o sistema seja eficiente.

Segundo Bewley et al. (2012) e Black et al. (2014), o galpão deve ser cercado por uma mureta de 1,2 metro de altura, incluindo a mureta que separa a cama do corredor de alimentação, permitindo assim, o controle de umidade dentro do galpão. O pé direito lateral de 4,8 metros é recomendado para permitir uma boa ventilação e facilitar o acesso de maquinários para aeração da cama, limpeza dos corredores e para o trato dos animais. A área aberta acima da parede permite boa aeração e espaço para instalação de ventiladores. Estudos revelam que uma parede de 1,2 metros para segurar a cama do composto é a altura adequada, sendo que muros mais altos impedem a ventilação adequada do galpão. Nas regiões que apresentam meses de frio intenso é necessário minimizar os efeitos de ventos de inverno utilizando cortinas laterais (NRCS, 2007; BEWLEY et al., 2012).

É recomendado que o telhado do composto tenha beiral de 90 cm para evitar o escoamento da água para dentro do composto. No ponto mais alto do telhado recomenda-se a instalação de lanternins que maximizam a ventilação. Telhados muito planos limitam a taxa de ventilação natural acumulando ar quente e úmido (JANNI et al., 2004; BEWLEY et al., 2012).

O corredor de alimentação e os cochos de água devem estar separados da cama para evitar o acúmulo de umidade. O corredor deve ser construído com piso de concreto, a fim de evitar a formação de barro e facilitar a limpeza com trator (JANNI et al., 2004; BEWLEY et

al., 2012). A localização do corredor de alimentação pode variar, estando ele dentro do galpão ou em local anexo ao galpão. Quando anexo ao galpão, é necessário o acesso por diferentes pontos de entrada. O corredor deva ainda possuir 3,6 metros de largura ou 4,2 metros se o bebedouro estiver instalado no lado oposto dos cochos de alimentação. A área de cocho indicada é de 60 a 75 centímetros por animal. O bebedouro deve apresentar 90 centímetros de perímetro por grupo de 15 a 20 vacas (NRCS, 2007; BEWLEY et al., 2012).

Na literatura é possível encontrar diferentes medidas de área de cama por animal, porém o cálculo é feito considerando o tamanho dos animais de cada propriedade. A área para confinamento de vacas Holandesas é de aproximadamente 13 m² por animal. Quanto maior a área por animal, maior será o conforto proporcionado e melhor será o processo de evaporação da urina depositada pelos animais (NRCS, 2007; GALAMA et al., 2011).

Outro aspecto importante na estrutura dos galpões é a ventilação adequada. Os ventiladores de teto auxiliam na ventilação do galpão e também contribuem na secagem da cama. De acordo com Bewley et al. os ventiladores de alto volume e baixa velocidade parecem ter melhor resultado. Se os animais não tiverem resfriamento adequado, eles se aglomeram nos locais onde há circulação de ar natural, deixando a cama mais úmida nesses locais (JANNI et al., 2004; BEWLEY et al., 2012).

2.2.3 Sistema de Compostagem

A compostagem é definida como um processo aeróbio controlado, desenvolvido por uma população diversificada de microrganismos, efetuada em duas fases distintas: a primeira quando ocorrem as reações bioquímicas mais intensas, predominantemente termofílicas; a segunda ou fase de maturação, quando ocorre o processo de umidificação (NETO, 1987).

Em um galpão de compostagem, as fezes, a urina e a cama adicionada fornecem os nutrientes essenciais (carbono, nitrogênio, umidade e microrganismos) necessários para o processo de compostagem. A relação C:N deve ficar próxima de 25:1 e o pH variando entre 6,0 e 8,0, porém estes parâmetros são de difícil controle na rotina da fazenda (BEWLEY et al., 2012).

A reposição de cama deve ser feita antes do composto ficar úmido a ponto de formar torrões e aumentar a sujidade dos animais. Quando a cama atinge este estágio, é recomendável a troca da cama. A frequência de adição de material de cama vai depender da quantidade de evaporação, da densidade animal, estação do ano, temperatura ambiente e

umidade ambiente. Geralmente a cama é adicionada a cada 2 a 6 semanas, em regiões de clima temperado (BEWLEY et al., 2012).

A aeração da cama é feita somente nas camadas superiores, geralmente atingindo de 25 a 30 cm de profundidade. Dessa forma, as camadas inferiores entram em processo anaeróbico e podem se tornar muito secas para que ocorra a atividade bacteriana de decomposição. Portanto a taxa de decomposição provavelmente não é alta o suficiente para gerar composto maduro (NRCS, 2007). Dessa forma, o sistema pode ser classificado como um semi-composto (BLACK, et al., 2014).

A temperatura da cama deve ser mantida próxima ou até 43° C, para manter o processo de compostagem adequado e evitar altas temperaturas que possam afetar o conforto dos animais. O composto retirado pode ser utilizado em culturas de pastejo. Para utilização do composto para comercialização como fertilizante de agricultura orgânica ou em horticultura a temperatura ideal para fermentação é entre 48° C a 65° C, ou seja, o composto deve ser retirado do confinamento e processado em local fechado por um determinado período até que ocorra a redução dos patógenos (PETZEN, et al., 2009).

Outro aspecto importante do processo de compostagem é a diminuição na produção de dejetos líquidos em comparação aos confinamentos do tipo *Free Stall*. No sistema *Compost Barn* os dejetos são armazenados dentro do galpão onde as vacas estão alojadas, mantendo o estrume em forma sólida. Dessa forma, se elimina a necessidade de estruturas de armazenamento adicionais (com exceção dos dejetos do corredor de alimentação) e também oferece a opção de utilização do material do composto para aplicação no solo. No caso de optar por terminar o processo de compostagem, ele já está na forma apropriada (NRCS, 2007).

2.2.4 Manejo do Composto

A cama é geralmente constituída por serragem ou maravalha, que são adicionadas em camadas de 30 a 45 cm para iniciar a compostagem. Esse material deve ser adicionado a cada 2 a 5 semanas com objetivo de manter substrato para ação bacteriana, variando de acordo com a estação do ano, condições climáticas e densidade animal. Alguns produtores preferem adicionar uma quantidade menor uma vez por semana (BARBERG et al., 2007). O composto deve ser revolvido duas vezes ao dia, geralmente no momento da ordenha, para permitir a aeração com a consequente incorporação de oxigênio (PETZEN et al., 2009). A aeração é feita com aproximadamente 18 a 24 cm de profundidade, porém, alguns produtores de

Minnesota têm feito a aeração mais profunda, entre 40-45 cm de profundidade, e observaram uma redução na necessidade de reposição da cama e um aumento da temperatura. A profundidade da descompactação é um ponto crítico, pois o oxigênio incorporado na cama que previne a formação de amônia (ENDRES; BARBERG, 2007; NRCS, 2007). O manejo ineficiente retarda a atividade microbiana e deixa a cama mais úmida, podendo aumentar a sujidade dos animais (PETZEN et al., 2009).

A serragem a ser colocada no composto não pode apresentar umidade superior a 18%, ou seja, a serragem “verde” ou úmida deve ser evitada. A umidade da cama deve ficar entre 40-60% para que ocorra uma boa compostagem. A umidade excessiva inibe a atividade de bactérias aeróbicas, impactando de forma negativa na fermentação (NRCS, 2007; BLACK et al., 2013). Camas bem manejadas e secas promovem maior conforto animal, permitindo que o sistema imunológico funcione adequadamente, reduzindo problemas de locomoção e dos cascos e aumentando a permanência do animal na propriedade (NRCS, 2007).

2.2.5 Saúde do úbere, qualidade do leite e bem-estar animal no sistema *Compost Barn*

Os sistemas de criação intensivos podem influenciar diretamente na saúde dos animais e devido ao crescimento da preocupação em relação ao bem-estar, muito se tem discutido sobre os sistemas de produção. No sistema de criação *Compost Barn* os animais ficam livres dentro do galpão para se locomover e deitar, expressando assim o comportamento natural observado nos animais a pasto (ENDRES; BARBERG, 2007). Em relação às enfermidades de maior incidência que afetam diretamente a saúde e bem-estar, podemos citar as afecções podais. Lobeck et al. (2011), observaram que os animais confinados no sistema CB apresentaram menos lesões de casco e perna em relação aos animais confinados no sistema free-stall. Resultados similares foram observados por Burgstaller et al. (2016), que relataram menor incidência de erosão de casco e hemorragia de sola nos animais confinados em sistema CB. Dessa forma pode-se inferir que esse sistema contribui para a melhoria da saúde dos cascos e pernas, influenciando de forma positiva o bem-estar animal.

A saúde do úbere interfere diretamente na qualidade do leite, sendo que as vacas que apresentam uma melhor saúde de úbere, conseqüentemente produzem leite com melhor qualidade e apresentam menor incidência de mastite subclínica e clínica (ASTIZ et al., 2014; ECKELKAMP et al., 2016; FÁVERO et al., 2015). Segundo Schreiner e Ruegg (2003), os animais com maior sujidade de úbere apresentaram maior CCS e também uma maior probabilidade de isolamento de patógenos ambientais nas amostras de leite. Essa relação

também foi encontrada por Barberg et al. (2007) e Black et al. (2013), onde os animais confinados em CB apresentaram no geral uma menor sujidade de úbere, menor CCS e maior produção de leite. A sujidade de úbere também está relacionada com o manejo da cama. A temperatura da cama não é suficiente para eliminar os patógenos presentes no composto (FÁVERO et al., 2015), portanto, é importante salientar a necessidade do manejo correto da cama, a fim de evitar excesso de umidade e consequente aumento da sujidade do úbere dos animais e aumento dos casos de mastite.

3 CONCLUSÃO

A mastite é uma doença que causa grande prejuízo à pecuária de leite em todo mundo. Um dos grandes desafios é o tratamento, já que os animais submetidos ao mesmo têm o seu leite descartado de acordo com o período de carência do princípio ativo utilizado. Outro inconveniente é a presença de algumas estirpes bacterianas resistentes aos antimicrobianos convencionais. O sistema de criação *Compost Barn* bem manejado pode contribuir para uma menor sujidade de úbere e, conseqüentemente, uma diminuição nos casos de mastite contribuindo também para a melhoria na qualidade do leite.

REFERÊNCIAS

ASTIZ, S.; SEBASTIAN, F.; FARGAS, O.; FERNANDÉZ, M.; CALVET, E. Enhanced udder health and milk yield of dairy cattle on compost bedding systems during the dry period : A comparative study. **Livestock Science**, v. 159, p. 161–164, 2014.

BARBERG, A. E.; ENDRES, M. I.; SALFER, J. A.; RENEAU, J. K. Performance and welfare of dairy cows in an alternative housing system in Minnesota. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 3, p. 1575–1583, 2007.

BEWLEY, J. M.; TARABA, J. L.; DAY, G. B.; DAMASCENO, F. A. Compost Bedded Pack Barn Design: Features and Management Considerations. **University of Kentucky Cooperative Extension Service**, n. 206, 2012.

BLACK, R.A.; TARABA, J. L.; DAY, G.B.; DAMASCENO, F.A.; BEWLEY, J.M. Compost bedded pack dairy barn management , performance , and producer satisfaction. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, p. 8060–8074, 2013.

BLACK, R. A.; TARABA, J. L.; DAY, G. B.; DAMASCENO, F. A.; NEWMAN, M. C.; AKERS, K. A.; WOOD, C. L.; MCQUERRY, K. J.; BEWLEY, J. M. The relationship between compost bedded pack performance, management, and bacterial counts. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 5, p. 2669–79, 2014.

BLOWEY, R. W.; EDMONDSON, P. W. (1995). Mastitis control in dairy herds. pp. 29. **Ipswich, Farming Press**

BURGSTALLER, J.; RAITH J.; KUCHLING, S.; MANDI, V.; HUND, A.; KOFLER, J. Claw health and prevalence of lameness in cows from compost bedded and cubicle freestall dairy barns in Austria. **The Veterinary Journal**, v. 216, p. 81–86, 2016.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals: Approved standard. 2. ed. Wayne, PA: CLSI / NCCLS, 2002. 86 p. **NCCLS document M31-A2**.

CLSI 2013b. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard—Fourth Edition (Wayne, Clinical and Laboratory Standards Institute), 94.

COSTA, E.O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.1, p.21-26, 1991.

ECKELKAMP, E. A.; TARABA, J. L.; AKERS, K. A.; HARMON, R. J.; BEWLEY, J. M. Sand bedded freestall and compost bedded pack effects on cow hygiene , locomotion , and mastitis indicators. **Livestock Science**, v. 190, p. 48–57, 2016a.

ECKELKAMP, E. A.; TARABA, J. L.; AKERS, K. A.; HARMON, R. J.; BEWLEY, J. M. Understanding compost bedded pack barns : Interactions among environmental factors, bedding characteristics, and udder health. **Livestock Science**, v. 190, p. 35–42, 2016b.

ENDRES, M. I.; BARBERG, A. E. Behavior of dairy cows in an alternative bedded-pack housing system. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 9, p. 4192–4200, 2007.

FAVERO, S.; PORTILHO, F. V. R.; OLIVEIRA, A. C. R.; LANGONI, H.; PANTOJA, J. C. F. Longitudinal Trends and Associations between Compost Bedding Characteristics and Bedding Bacterial Concentrations. **Journal of Agricultural Science**, v. 7, n. 10, p. 58–70, 2015.

FÁVERO, S.; PORTILHO, F. V. R.; OLIVEIRA, A. C. R.; LANGONI, H.; PANTOJA, J. C. F. Factors associated with mastitis epidemiologic indexes, animal hygiene, and bulk milk bacterial concentrations in dairy herds housed on compost bedding. **Livestock Science**, v. 181, p. 220–230, 2015.

GALAMA P. Prospects for bedded pack barns for dairy cattle. **Wageningen UR Livestock Research**, Lelystad, The Netherlands, 2011.

HEBERT, A.; SAYASITH, K.; SENECHAL, S.; DUBREUIL, P.; LAGACE, J. Demonstration of intracellular *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis alveolar cells and macrophages isolated from naturally infected cow milk. **FEMS Microbiology Letters**, v. 193, p. 57-62, 2000.

JANNI, K. A.; ENDRES, M. I.; RENEAU, J. K.; SCHOPER, W.W. Compost dairy barn layout and management recommendations. **Applied Engineering in Agriculture**, v.23, p.97–102, 2007.

LOBECK, K. M.; ENDRES, M.I.; SHANE, E.M.; GODDEN, S. M.; FETROW, J. Animal welfare in cross-ventilated, compost-bedded pack, and naturally ventilated dairy barns in the upper Midwest. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 11, p. 5469–79, 2011.

NMC Publication "Current Concepts of Bovine Mastitis" p. 1, 1996.

NMC Newsletter "Udder Topics", August, 2000, Excerpted from the Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs "**Animal Health News**. v. 7, n. 4, December 1999.

NRCS. Compost Bedded Pack Dairy Barns. Manure Management Technology Development Team. **East National Technology Support Center**, n.3, 2007.

OFNER-SCHRÖCK, E., ZÄHNER, M., HUBER, G., GULDIMANN, K., GUGGENBERGER, T. AND GASTEINER, J. Compost Barns for Dairy Cows—Aspects of Animal Welfare. **Open Journal of Animal Sciences**, 5, 124-131, 2015.

OIE. World Organization for Animal Health. Laboratory methodologies for bacterial antimicrobial susceptibility testing. In: OIE. **Manual of diagnostic tests and vaccine for terrestrial animals**. Paris: OIE, (Capítulo 1.1.6, p. 56-65). 2008a.

OIE. World Organization for Animal Health. Harmonization of national antimicrobial resistance surveillance and monitoring programs. In: OIE. **Terrestrial animal health code**. Paris: OIE, (Capítulo 6.5. p. 1-7), 2008b..

PEREIRA NETO, J. T. Lixo Urbano no Brasil: Descaso, Poluição Irreversível e Mortalidade Infantil. *Ação Ambiental - Universidade Federal de Viçosa*, agosto/setembro, p. 8-11. 1998.

PETZEN, J.; WOLFANGER, C.; BONHOTAL, J.; SCHWARZ, M.; TERRY, T.; YOUNGERS, N. Case Study: **Eagleview Compost Dairy Barn**, 2009.

PIESSENS, V.; DE VliegHER, S.; VERBIST, B.; BRAEM, G.; VAN NUFFEL, A.; DE VUYST, L.; HEYNDRIKX, M.; VAN COILLIE, E. Intra-species diversity and epidemiology varies among coagulase-negative Staphylococcus species causing bovine intramammary infections. **Journal of Veterinary Microbiology**, 155 (1): 62-71, 2012.

RADOSTITS, O. M., LESLIE, K. E. & FETROW, J. Herd Health: Food Animal Production Medicine. Philadelphia, PA., **Saunders**. p. 233, 1994.

REYHER, K. K. S.; DUFOUR, H. W.; BARKEMA, L.; DES CÔTEAUX, T. J.; DEVRIES, I. R.; DOHOO, G. P.; KEEFE, J. P.; ROY D. T.; SCHOLL. The national cohort of dairy farms. A data collection platform for mastitis research in Canada. **Journal of Dairy Science**. 94:1616–1626, 2011.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. São Paulo: **Manole**, 2007.

SANTOS, O. C. S.; BARROS, E. M.; BRITO, M. A. V. P.; BASTOS, M. C. F.; SANTOS, K. R. N.; GIAMBIAGI-DEMARVAL, M. Identification of coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis using RFLP-PCR of the groEL gene. **Veterinary Microbiology**, 130:134–140, 2008.

SCHREINER, D. A. E RUEGG, P. L. Relationship Between Udder and Leg Hygiene Scores and Subclinical Mastitis. **Journal of Dairy Science**, 86:3460–3465, 2003.

SZTACHANSKA, M.; BARANSKI, W.; JANOWSKI, T.; POGORZELSKA, P.; ZDUNCZY, S. Prevalence and etiologic agents of subclinical mastitis at the end of lactation in nine dairy herds in northeast Poland. **Polish Journal of Veterinary Science**, 19:119–124, 2016.

TAPONEN, S.; BJÖRKROTH, J.; PYÖRÄLÄ, S. Coagulase-negative staphylococci isolated from bovine extramammary sites and intramammary infections in a single dairy herd. **Journal of Dairy Research**, 75:422–429, 2008.

CAPÍTULO 2

EPIDEMIOLOGIA DA MASTITE E INTERAÇÕES ENTRE FATORES AMBIENTAIS E SAÚDE DO ÚBERE NO SISTEMA *COMPOST BARN*

1 INTRODUÇÃO

O *compost barn* (CB) é um sistema de confinamento para vacas leiteiras que surgiu no estado da Virgínia (EUA) e atualmente é utilizado em várias partes do mundo. O galpão é baseado em uma área coberta, sem divisórias e constituído por cama orgânica formada geralmente por serragem ou maravalha, que por meio da incorporação das fezes e urina dos animais, produz um semi-composto orgânico, que pode ser armazenado por até 24 meses (ECKELKAMP et al., 2016). O composto requer adição periódica de material de cama e deve ser revolvido duas a três vezes ao dia, geralmente no momento da ordenha, para permitir a aeração da cama com a consequente incorporação de oxigênio para que ocorra o processo de compostagem por microrganismos aeróbios (JANNI et al., 2006; PETZEN et al., 2009; BEWLEY et al., 2012). Um manejo eficiente da cama proporciona uma superfície seca e confortável para os animais (BARBERG et al., 2007a; BLACK et al., 2013). Para uma compostagem eficiente, a temperatura e a umidade da cama devem apresentar níveis adequados. A temperatura interna do CB na profundidade de 15 a 30 cm deve ficar entre 44 a 65°C e a umidade deve variar entre 40 a 60% (BEWLEY et al., 2012).

Camas constituídas de matéria orgânica apresentam uma alta concentração de bactérias ambientais causadoras da mastite quando comparadas com camas constituídas de materiais inorgânicos (HOGAN et al., 1989). A alta concentração de bactérias ambientais na cama está diretamente relacionada à incidência de mastite clínica (HOGAN et al., 1989) e também ao aumento da contagem de bactérias na porção final dos tetos (HOGAN; SMITH, 1997; ZDANOWICZ et al., 2004). Um trabalho conduzido por Schreiner e Ruegg (2003), demonstrou que animais com maior escore de sujidade de úbere (3 e 4) tinham 1.5 mais chance de obter patógenos isolados das amostras de leite em relação aos animais com escore de sujidade menor (1 e 2).

Barberg et al. (2007) e Black et al. (2014) encontraram uma concentração média total de bactérias na cama do CB na ordem de 7.0 log₁₀ UFC/g e 8.2 log₁₀ UFC/g respectivamente. Um estudo mais recente realizado por Fávero et al. (2015) também encontrou uma alta

concentração de bactérias totais na cama do CB ($>8.0 \log_{10}$ UFC/g). Dessa forma, fica evidente a elevada pressão de infecção por patógenos ambientais, caso não ocorra um manejo adequado da cama e ressalta a importância dos procedimentos de higiene a ordenha (HOGAN et al., 1989).

Alguns estudos realizados com a finalidade de investigar a incidência de mastite em rebanhos manejados no CB têm mostrado resultados contraditórios. Astiz et al. (2014) conduziram estudo com vacas no período seco e observaram que, no início da lactação, os animais apresentaram bons resultados com redução na incidência de mastite, tendência na redução da CCS (39% menos que o grupo alojado em galpão com cama de palha) e aumento na produção de leite nos primeiros 100 dias pós-parto (6.8% a mais em relação ao outro grupo). Entretanto, Svennesen (2014) demonstrou em estudo que após o quinto mês experimental, animais manejados no sistema CB tiveram um aumento de 60.000 a 80.000 células somáticas/mL em comparação aos animais alojados no sistema *free-stall*.

Poucos estudos foram conduzidos no Brasil acerca do confinamento de gado de leite no sistema CB. O principal objetivo desse estudo longitudinal foi avaliar a epidemiologia da mastite subclínica e clínica e correlacionar características da cama com a sujidade de úbere e com a qualidade do leite em animais confinados no sistema CB. Um segundo objetivo foi caracterizar o padrão de infecção dos rebanhos em relação aos microrganismos contagiosos e ambientais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Seleção das fazendas e amostragem

Foram avaliadas três fazendas no estado de Minas Gerais que implementaram o sistema CB, sendo duas fazendas da região Sul do estado (municípios de Itamonte e Cruzília) e uma na região do Campo das Vertentes (município de Barbacena). O critério de inclusão das fazendas foi a adoção do sistema de CB como único tipo de confinamento para os animais em lactação e comprometimento com os protocolos do estudo.

As fazendas do Sul de Minas foram visitadas durante o período de Outubro de 2014 até Fevereiro de 2016 (Itamonte) e Fevereiro de 2015 até Fevereiro de 2016 (Cruzília). O período de estudo na fazenda do Campo das Vertentes foi de Maio de 2016 até Fevereiro de 2017.

2.2 Características das fazendas e do rebanho

A fazenda 1 possuía 81 ± 9 vacas da raça Holandesa em lactação, ordenhadas três vezes ao dia. A ordenha era feita com ordenhadeira mecânica, em uma sala de concreto com sistema em espinha de peixe, e o leite armazenado em tanque de expansão. A produção total de leite/dia era de aproximadamente 2.713 Kg com produção média de 33,5 Kg/vaca. O CB tinha sido instalado há oito meses e possuía um galpão com uma área de 80 x 12m (média de 11m^2 por vaca) constituído por cama de serragem revolvida 2x dia, no momento da ordenha, com subsolador e enxadinha rotativa. A adição de cama nova (serragem) era feita periodicamente de acordo com a avaliação do veterinário responsável. O galpão possuía 11 ventiladores em toda extensão (sentido longitudinal) e o acesso dos animais a pista de alimentação e bebedouros era feito por dentro do galpão. A rotina de higiene durante a ordenha consistia na realização do predipping, (descarte dos primeiros jatos de leite numa caneca de fundo escuro, secagem dos tetos com toalhas de papel individuais) e o uso de iodo no postdipping.

A fazenda 2 possuía 158 ± 10 vacas da raça Holandesa em lactação, que eram ordenhadas 3x ao dia. A ordenha era feita com ordenhadeira mecânica, sistema de espinha de peixe e o leite era armazenado em tanque de expansão. A produção total de leite/dia era de aproximadamente 3.575 Kg, com produção média de 34,7 Kg/vaca. O CB tinha sido implementado no mês que iniciou o estudo (02/2015) e possuía um galpão com 90 x 14m (média de 9 m^2 por vaca) constituído por cama de serragem. A cama era revolvida duas vezes ao dia com subsolador e a enxadinha rotativa, com adição de cama nova periodicamente de acordo com a avaliação do funcionário responsável. O galpão possuía 13 ventiladores em toda sua extensão longitudinal e o acesso dos animais a pista de alimentação e bebedouros era feito de dentro do galpão. A rotina de higiene de ordenha consistia na realização de predipping, (descarte dos primeiros jatos de leite numa caneca de fundo preto, secagem dos tetos com toalhas de papel individual) e uso de solução de 1% de iodo no postdipping.

A fazenda 3 possuía 147 ± 12 vacas Holandesas em lactação, que eram ordenhadas duas vezes ao dia, sistema espinha de peixe com ordenhadeira mecânica. A produção total de leite/dia era de aproximadamente 4.993 Kg, com produção média de 35,41 Kg/vaca. O CB foi instalado em setembro/2015 e as coletas se iniciaram oito meses após sua instalação, com galpão de 28,5 x 90 m^2 (14 m^2 /vaca) constituído por uma cama de serragem. A cama era revolvida duas vezes ao dia com subsolador e enxadinha. O galpão possuía ventiladores dispostos longitudinalmente e em toda sua extensão e o acesso dos animais ao cocho e

bebedouros era pelo corredor de alimentação (concreto 3,5m x 90m), além de possuir sistema de aspersão de água para resfriamento dos animais. A rotina de higiene da ordenha consistia na realização de predipping, (limpeza dos tetos com solução de cloro, descarte dos primeiros jatos de leite na caneca de fundo escuro, secagem dos tetos com toalha de papel individual) e uso de solução de iodo a 1% no postdipping.

2.3 Amostragem do leite para contagem de células somáticas e cultivo microbiológico

Durante o período experimental foram feitas 13 visitas à fazenda 1 (Out/2014, Nov/2014, Dez/2014, Jan/2015, Fev/2015, Mar/2015, Mai/2015, Jun/2015, Jul/2015, Ago/2015, Nov/2015, Jan/2016 e Fev/2016), nove visitas à fazenda 2 (Fev/2015, Mar/2015, Mai/2015, Jun/2015, Jul/2015, Ago/2015, Nov/2015, Jan/2016 e Fev/2016) e cinco visitas à fazenda 3 (Mai/2016, Jun/2016, Jul/2016, Dez/2016 e Fev/2017).

Amostras compostas individuais de leite, em duplicata, foram coletadas para posterior realização da contagem de células somáticas (CCS) de todos os animais em lactação, bem como amostras compostas individuais em duplicata de todos os quartos mamários, de forma asséptica, para realização de cultivo microbiológico.

Os casos de mastite clínica foram identificados no teste da caneca de fundo escuro com a presença de anormalidades no leite (grumos, pus e mudança de cor) e tiveram amostra coletada e congelada antes da antibioticoterapia. Esses casos foram anotados pelo ordenhador durante o período do estudo em cada fazenda.

2.4 Avaliação da sujidade do úbere

No período experimental, foi realizada avaliação da sujidade de úbere de todas as vacas em lactação, antes da ordenha. A avaliação foi realizada segundo Schreiner e Ruegg (2003) baseada em uma escala de 4 pontos, onde 1 foi considerado limpo (sem sujeira), 2 foi considerado pouco sujo (2 a 10% de sujidade), 3 foi considerado moderadamente sujo (10 a 30% de sujidade) e o escore 4 foi considerado muito sujo (mais de 30% de sujidade). A avaliação foi realizada por um único avaliador durante todo o período do estudo.

2.5 Procedimentos de isolamento e identificação microbiológica e contagem de células somáticas

As amostras individuais de leite para cultivo microbiológico foram processadas no Laboratório de Microbiologia do Leite da Embrapa Gado de Leite, segundo as recomendações do NMC (NMC, 2004). As infecções intramamárias foram identificadas pela presença de três ou mais colônias do mesmo tipo, com exceção do *S. aureus*, onde foi necessário o crescimento de apenas uma colônia. Crescimentos considerados não significativos (menos de 3 colônias) foram considerados negativos. O crescimento de três ou mais colônias diferentes foram considerados como contaminação da amostra.

A análise do leite para CCS das amostras de leite foi realizada no Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite. O método utilizado foi o de citometria de fluxo, por meio de equipamento eletrônico Bentley 75 Somacount 300, com determinação em células mL⁻¹, de acordo com a International Dairy Federation (IDF, 2006).

2.6 Procedimentos de coleta e análise da cama

A coleta de amostras de cama foi realizada nas fazendas 1 e 2. Foram dez coletas de amostras na fazenda 1 (Out/14, Nov/14, Dez/14, Jan/15, Fev/15, Mar/15, Mai/15, Jul/15, Ago/15 e Fev/16) e 5 coletas de amostras na fazenda 2 (Fev/15, Mar/15, Mai/15, Ago/15 e Fev/16), no momento das visitas, coletando desde a superfície do composto até cerca de 5 cm de profundidade no primeiro estrato. Para o segundo estrato, o material foi coletado à 20 cm de profundidade e o terceiro estrato à 30 cm de profundidade. As amostras foram transportadas em caixa isotérmica sob refrigeração até o laboratório da UFJF e Embrapa Gado de Leite.

Para a determinação da comunidade microbiana, ou seja, o número de bactérias, as amostras foram colocadas em frascos estéreis e levadas ao laboratório. Posteriormente, salina 0,9% foi adicionada em uma alíquota homogeneizada de cada amostra, e as mesmas foram levadas ao banho ultrassônico por 1 minuto. Semearam-se 100µL de cada amostra em placas com ágar tripton de soja (TSA). Após 24 horas em estufa bacteriológica a 35°C, as unidades formadoras de colônia (UFC) foram contadas com o auxílio de microscópio estereoscópico. Foram feitas as médias da densidade bacteriana de amostras coletadas em três pontos do CB: linha do comedor, linha do bebedor e linha média. Em cada linha foram utilizadas as amostras

coletadas da superfície da cama. Essas avaliações foram realizadas no laboratório de Ecologia e Microbiologia Molecular de Microrganismos da Universidade Federal de Juiz de Fora.

As análises de umidade foram feitas na Embrapa Gado de Leite no Laboratório de Análise de Alimentos - LAA.

2.7 Ordem de parto e período de lactação

A ordem de parto e o período de lactação foram obtidos dos bancos de dados de cada fazenda.

2.8 Análise estatística

2.8.1 Definições e padrões utilizados na classificação dos animais em função da contagem de células somáticas e identificação dos patógenos

Os resultados de CCS foram utilizados para estimar a presença de infecção intramamária, e o limite indicativo de infecção subclínica foi de > 200.000 células/mL. A incidência de mastite clínica foi determinada pelo número de vacas com mastite durante o período de um mês, dividido pelo número de vacas em lactação no dia do teste.

Os patógenos da mastite isolados durante o estudo foram também agrupados em ambientais (coliformes, estreptococos ambientais, *Prototheca* spp, *Trueperella pyogenes* e *Pseudomonas* spp), contagiosos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Corynebacterium* spp) e oportunistas (*Staphylococcus* coagulase negativa) (SANTOS; FONSECA, 2007).

O ano foi dividido em dois períodos. Os meses de Novembro a Abril foram considerados período 1 e os meses de Maio a Outubro período 2. Os dados de precipitação total, umidade relativa e temperatura média foram obtidos das estações meteorológicas do Instituto Nacional de Meteorologia.

Quadro 1 – Classificação das vacas quanto a dinâmica da mastite subclínica baseada em dois resultados mensais de CCS (x1.000 células/mL)

Mês anterior	Mês posterior	Classificação
CCS \leq 200	CCS \leq 200	Sadia
CCS \leq 200	CCS $>$ 200	Nova infecção
CCS $>$ 200	CCS \leq 200	Eliminação da infecção
CCS $>$ 200	CCS $>$ 200	Infecção crônica

A classificação das vacas para avaliação da prevalência e incidência de patógenos contagiosos, ambientais e oportunistas foi baseada em dois resultados mensais de exames microbiológicos de acordo com o quadro 2 (CARDOZO et al., 2015).

Quadro 2 – Classificação das vacas para avaliação da prevalência e incidência de patógenos contagiosos, ambientais e oportunistas baseada em dois resultados mensais consecutivos de exames microbiológicos

Mês anterior	Mês posterior	Classificação
Sem isolamento	Sem isolamento	Sadia
Sem isolamento	Isolamento	Nova infecção
Isolamento	Sem isolamento	Eliminação da infecção
Isolamento	Isolamento	Infecção crônica

2.8.2 Procedimentos analíticos

As análises dos resultados foram realizadas utilizando-se o programa estatístico Epiinfo™ (2011).

De cada coleta foi calculada a frequência de mastite subclínica por rebanho sem considerar o tipo de agente isolado e de acordo com o agente isolado. Foi considerada a frequência média do rebanho a média aritmética das frequências de cada coleta.

Para avaliar associações entre os tipos de patógenos causadores de mastite e escore de sujidade, período de lactação, ordem de parto e período do ano foi utilizada o teste de qui-quadrado. Os patógenos foram classificados em *S. aureus*, *S. agalactiae*, *Streptococcus* spp que não *S. agalactiae*, *Staphylococcus* coagulase negativa e *Corynebacterium* spp e os partos foram classificados em 1, 2 e maior ou igual a 3 (SAMPAIO,1998).

Para a análise dos fatores de risco foram utilizados modelos de regressão logística descritos por Lemeshow e Hosmmer (1984), Hosmmer Lemeshow (1989) e Frankena e Graat

(1997). A estratégia para construção do modelo final de regressão logística foi baseada em Frankena e Graat (1997). Foram realizadas análises bivariadas para testar associações entre cada variável independente do modelo de regressão logística (fatores de risco). O Teste Qui-quadrado (χ^2) para variáveis categóricas foi usado para avaliar as associações. O critério de decisão para a escolha dos fatores de risco foi o que oferecia explicação biológica coerente para presença do patógeno e que na associação apresentaram $p < 0,20$. Após a seleção do modelo final de regressão logística foram observados os coeficientes beta (β) de cada variável independente para se estimar o grau de risco (“ODDS RATIO” - OR).

Quadro 3 – Variáveis dependentes e independentes, significados e respostas usadas nos modelos finais de regressão logística para avaliar fatores de risco associados aos agentes da mastite

Agente (ausência = 0; presença=1)	Variável	Significado	Respostas
STACN	DEL	Dias em lactação	0 a 100 = 1; 101 a 200 = 2; 201 a 305 = 3
	OP	Ordem de parto	1 = 1; 2 = 2; 3 = ≥ 3
STRAG	DEL	Dias em lactação	0 a 100 = 1; 101 a 200 = 2; 201 a 305 = 3
	OP	Ordem de parto	1 = 1; 2 = 2; 3 = ≥ 3
	ES	Escore de sujidade	1 = 1; 2,3 e 4 = 2
ESTREP	DEL	Dias em lactação	0 a 100 = 1; 101 a 200 = 2; 201 a 305 = 3
	OP	Ordem de parto	1 = 1; 2 = 2; 3 = ≥ 3
	ES	Escore de sujidade	1 = 1; 2,3 e 4 = 2
	PERÍODO	Período do ano	Seco = 1; Águas = 2

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Perfil dos patógenos isolados dos casos de mastite

O presente estudo apresenta informações relevantes sobre a epidemiologia da mastite e suas consequências na qualidade do leite no sistema CB em condições tropicais. Patógenos contagiosos foram os mais prevalentes nos isolamentos da mastite clínica da fazenda 1 (43,8%), sendo que desses isolamentos todos foram *S. agalactiae*. Os patógenos ambientais foram os casos mais frequentes de isolamento de mastite clínica na fazenda 2 (71%), sendo *E.*

coli o patógeno ambiental mais prevalente dos isolamentos (44,7%) e patógenos contagiosos um total de 5,3%. Patógenos oportunistas foram isolados em 15,6% e 5,3% dos casos clínicos para as fazendas 1 e 2 respectivamente (Tabela 1). Não houveram isolamentos de *Klebsiella pneumoniae*. Na fazenda 3, não foi possível analisar os isolamentos de mastite clínica pois os animais foram tratados com antimicrobiano antes da coleta das amostras.

Tabela 1– Resultados dos exames microbiológicos (mastite clínica) na Fazenda 1 (município de Itamonte) e Fazenda 2 (município de Cruzília), Minas Gerais

Agente etiológico	Fazenda 1		Fazenda 2	
	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	-	-	17	44,7
<i>Pseudomonas</i> spp	-	-	1	2,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	2	5,3
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	5	15,6	2	5,3
<i>Streptococcus agalactiae</i>	14	43,8	-	-
<i>Streptococcus</i> spp	-	-	6	15,8
<i>Streptococcus uberis</i>	1	3,1	3	7,9
Sem crescimento	11	34,4	5	13,2
Material contaminado	1	3,1	2	5,3
Total	32	100	38	100

As fazendas participantes do estudo apresentaram também um padrão distinto de infecção subclínica da glândula mamária. Na fazenda 1 foi observado um maior número de casos de mastite subclínica causados por patógenos contagiosos e oportunistas (33,5% e 29,0% do total de casos respectivamente). *Streptococcus agalactiae* foi o patógeno mais isolado, totalizando 31,6%, seguido pelo *Staphylococcus* coagulase negativa com 29,0%. Nas fazendas 2 e 3 o maior número de casos foi devido a infecção por patógeno oportunista (*Staphylococcus* coagulase negativa) totalizando 30,5% e 19,2% dos casos respectivamente. Patógenos ambientais foram isolados em 5,3 %, 6,7 % e 16,8% do total de casos para as fazendas 1, 2 e 3 respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2– Resultados dos exames microbiológicos do leite (mastite subclínica) na Fazenda 1 (município de Itamonte), Fazenda 2 (município de Cruzília) e Fazenda 3 (município de Barbacena), Minas Gerais

Agente etiológico	Fazenda 1		Fazenda 2		Fazenda 3	
	n	%	n	%	n	%
<i>Corynebacterium</i> sp.	2	0,2	33	4,1	45	16,6
<i>Enterococcus</i> sp.	7	0,7	5	0,6	1	0,4
<i>Escherichia coli</i>	6	0,6	2	0,2	1	0,4
<i>Protheus</i> sp.	1	0,1	-	-	-	-
<i>Prototheca</i> sp.	-	-	-	-	1	0,4
<i>Pseudomonas</i> sp.	-	-	-	-	1	0,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	1,8	27	3,4	-	-
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	287	30,0	245	30,5	51	18,7
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	15	1,6	17	2,1	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	312	32,6	-	-	1	0,4
<i>Streptococcus equinus</i>	10	1,0	4	0,5	7	2,6
<i>Streptococcus</i> sp.	18	1,9	32	4,0	7	2,6
<i>Streptococcus uberis</i>	11	1,1	11	1,4	23	8,5
<i>Trueperella pyogenes</i>	-	-	-	-	3	1,1
Sem crescimento	269	28,1	342	42,8	107	39,4
Material contaminado	3	0,3	83	10,3	23	8,5
Total	958	100,0	802	100,0	271	100,0

A distribuição dos patógenos isolados dos casos de mastite clínica e subclínica foram similares aos reportados no Brasil e em outros países com outros sistemas de produção tipo *free stall* (JOBIM et al., 2010; OLIVEIRA; RUEGG, 2014; FÁVERO et al., 2015). Em concordância com esses autores, a ausência de crescimento foi um resultado frequente nos isolamentos (35,5%), enquanto que *E. coli* com 24,2% e *S. agalactiae* com 20% foram os patógenos mais isolados de todos os casos de mastite clínica.

Os patógenos isolados dos casos de mastite subclínica foram caracterizados pela alta prevalência de *S. agalactiae* na fazenda 1 e *Staphylococcus* spp coagulase negativa nas fazendas 2 e 3. A fazenda 3 apresentava um manejo com controle rigoroso de microrganismos contagiosos, no qual todas as vacas recém paridas eram submetidas a três exames microbiológicos consecutivos, com intervalo de uma semana, para detecção de *S. aureus* e *S. agalactiae*, e aquelas com exames positivos eram descartadas do rebanho. Atualmente, em propriedades onde os agentes primários da mastite estão controlados, os agentes oportunistas têm se tornado emergentes e importantes como causas de infecção intramamária em vacas leiteiras (PYORALA; TAPONEN, 2009).

Entretanto, nos rebanhos brasileiros ainda é comum encontrar uma alta prevalência de patógenos contagiosos da mastite (BUENO et al., 2008; FÁVERO et al., 2015). Souza et al. (2013) em um estudo conduzido nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, encontraram alta prevalência de *S. aureus* e *S. agalactiae* nos 112 rebanhos analisados, o que corrobora com os resultados encontrados nesse estudo. É importante ressaltar que isso pode estar associado principalmente à deficiência do manejo na ordenha, o que facilita a disseminação desses microrganismos.

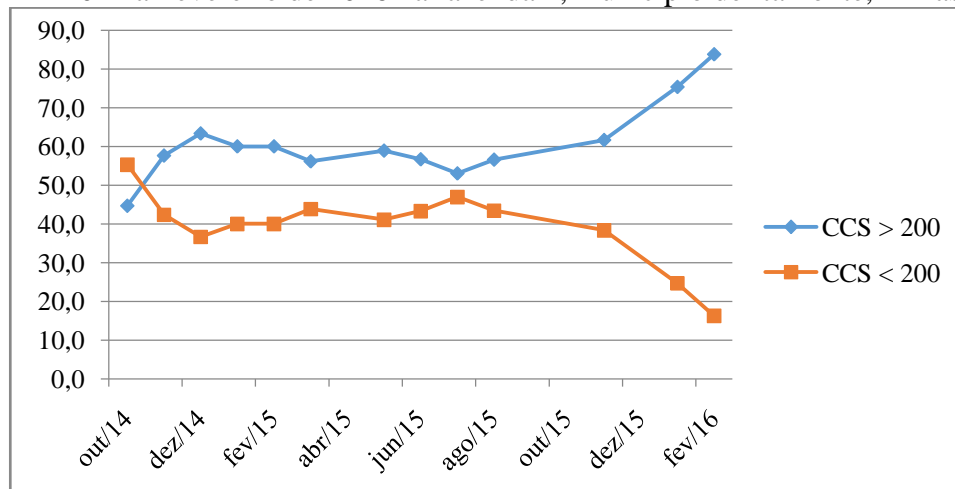
3.2 Epidemiologia da mastite

3.2.1 Fazenda 1

A figura 1 mostra a prevalência da infecção subclínica durante o período do estudo, em que foi possível observar um maior percentual de animais com CCS acima de 200.000 células/mL, principalmente durante os meses de maior precipitação do ano de 2016, onde houve aumento desse percentual. Um trabalho realizado por Machado (1998) corrobora com os resultados encontrados no presente estudo, indicando que a CCS pode aumentar nos meses mais quentes do ano em decorrência de uma menor resistência imunológica e aumento na incidência de infecções intramamárias em decorrência do estresse térmico nesses períodos mais quentes do ano.

Outro fator que pode contribuir para o aumento da CCS é a existência de elevado número de vacas em final de lactação. Ao final da lactação a CCS aumenta (OSTRENSKY, 1999) porque há maior ocorrência de casos de mastite e também devido à concentração das células somáticas que ocorre em função da redução fisiológica do volume de leite produzido (HARMON, 1994; PHILPOT & NICKERSON, 2002).

Figura 1 – Dinâmica da infecção subclínica (células x 1000/mL) no período de Outubro de 2014 a Fevereiro de 2016 na fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais



Outra razão para o aumento da CCS foi a alta prevalência de *S. agalactiae* no rebanho. Os animais da fazenda 1 apresentaram 2,6 vezes mais chance de apresentar a CCS > 200.000 células/mL em relação aos animais das outras duas fazendas (Tabela3). Resultados similares foram encontrados por Souza et al. (2009), onde o maior aumento da CCS nos 24 rebanhos analisados estava relacionado à infecção por *S. agalactiae*. Dessa forma pode-se inferir que o CB não influencia o perfil de infecção por patógenos contagiosos, visto que esses patógenos estão mais relacionados aos procedimentos de higiene durante a ordenha.

Tabela 3 – Correlação da infecção por *Streptococcus agalactiae* e contagem de células somáticas (células x 1000/mL)

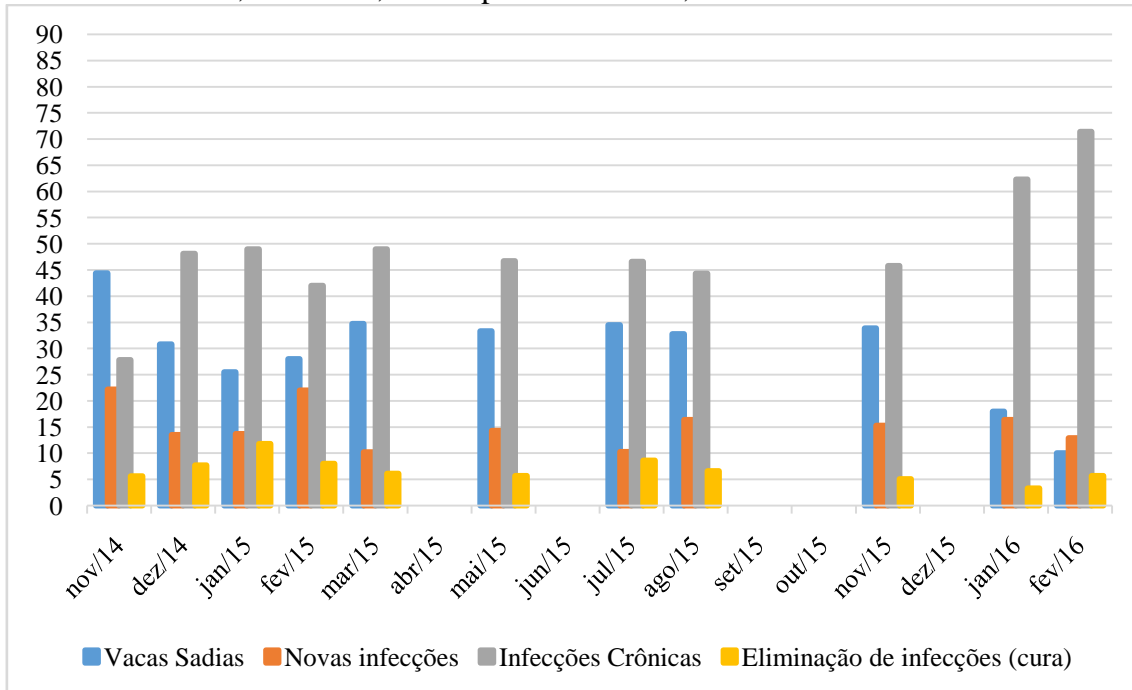
	Fazenda 1		Fazendas 2 e 3		p-valor
	n	%	n	%	
CCS					
≤ 200	326	25,9	934	74,1	<0,001
> 200	522	56,1	408	43,9	
OR					
			(IC 95%)		
			3,666		
			(3,059 -4,392)		

Teste qui-quadrado

Na fazenda 1 foi possível ainda observar com base na análise da CCS uma diminuição na taxa de animais sadios e na taxa de novas infecções, com conseqüente aumento na taxa de infecções crônicas no rebanho. A taxa de cura teve uma flutuação durante o período do estudo, porém não apresentou tendência de diminuição ou aumento (Figura2). O pico da taxa de infecção crônica foi de 71,4% no mês de Fevereiro de 2016, com conseqüente diminuição de animais sadios no mesmo mês (10 %). Essa variação pode estar relacionada principalmente

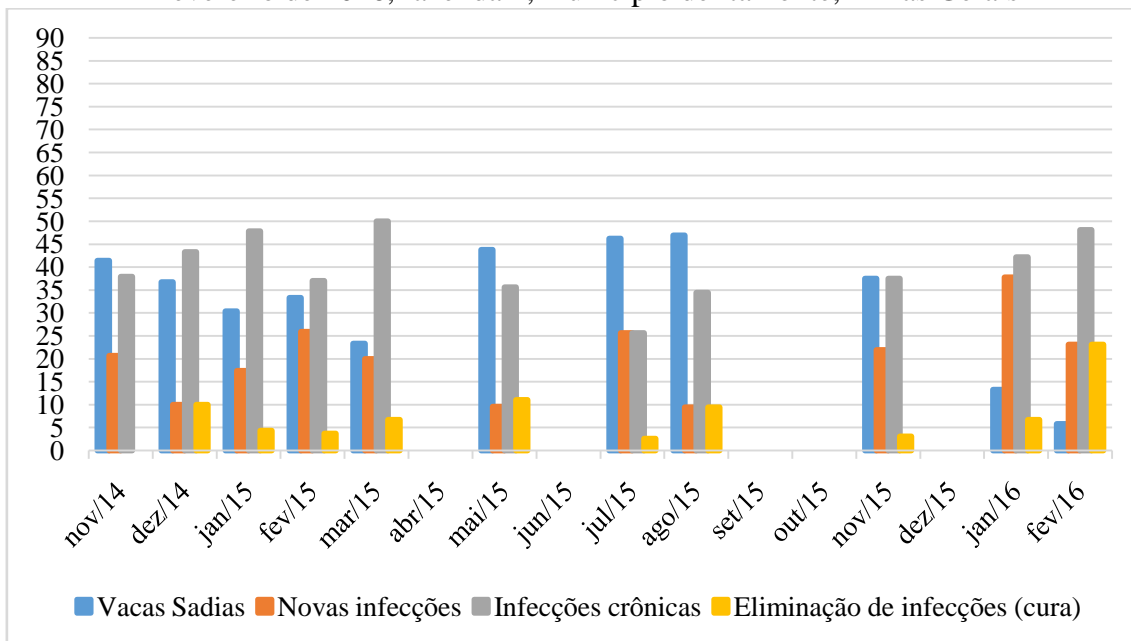
a alta prevalência de *S. agalactiae* no rebanho, que influencia diretamente no comportamento da CCS (SOUZA et al., 2009).

Figura 2 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados de contagem de células somáticas no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais



Com relação à incidência de patógenos contagiosos, observou-se um comportamento similar à dinâmica da mastite subclínica baseada na CCS, o que pode ser explicado também devido à alta prevalência de *S. agalactiae*. A taxa de animais sadios teve flutuação, mas diminuiu nos meses finais do período observado coincidindo com o aumento na taxa de animais crônicos e na taxa de novas infecções de patógenos contagiosos (Figura3).

Figura 3 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos para patógenos contagiosos da mastite no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais



As figuras 4 e 5 apresentam as infecções por patógenos contagiosos e patógenos oportunistas. Observou-se uma maior prevalência de *S. agalactiae* em relação ao *S. aureus*. A prevalência de *S. agalactiae* chegou a 50,5 % no mês de Fevereiro, precedida por uma incidência de 31,6 % no mês de Janeiro. É importante ressaltar que o controle de patógenos contagiosos como o *S. agalactiae* deve ser feito a fim de melhorar a sanidade do rebanho com consequente melhoria na qualidade do leite, visto que a troca do sistema de produção não alterou o perfil de infecção do rebanho por patógenos contagiosos como foi demonstrado nesse estudo e no estudo realizado por Fávero et al. (2015). A incidência e prevalência de *S. aureus* permaneceram baixas durante o período do estudo variando de 0 % a 6 %, sendo difícil inferir que a alta prevalência de *S. agalactiae* tenha influenciado na ocorrência da baixa incidência e prevalência de *S. aureus*.

A incidência de infecções por patógeno oportunista (*Staphylococcus* coagulase negativa) atingiu um pico de 31,1 % no mês de Março de 2015 e apresentou prevalência alta durante todo o período do estudo, variando de 22% a 35,8%. Apesar de já ter sido demonstrado que a alta incidência de patógenos oportunistas esteja relacionada aos rebanhos que apresentam baixa prevalência de patógenos contagiosos (PYORALA; TAPONEN, 2009), aqui foi possível observar que rebanhos com alta prevalência de patógenos contagiosos também podem apresentar uma alta prevalência de patógenos oportunistas.

Figura 4 – Prevalência da mastite subclínica com base em resultados positivos para *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativa* no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais

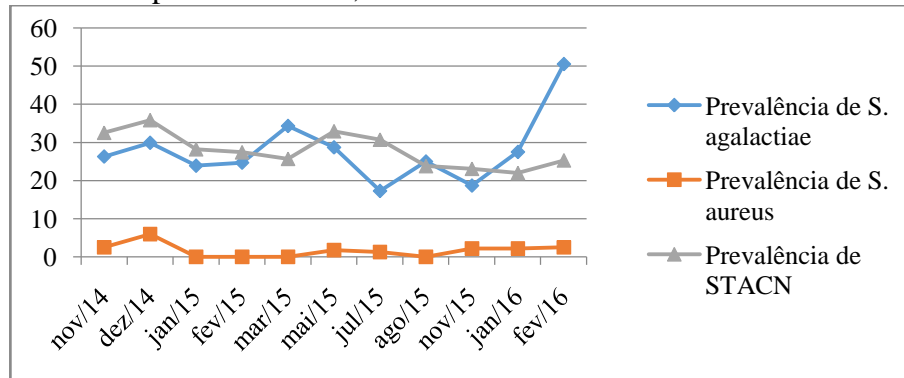
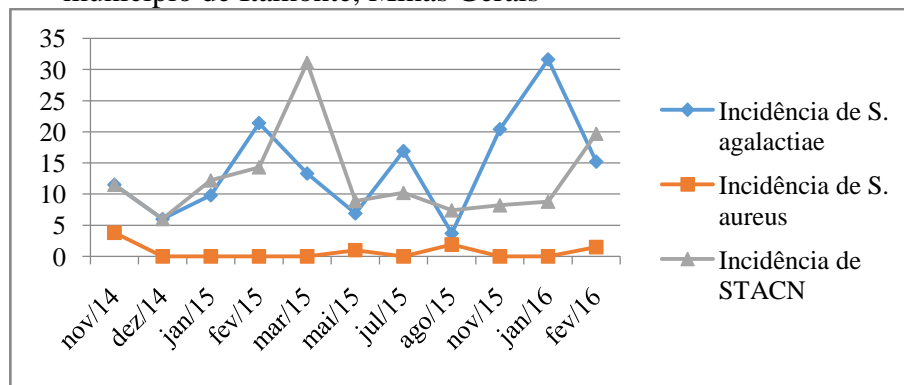
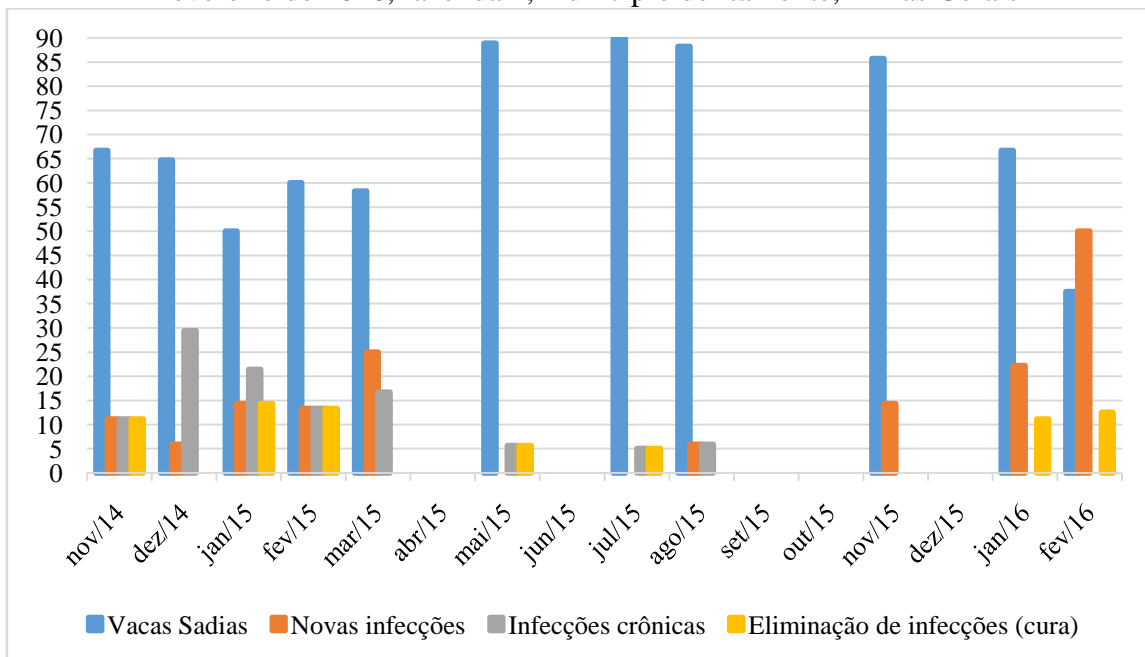


Figura 5 – Dinâmica de mastite subclínica com base em resultados positivos para *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativa* no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais



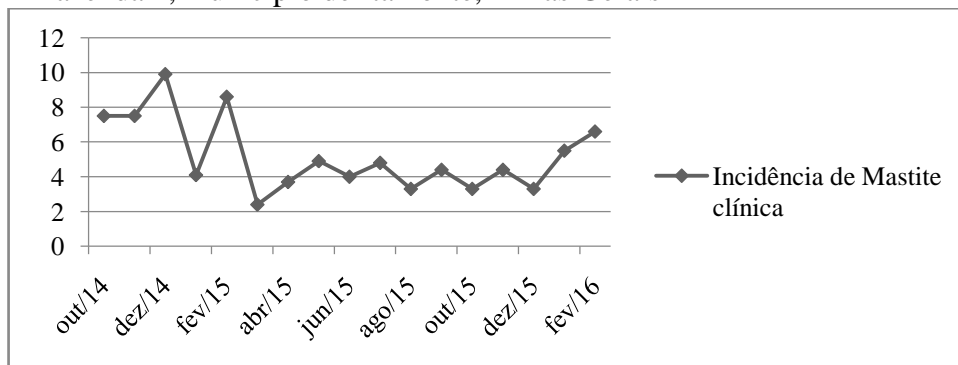
A figura 6 apresenta a dinâmica de infecção dos patógenos ambientais, onde foi possível observar um comportamento diferente em relação aos contagiosos. A taxa de infecções crônicas diminuiu e a taxa de vacas sadias aumentou ao longo do estudo, com exceção do mês de Fevereiro de 2016, quando foi observado aumento na incidência desses patógenos, com conseqüente diminuição do número de animais sadios. Dessa forma fica evidente que no período das águas, maior atenção deve ser dada ao manejo da cama, a fim de evitar uma maior incidência de patógenos ambientais.

Figura 6 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos para patógenos ambientais da mastite no período de Novembro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais



A incidência de mastite clínica teve um pico no mês de Dezembro de 2014 e Fevereiro de 2015, depois apresentou tendência a flutuação ao longo do período ficando entre 4% a 6,6% (Figura 7). Dessa forma é possível inferir que no período das águas existe uma tendência em aumentar a incidência de mastite clínica. Harmon (1994) reportou que no verão ocorre um maior número de casos de mastite clínica o que justifica o encontrado no presente estudo.

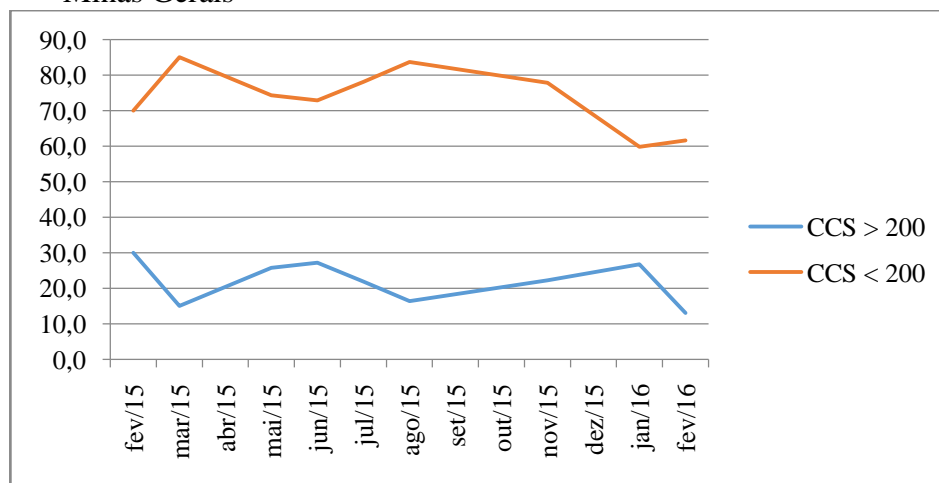
Figura 7 – Incidência de mastite clínica no período de Outubro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais



3.2.2 Fazenda 2

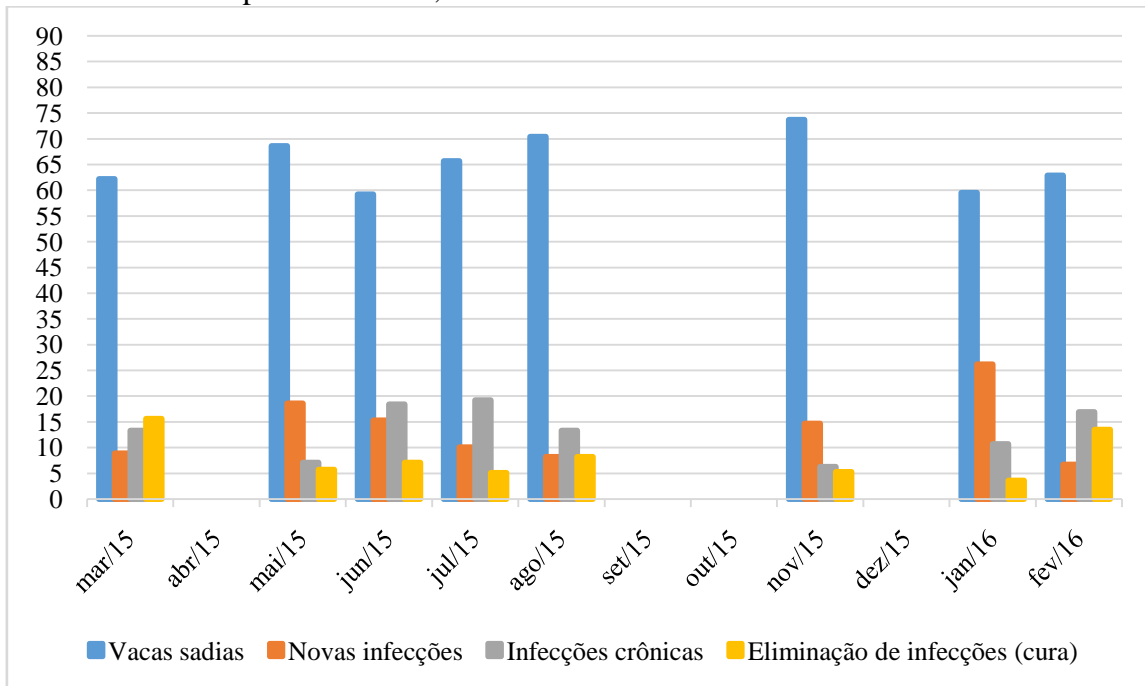
Na fazenda 2 foi possível observar maior percentual de animais com CCS abaixo de 200.000 células/mL durante todo período do estudo (Figura 8). Isso pode ser em decorrência de um menor percentual de animais com infecções por patógenos contagiosos, em especial o *S. agalactiae*, que não foi isolado do rebanho 2. É possível inferir que o aumento da porcentagem de animais com CCS acima de 200.000 células/mL no período do verão pode ter relação com o aumento do estresse térmico, que por consequência, aumenta a susceptibilidade do animal a infecções, favorecendo a incidência de mastite nesses meses mais quentes com consequente aumento da CCS (HARMON & RENEAU, 1993). Mesmo em sistema CB pode haver períodos de estresse e, nessa propriedade em especial, os ventiladores eram ligados e desligados manualmente, e não havia termostato (16^oC), como na fazenda 1.

Figura 8 – Dinâmica da infecção subclínica (células x 1000/mL) durante o período de Fevereiro de 2015 a Fevereiro de 2016, na fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais



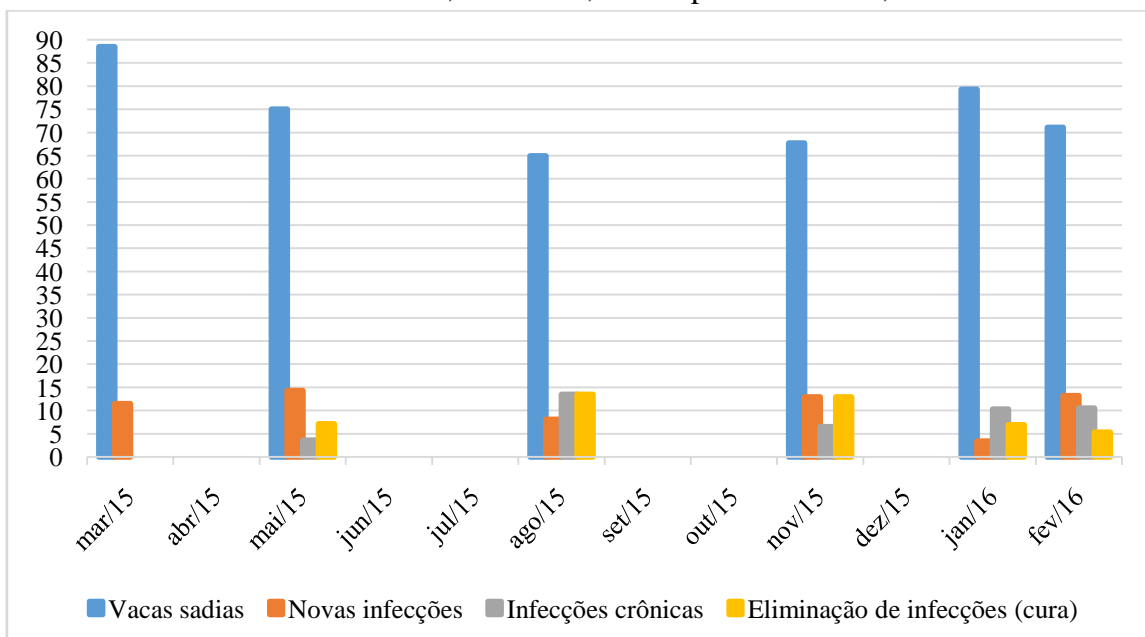
Com relação à variação na dinâmica da mastite subclínica na fazenda 2, observou-se aumento na taxa de animais sadios durante o período estudado, baseado na análise da CCS. A taxa de infecções crônicas diminuiu e a incidência apresentou uma flutuação variando de 6,7 % a 26,2 % (Figura9).

Figura 9 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base na contagem de células somáticas no período de Março de 2015 a Fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais



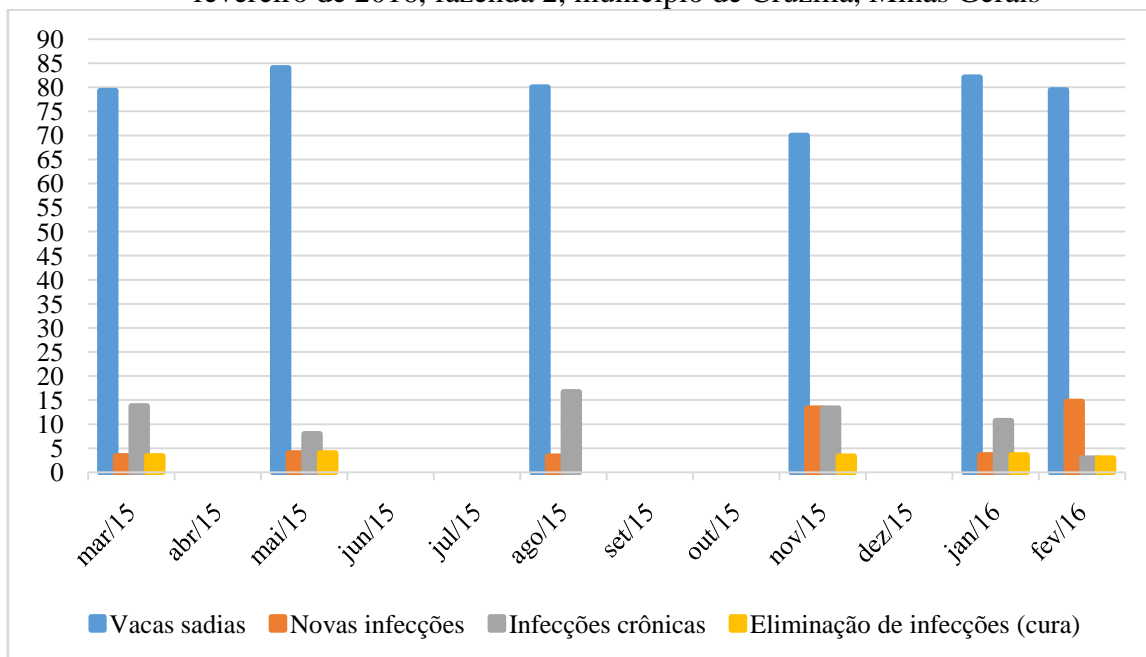
A incidência de patógenos contagiosos apresentou flutuação durante o estudo, variando de 3,4% a 14,3%. A taxa de animais sadios apresentou tendência de redução e um aumento foi observado no número de animais com infecções crônicas (Figura 10).

Figura 10 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos para patógenos contagiosos da mastite no período de Março de 2015 a Fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais



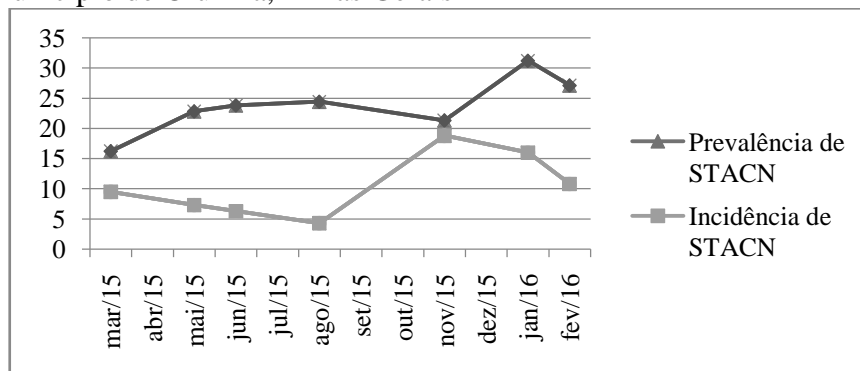
A incidência de patógenos ambientais apresentou uma flutuação que variou de 3,3% a 14,7%. O número de vacas saudas aumentou no período de Março a Maio de 2015 e depois manteve uma pequena flutuação. A taxa de infecções crônicas flutuou, com diminuição no período de Março a Maio e pico em Agosto. A taxa de eliminação de infecções não apresentou grandes variações ao longo do período (Figura 11).

Figura 11 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos para patógenos ambientais da mastite no período de Março de 2015 a fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais



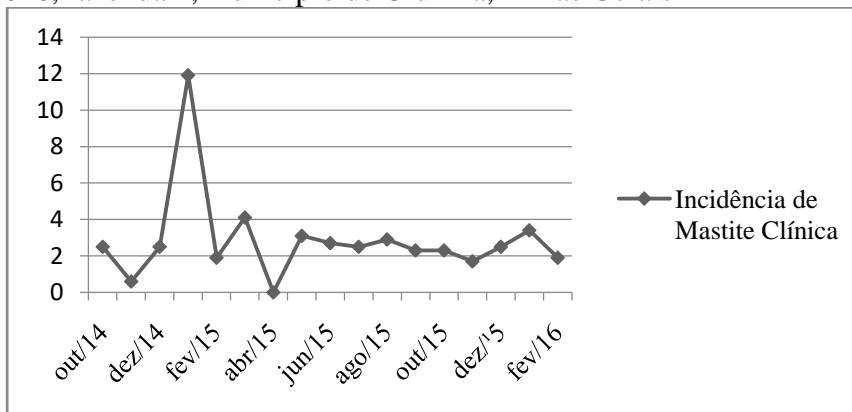
A prevalência de patógenos oportunistas foi alta durante todo o período, apresentando tendência a aumentar nos meses de Maio a Janeiro, com pico de 31,2%, com provável relação com a baixa incidência de *S. aureus* e ausência de *S. agalactiae* nesse rebanho. Como citado anteriormente, rebanhos com bom controle dos patógenos contagiosos podem apresentar maior prevalência de infecções por patógenos oportunistas (PYORALA; TAPONEN, 2009). A incidência apresentou pico em Novembro chegando a 18,8% e depois diminuiu para 10,8% em Fevereiro (Figura 12).

Figura 12 – Prevalência e incidência com base nos resultados positivos para *Staphylococcus* coagulase negativa no período de Março de 2015 a Fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais



A figura 13 apresenta a incidência de mastite clínica, em que ocorreu um pico no mês de Janeiro de 2015 caracterizado pelo aumento no número de casos de *E.colino* rebanho. Durante o período do estudo a incidência apresentou uma flutuação que variou de 0,6% a 4,1%. O período das águas apresenta maior desafio para manutenção da umidade da cama do composto e, conseqüentemente, da temperatura e da compostagem, o que pode possibilitar uma maior ocorrência de casos de mastite clínica por patógenos ambientais. Um estudo realizado por Smith et al. (1985), demonstrou que no período do verão os animais em sistema de confinamento apresentaram maior incidência de mastite causada por patógenos ambientais e também foi observado maior número de coliformes no material das camas. Hogan et al. (1989) também reportaram associação das taxas de mastite clínica com as contagens bacterianas nas camas dos animais em sistema de confinamento *free stall*.

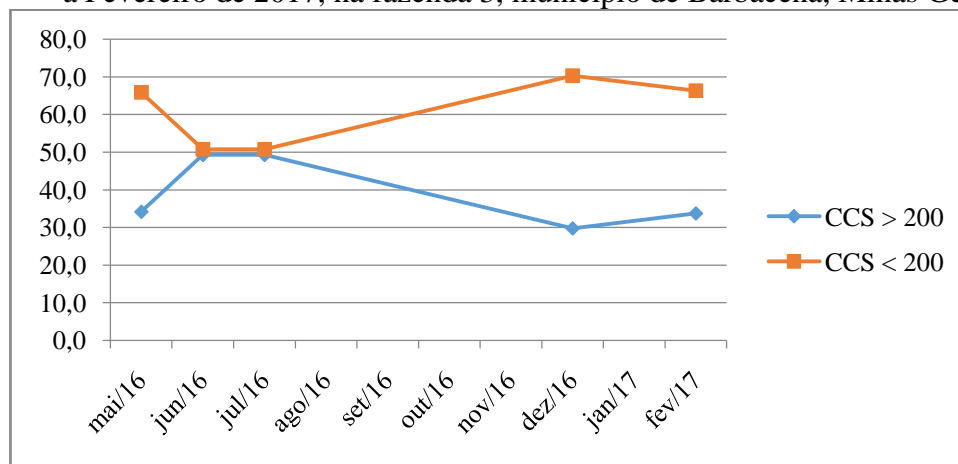
Figura 13 – Incidência de mastite clínica durante o período de Outubro de 2014 a Fevereiro de 2016, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais



3.2.3 Fazenda 3

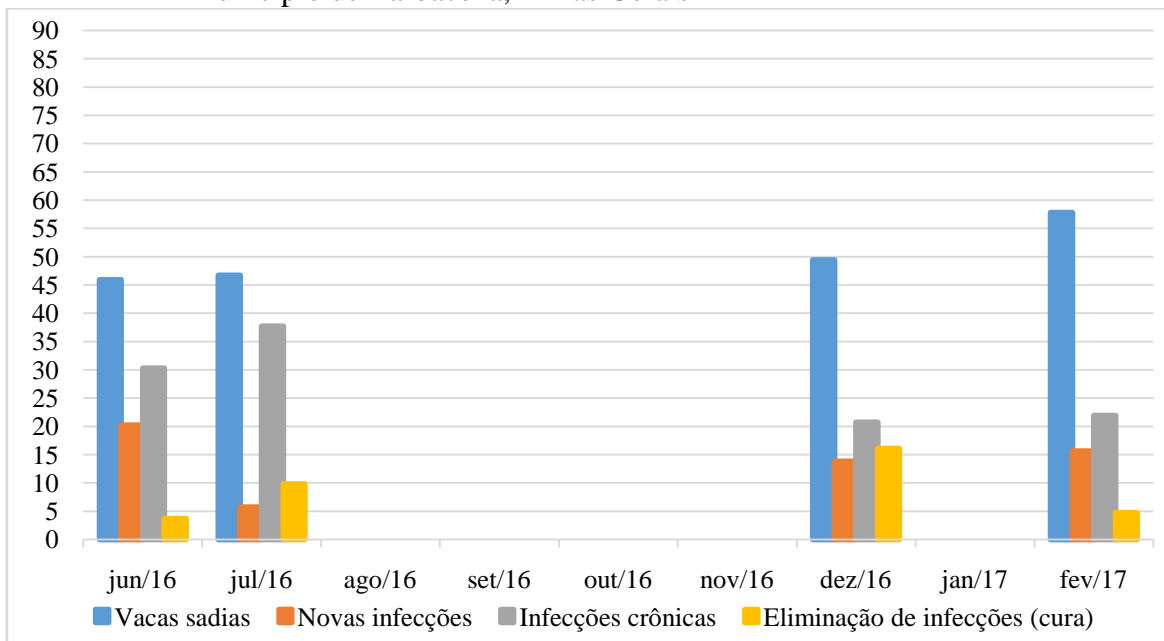
A figura 14 mostra a dinâmica da infecção subclínica, em que foi possível observar maior percentual de animais com contagem de células somáticas abaixo de 200.000 células/ml. É possível ainda observar aumento no percentual de animais sadios durante os meses do período seco.

Figura 14– Dinâmica da infecção subclínica (células x 1000/mL) no período de Maio de 2016 a Fevereiro de 2017, na fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais



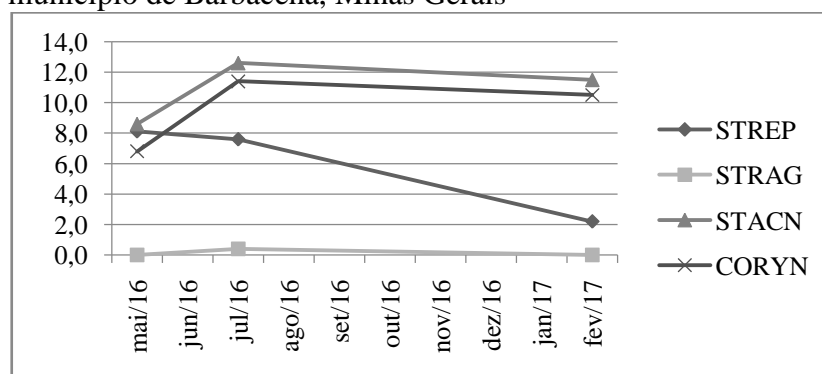
Na fazenda 3 ainda foi possível observar que a taxa de infecções crônicas baseadas na CCS aumentou no segundo mês de estudo e depois diminuiu. A dinâmica de mastite subclínica apresentou uma tendência de diminuição com consequente aumento da taxa de animais sadios e aumento da eliminação de infecções durante o período do estudo. A taxa de eliminação das infecções apresentou uma tendência à flutuação variando de 3,7 a 16,1% com uma queda nos meses de Dezembro de 2015, Janeiro e Fevereiro de 2016 (Figura15).

Figura 15 – Dinâmica da mastite subclínica (100 vacas/mês) com base na contagem de células somáticas no período de Junho de 2016 a Fevereiro de 2017, fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais



A prevalência de infecções subclínicas por patógenos ambientais diminuiu, enquanto a prevalência de patógenos oportunistas e contagiosos que não *S. agalactiae* e *S. aureus* aumentou e depois apresentou leve redução (Figura 16).

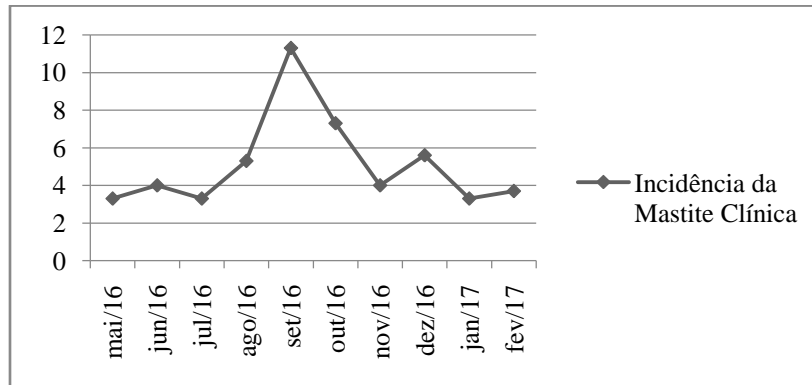
Figura 16 – Prevalências (100 vacas/mês) com base nos resultados positivos de exames microbiológicos no período de Maio de 2016 a Fevereiro de 2017, fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais



Estreptococos ambientais (STREP), *S. agalactiae* (STRAG), *Staphylococcus coagulase negativa* (STACN) e *Corynebacterium* spp (CORYN)

A incidência de mastite clínica variou de 3,3% a 7,3% durante o período do estudo, apresentando um pico de incidência no mês de Setembro, onde atingiu 11,3% (Figura 17).

Figura 17 – Incidência de mastite clínica no período de Maio de 2016 a Fevereiro de 2017, fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais



3.3 Umidade e densidade bacteriana da cama nas fazendas 1 e 2

A variação da umidade da cama durante o ano não apresentou associação com a incidência de estreptococos ambientais e *Staphylococcus* coagulase negativa na fazenda 1 ($p=0,25$ e $p=0,73$) e fazenda 2 ($p=0,96$ e $0,47$). A dinâmica de mastite clínica também não teve correlação com a variação da umidade da cama nas fazendas 1 e 2 ($p=0,405$ e $p=0,943$ respectivamente). Ao contrário do encontrado nesse estudo, Fávero et al. (2015) reportaram correlação da umidade da cama com o aumento da incidência de mastite clínica causada por patógenos ambientais. Deve-se reforçar que o controle da umidade da cama pode ser uma característica de difícil controle (LOBECK et al. 2007) pois depende do manejo do composto e também de influências climáticas. Densidade animal elevada, falta de ventilação e aeração inadequadas da cama podem levar ao aumento significativo na umidade (JANNI et al. 2007; BLACK et al. 2014).

Foi possível observar variação da média da umidade da cama entre as fazendas 1 e 2 (Tabela 4). A fazenda 2 apresentou maior média de umidade em relação a fazenda 1, mas apesar disso ainda se encontrava dentro dos valores considerados padrão (40 a 60%) na América do Norte (NRCS, 2007; BLACK, 2013). Provavelmente, por estar dentro de parâmetros aceitáveis, a umidade da cama durante o ano não apresentou associação com a incidência de estreptococos ambientais e *Staphylococcus* coagulase negativa e nem com a incidência de casos de mastite clínica nas fazendas 1 e 2.

A densidade bacteriana média foi de $7.1 \log_{10}\text{UFC/g}$ para a fazenda 1 e $7.9 \log_{10}\text{UFC/g}$ para a fazenda 2, o que corrobora com outros autores que também encontraram valores aproximados na concentração de bactérias na superfície da cama (BARBERG et al., 2007a; 2007b; BLACK et al., 2014; FÁVERO et al., 2015). Vale ressaltar que a fazenda 1

trabalhava com área média por animal de 11 m² e a fazenda 2 de 9m². O aumento no número de casos de *E. coli* na fazenda 2 pode ter relação com a maior umidade da cama encontrada nessa fazenda associada ao elevado número de patógenos na superfície da cama, o que pode contribuir para o aumento da pressão de infecção intramamária caso haja transferência desses patógenos para a pele dos tetos (HOGAN et al., 1989). Dessa forma, em decorrência da alta concentração de bactérias encontradas na cama do composto, pesquisadores têm recomendado a adoção de rigorosos procedimentos de higiene antes e após a ordenha e também um adequado manejo da cama para que esta fique constantemente seca e evite a aderência de sujidades nos animais (BARBERG et al., 2007; BLACK et al., 2013).

Tabela 4 – Variação das médias da umidade da cama durante o período de Outubro de 2014 a Fevereiro de 2016 fazendas 1 (município de Itamonte) e fazenda 2 (município de Cruzília), Minas Gerais

	Fazenda	N	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	p -valor
Umidade	1	10	40,44 ^a	6,3169	1,9976	0,001
	2	5	53,22 ^b	3,9499	1,7665	

Letras minúsculas diferem entre si com $p \leq 0,05$

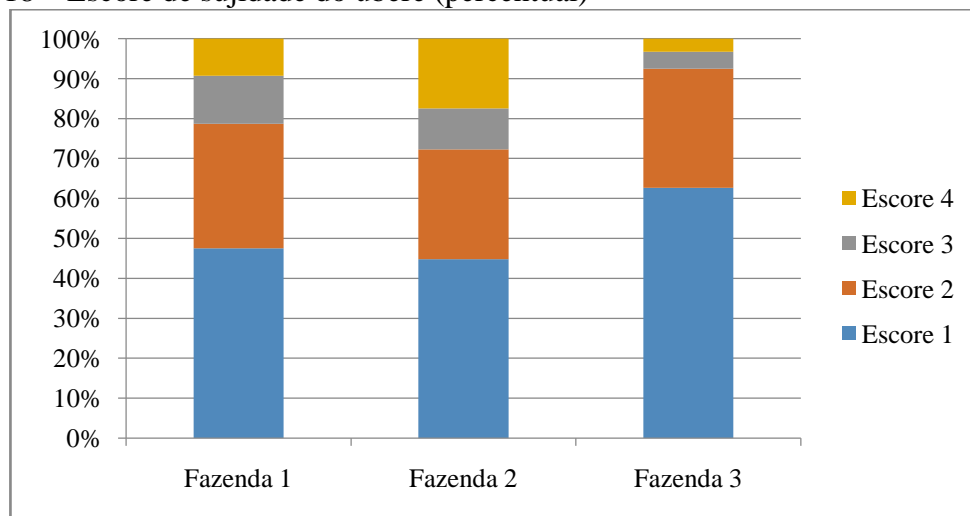
3.4 Sujidade do úbere e Período do ano nas fazendas 1, 2 e 3

Em todas as fazendas, a maioria das vacas permaneceu limpa (score 1) ou levemente suja (score 2) durante o período do estudo (Figura 18). A média dos escores de sujidade foi de 1.8, 1.9 e 1.5 nas fazendas 1, 2 e 3, respectivamente. Ao contrário do encontrado por Ruegg et al. (2003), não houve associação do score de sujidade em relação a contagem de células somáticas em animais de nenhuma das três fazendas ($p=0,539$; $p=0,784$ e $p=0,593$). Provavelmente, a não associação se deu em decorrência do maior número de animais classificados com score de sujidade 1 (limpo). Além disso, na fazenda 1, o aumento da CCS ocorreu em decorrência da alta prevalência de *S. agalactiae* e não de patógenos ambientais.

Ainda em relação à sujidade de úbere, esta tem sido associada com a qualidade do leite produzido (SCHREINER; RUEGG, 2003). O resultado encontrado nesse estudo corrobora com estudos realizados na América do Norte, onde os animais manejados no sistema CB apresentaram boas condições de higiene do úbere quando comparados com o *free-stall* bem manejado, com cama de areia (LOBECK et al., 2011). No estudo conduzido por Black et al. (2013), os animais apresentaram uma média de 2.2 no score de sujidade (1 = limpo e 4 = muito sujo) em um grupo de CB no Kentucky. Estudos similares realizados em animais

confinados no sistema CB em Minnesota apresentaram uma média no escore de sujidade de 2.6 (BARBERG et al. 2007^a, 2007b) e 3.1 (SHANE et al., 2010). Diversos pesquisadores reportaram dificuldade em manter a higiene dos animais durante invernos rigorosos e em climas úmidos e de alta pluviosidade. No Brasil, onde as variações entre as estações do ano não são extremas, é possível manter os animais em condições adequadas de higienedurante todo ano no sistema CB, caso este seja bem manejado.

Figura 18 – Escore de sujidade do úbere (percentual)



O escore 1= sem sujeira, 2= 2 a 10% de sujidade, 3= 10 a 30% de sujidade e 4=mais de 30% de sujidade

Não foi encontrada relação da incidência de estreptococos ambientais com a sujidade de úbere nas fazendas 2 e 3 ($p=0,728$ e $p=0,699$ respectivamente). Entretanto na fazenda 1, os animais que foram classificados nos escores 2, 3 e 4, apresentaram maior incidência de estreptococos ambientais em relação aos animais com escore de sujidade 1. A incidência de estreptococos ambientais associados às bactérias Gram (-) também foi maior para os animais com escore de 2 a 4 (Tabela 5). Pode-se inferir que o escore de sujidade pode ser um bom indicativo da higiene do úbere e uma ferramenta adicional no controle da mastite causada por patógenos ambientais no sistema CB, visto que encontramos relação da sujidade com a incidência desses patógenos.

Tabela 5 – Associação do escore de sujeidade com a incidência de patógenos ambientais, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais

Fazenda 1						
Escore de sujeidade	Positivo			Positivo		
	Estreptococos ambientais			Estreptococos ambientais + Gram -		
	n	%	p-valor	n	%	p-valor
1	3	1,1 ^a	0,039*	3	4,9 ^a	0,023*
2,3 e 4	13	4 ^b		16	18 ^b	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si com $p \leq 0,05$

* Teste exato de Fischer e teste Qui-quadrado

Nas fazendas 1, 2 e 3 não foi encontrada relação da incidência dos *Staphylococcus* coagulase negativa com o escore de sujeidade ($p=0,433$, $p=0,830$ e $p=0,517$ respectivamente). Incidência de *S. aureus* nas fazendas 1 e 2 também não apresentou relação com o escore de sujeidade do úbere ($p=0,725$ e $p=0,518$ respectivamente), assim como a incidência de *S. agalactiae* na fazenda 1 ($p=0,217$). Como a transmissão desses patógenos contagiosos está ligada principalmente à higiene no momento da ordenha, justifica não ter apresentado relação com a sujeidade de úbere.

Os meses do ano foram agrupados em dois períodos, onde o período 1 correspondeu aos meses de novembro a abril e o período 2 os meses de maio a outubro. Nas figuras 19, 20 e 21, é possível observar as médias de temperatura, umidade e precipitação, na região das três fazendas durante o período das coletas. Foi possível observar que maior precipitação e temperatura médias foram relacionadas ao período 1 nas três regiões.

Figura 19 – Umidade, Precipitação e Temperatura, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais

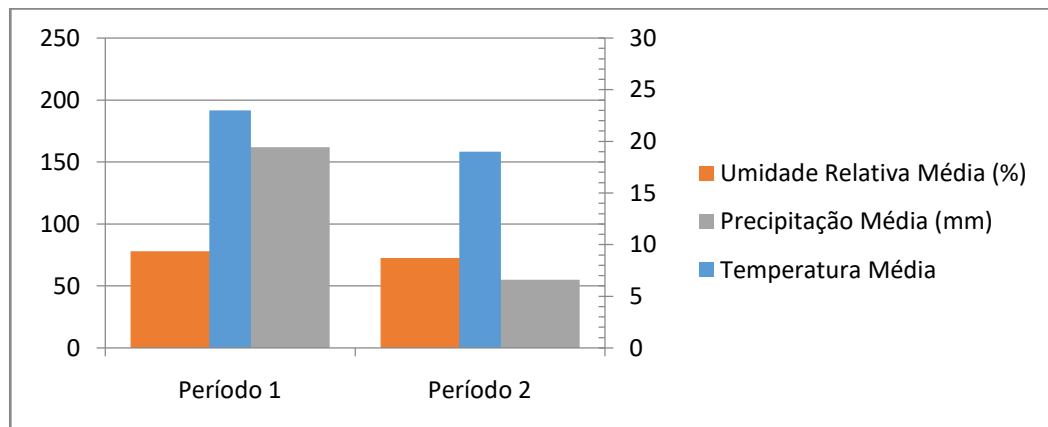


Figura 20 – Umidade, Precipitação e Temperatura, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais

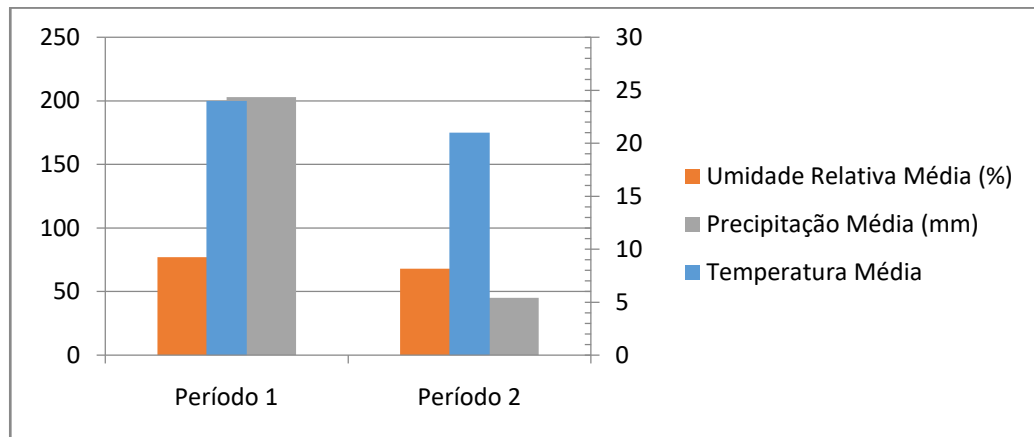
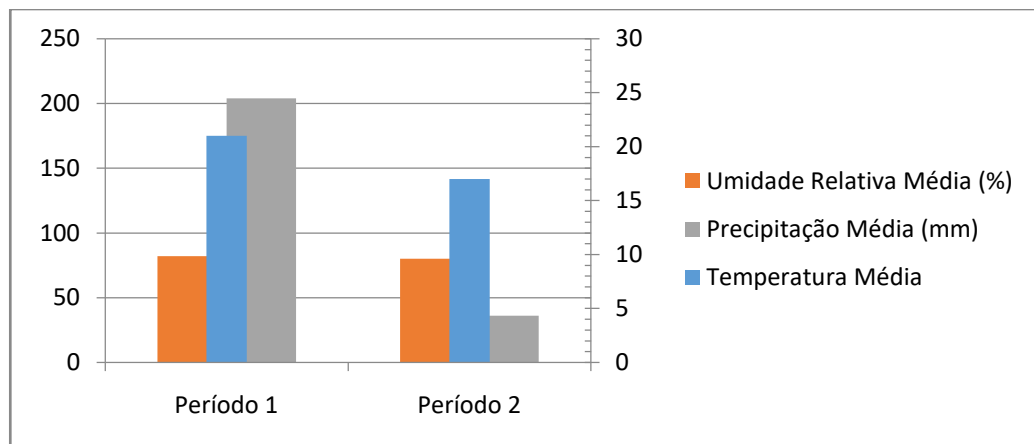


Figura 21 – Umidade, Precipitação e Temperatura, fazenda 3, município de Barbacena, Minas Gerais



O período do ano teve influência no escore de sujidade dos animais apenas na fazenda 3 (Tabela 6). Nessa propriedade, foi possível observar maior número de vacas com escore 2, 3 e 4 no período 1 (Novembro a Abril) em relação ao período 2 (Maio a Outubro). A associação do período do ano com o escore de sujidade dos animais foi um importante resultado encontrado nesse estudo, visto que apesar de ser um sistema fechado de confinamento, no período de maior precipitação foi encontrado maior número de animais com escore de sujidade ≥ 2 , o que reflete o manejo e a qualidade da cama, indicando necessidade de atenção especial nos meses mais úmidos do ano. Vale ressaltar que Fávero et al. (2015), trabalhando no mesmo sistema de confinamento em condições tropicais brasileiras, não encontraram relação entre o escore de sujidade e o período do ano.

Tabela 6 – Associação entre período do ano e escore de sujidade, fazendas 1, 2 e 3, Minas Gerais

Período	Fazenda 1					Fazenda 2					Fazenda 3				
	1		2 a 4		p-valor	1		2 a 4		p-valor	1		2 a 4		p-valor
	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%	
1	146	37,2	140	32,3 ^a	0,14	186	43,2	245	56,8 ^a	0,007	184	66,9	91	33,1 ^a	0,036
2	247	62,8	294	67,7 ^a		227	47,4	252	52,6 ^a		127	57,7	93	42,3 ^b	

Letras minúsculas diferem entre si com $p \leq 0,05$

Teste Qui-quadrado

A incidência de estreptococos ambientais não apresentou relação com o período do ano em nenhuma das 3 fazendas ($p=0,054$, $p=0,265$ e $p=0,713$). A incidência de *S. aureus* nas fazendas 1 e 2 também não apresentou relação ($p=0,784$ e $p=0,667$ respectivamente), assim como a incidência de *S. agalactiae* ($p=0,137$) na fazenda 1. Porém, nas fazendas 2 e 3 foi possível observar uma relação do período do ano com a incidência dos *Staphylococcus* coagulase negativa, onde a ocorrência de novos casos no período 1 foi maior em relação ao período 2 (Tabela 7). Entre as espécies de *Staphylococcus* coagulase negativa, é sabido que algumas se comportam como patógenos ambientais, tais como, *S. equorum*, *S. sciuri*, *S. fleuretti*, *S. cohnii*, *S. devriesei*, *S. xylosus*, *S. arlettae* e *S. succinus* (PIESSENS et al., 2011). Dessa forma, apesar de não ter sido encontrada relação da umidade da cama com o período do ano, o escore de sujidade ≥ 2 foi mais frequente no período 1, onde foi observado maior precipitação, o que pode ter contribuído para maior incidência desses patógenos no referido período.

Tabela 7 – Correlação do período do ano com a incidência de *Staphylococcus* coagulase negativa, fazendas 1, 2 e 3, Minas Gerais

Fazenda 1					Fazenda 2					Fazenda 3				
Período 2		Período 1		p-valor	Período 2		Período 1		p-valor	Período 2		Período 1		p-valor
n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%	
97	30,0 ^a	172	27,1 ^a	0,345	91	12,0 ^a	115	24,8 ^b	<0,01	19	6,3 ^a	33	11,1 ^b	0,038

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si com $p \leq 0,05$

Teste Qui-quadrado

3.5 DEL e Ordem de Parto nas fazendas 1, 2 e 3

Com relação ao período de lactação foi possível observar uma correlação com a incidência de estreptococos ambientais nas três fazendas. Os animais no terço final de lactação apresentaram maior incidência desses patógenos nas fazendas 1 e 3, enquanto na fazenda 2, o terço médio de lactação foi o que correspondeu à maior incidência. (Tabela 8).

Tabela 8 – Associação do período de lactação com a incidência de estreptococos ambientais, fazendas 1, 2 e 3, Minas Gerais

DEL	Fazenda 1			Fazenda 2			Fazenda 3		
	Positivo		p-valor	Positivo		p-valor	Positivo		p-valor
	n	%		n	%		n	%	
até 100 dias	4	1,5 ^a		4	1,2 ^a		7	5,6 ^a	
101 a 200 dias	10	3,7 ^{ab}	0,041	15	7,0 ^b	<0,01	3	2,9 ^a	0,025
201 a 305 dias	13	5,6 ^b		8	3,3 ^{ab}		13	12,1 ^b	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si com $p \leq 0,05$

*Teste Qui-quadrado

Na fazenda 1 a incidência de *S. agalactiae* apresentou correlação com o período de lactação, apresentando maior incidência no terço médio e terço final de lactação (Tabela 9).

Tabela 9 – Associação do período de lactação com a incidência de *Streptococcus agalactiae*, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais

DEL	Fazenda 1				p-valor
	Negativa		Positivo		
	n	%	n	%	
até 100 dias	240	88,9	30	11,1 ^a	
101 a 200 dias	192	71,4	77	28,6 ^b	<0,001
201 a 305 dias	159	68,8	72	31,2 ^b	

As letras minúsculas diferem entre si com $p \leq 0,05$

*Teste Qui-quadrado

O período de lactação não apresentou relação com a incidência de *S. aureus* nas fazendas 1 ($p=0,196$) e 2 ($p=0,862$). Para *Staphylococcus* coagulase negativa, o terço médio de lactação apresentou um risco de 2,020 para a fazenda 1 e 3,5 para a fazenda 2. O terço final de lactação apresentou um risco de 2,588 na fazenda 1 e de 5,219 na fazenda 2 (Tabela 10). A fazenda 3 não apresentou relação entre o período de lactação e a incidência de *Staphylococcus* coagulase negativa ($p=0,546$).

Dessa forma, foi possível observar que o período de lactação foi associado a maior risco na incidência de estreptococos ambientais nas três propriedades, com maior taxa de novas infecções no terço final da lactação. Já *S. agalactiae* apresentou maior taxa nos terços

médio e final (fazenda 1) e *Staphylococcus* coagulase negativa nos terços médio e final (fazendas 1 e 2). É possível inferir que o maior tempo de exposição dos animais aos patógenos ambientais ao longo da lactação dentro do composto contribui para maior prevalência desses patógenos. Entretanto, Hogan e Smith (2012), propuseram que apesar da exposição prolongada ao patógeno ambiental, o período do peri-parto seria o de maior risco devido à imunossupressão que acompanha essa fase. Nos resultados encontrados nesse estudo observamos que apenas o período peri-parto antes da parição apresentou maior risco.

Quanto aos patógenos contagiosos, é possível a disseminação entre os animais principalmente em rebanhos onde a pressão de infecção é alta, como na fazenda 1, o que explica maior incidência nos terços médio e final da lactação em relação ao terço inicial. Em contrapartida, Jamrozik e Schaeffer (2012) encontraram maior taxa de infecção da glândula mamária no início da lactação em *free stall*, com redução da mastite subclínica ao longo da lactação.

Tabela 10 – Associação do período de lactação e a incidência de *Staphylococcus* coagulase negativa, fazendas 1 e 2, Minas Gerais

DEL	Fazenda 1			p-valor	Fazenda 2			p-valor
	Positivo	OR			Positivo	OR		
	n	%	(IC 95%)		n	%	(IC 95%)	
até 100 dias	45	16,7		<0,001	32	9,2		<0,001
101 a 200 dias	77	28,6	2,02 (1,318 - 3,097)	0,001	63	25	3,500 (2,103-5,823)	<0,001
201 a 305 dias	83	35,9	2,588 (1,681 - 3,986)	<0,001	97	31,2	5,219 (3,202- 8,507)	<0,001

* Regressão logística linear

Com relação a ordem de parto, a fazenda 1 ($p=0,330$) e fazenda 3 ($p= 0,892$) não apresentaram relação com a incidência de estreptococos ambientais, porém na fazenda 2 os animais com ordem de parto ≥ 2 apresentaram maior prevalência de estreptococos ambientais (Tabela 11). *Staphylococcus aureus* não apresentou associação com a ordem de parto nas fazendas 1 e 2 ($p=0,445$ e $p=0,314$ respectivamente).

Tabela 11 – Associação da ordem de parto com a incidência de estreptococos ambientais, fazenda 2, município de Cruzília, Minas Gerais

Fazenda 2			
OP	Positivo		p-valor
	n	%	
1	0	0,0 ^a	<0,001
2	17	6,5 ^b	
≥3	15	4,8 ^b	

*Teste Qui-quadrado

Na fazenda 1 os animais com 2 ou mais partos apresentaram 1,7 vezes mais chance em se tornarem infectados pelo *S. agalactiae* (Tabela 12).

Tabela 12 – Associação da ordem de parto com a incidência de *Streptococcus agalactiae*, fazenda 1, município de Itamonte, Minas Gerais

Fazenda 1				
OP	Positivo		OR	p-valor
	n	%	(IC 95%)	
1	30	8,8		0,002
2	81	33,3	2,715 (1,439 - 5,123)	0,002
≥3	102	38,2	2,749 (1,462 - 5,168)	0,002

*Regressão logística linear

Ainda na fazenda 1, dois ou mais partos significaram um fator de proteção para infecção por *Staphylococcus coagulase negativa* e na fazenda 2, dois ou mais partos também significaram um fator de proteção para o patógeno (Tabela 13).

Tabela 13 – Associação da ordem de parto com a incidência de *Staphylococcus coagulase negativa*, fazendas 1 e 2, Minas Gerais

OP	Fazenda 1				Fazenda 2			
	Positivo		OR	p-valor	Positivo		OR	p-valor
	n	%	(IC 95%)		n	%	(IC 95%)	
1	139	40,9	0,313 (0,207 - 0,474)	<0,001	87	26,2	0,615 (0,393 - 0,962)	0,011
2	44	18,1	0,317 (0,209 - 0,479)	<0,001	48	18,3	0,540 (0,351 - 0,832)	0,033
≥3	46	17,2		<0,001	54	17,2		0,005

*Regressão logística linear

A ordem de parto apresentou correlação positiva com a incidência de estreptococos ambientais na fazenda 2. Nesse rebanho, os animais com dois ou mais partos apresentaram maior percentual de animais com infecção por esses patógenos quando comparados as novilhas. No rebanho com alta prevalência de *S. agalactiae* (fazenda 1), o risco de adquirir uma nova infecção por esse patógeno foi de 1,7 para os animais com três ou mais partos em relação às primíparas. Estudo conduzido por Hiitiöet et al. (2017) demonstrou a correlação do aumento da incidência de infecções intramamárias com o aumento do número de partos, principalmente em infecções subclínicas crônicas. Outros estudos também apresentaram essa correlação corroborando com os resultados aqui encontrados (REKSEN, 2008; HAGNESTAM-NIELSEN et al., 2009). Um estudo sobre a incidência de mastite clínica também verificou a relação positiva com o aumento do número de partos (BOUJENANE et al., 2015).

Os possíveis mecanismos que contribuem para esse fenômeno podem estar relacionados com a diminuição da capacidade do sistema imune em combater as infecções com o avançar da idade (RAINARD; RIOLLET, 2006) e também ao maior tempo de exposição do animal aos patógenos. Com relação aos *Staphylococcus* coagulase negativa, foi encontrado um fator de proteção para infecção por esses patógenos nos rebanhos 1 e 2. Isso pode ser explicado devido a pressão de infecção por *S. agalactiae* no rebanho 1 e estreptococos ambientais no rebanho 2, o que dificultou a infecção por patógeno oportunista.

4 CONCLUSÃO

A epidemiologia da mastite assim como o perfil dos patógenos isolados no sistema de confinamento *compost barn* são semelhantes ao de outros sistemas de confinamento, quando bem manejado.

Foi possível observar que o padrão de infecção por patógenos contagiosos não se altera em decorrência da mudança do sistema de confinamento, o que ressalta a importância de bom controle antes do confinamento.

O período do ano teve influência no escore de sujidade de úbere mesmo o sistema sendo um confinamento fechado, o que reforça a importância do manejo da cama (temperatura e umidade) e ventilação durante todo o ano.

O escore de sujidade apresentou relação com a incidência de estreptococos ambientais e pode ser uma ferramenta auxiliar para controle desses patógenos na rotina das fazendas que utilizam o sistema *compost barn*.

Por ser um sistema de confinamento ainda recente em regiões tropicais, mais estudos são necessários a fim de aprofundar os conhecimentos sobre a epidemiologia da mastite e sua associação com a cama orgânica que caracteriza o sistema.

REFERÊNCIAS

- ASTIZ, S.; SEBASTIAN, F.; FARGAS, O.; FERNANDÉZ, M.; CALVET, E. Enhanced udder health and milk yield of dairy cattle on compost bedding systems during the dry period : A comparative study. **Livestock Science**, v. 159, p. 161–164, 2014.
- BACCARI Jr., F. Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes. Londrina, 2001.
- BARBERG, A. E.; ENDRES, M. I.; SALFER, J. A.; RENEAU, J. K. Performance and welfare of dairy cows in an alternative housing system in Minnesota. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 3, p. 1575–1583, 2007.
- BEWLEY, J. M.; TARABA, J. L.; DAY, G. B.; DAMASCENO, F. A. Compost Bedded Pack Barn Design: Features and Management Considerations. **University of Kentucky Cooperative Extension Service**, n. 206, 2012.
- BLACK, R. A.; TARABA, J. L.; DAY, G. B.; DAMASCENO, F. A.; NEWMAN, M. C.; AKERS, K. A.; WOOD, C. L.; MCQUERRY, K. J.; BEWLEY, J. M. The relationship between compost bedded pack performance, management, and bacterial counts. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 5, p. 2669–79, 2014.
- BOUJENANE, I.; EL AIMANI, J.; BY, K. Incidence and occurrence time of clinical mastitis in holstein cows. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 39(1), 42–49, 2015.
- BUENO, V.F.F.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B.; COSTA, E.O.; COUTO, D.V. Etiologia e suscetibilidade à antimicrobianos dos agentes da mastite bovina isolados na região de Pirassununga-SP-Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, 32, 33–43, 2008.
- CARDOZO, L. L.; NETO, A. T.; SOUZA, G.N.; PICININ, L. C. A.; FELIPUS, N. C.; RECHE, N. L. M.; SCHMIDT, F. A.; WERNCKE, D.; SIMON, E. E. Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in Southern Brazil. **Journal of Dairy Science**, 98:1 – 11, 2015.
- ECKELKAMP, E. A.; TARABA, J. L.; AKERS, K. A.; HARMON, R. J.; BEWLEY, J. M. Sand bedded freestall and compost bedded pack effects on cow hygiene , locomotion , and mastitis indicators. **Livestock Science**, v. 190, p. 48–57, 2016a.
- ECKELKAMP, E. A.; TARABA, J. L.; AKERS, K. A.; HARMON, R. J.; BEWLEY, J. M. Understanding compost bedded pack barns : Interactions among environmental factors, bedding characteristics, and udder health. **Livestock Science**, v. 190, p. 35–42, 2016b.
- FRANKENA, K.; GRAAT, E. A. M. Multivariate analysis: logistic regression. In: NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C. M. ET AL. Application of Quantitative Methods in veterinary epidemiology. WAGENINGEN: **Wageningenpers**, P. 135-178, 1997.
- HAGNESTAM-NIELSEN, C.; EMANUELSON, U.; BERGLUND, B.; STRANDBERG, E. Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. **Journal of Dairy Science**, 92:3124–33, 2009.

HARMON, R.J.; RENEAU, J.K. Factors affecting somatic cellcounts in milk. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 32., 1993, Kansas City. **Proceedings...** Kansas City: p.38-35, 1993.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cellcounts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.

HARMON, R. J. Symposium: mastitis and genetic evaluation for SCC – physiology of mastitis and factors affecting SCC. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2103-2112, 1994.

HIITIÖ, H.; VAKKAMÄKI, J.; SIMOJOKI, H.; AUTIO, T.; JUNNILA, J.; PELKONEN, S.; PYÖRÄLÄ, S. Prevalence of subclinical mastitis in finnish dairy cows: changes during recent decades and impact of cow and herd factors. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 59(1), 22, 2017.

HOGAN, J. S.; SMITH, K. L.; HOBLET, K. H.; TODHUNTER, D. A.; SCHOENBERGER, P. S.; HUESTON, W. D.; PRITCHARD, D. E.; BOWMAN, G. L.; HEIDER, L. E.; BROCKETT, B. L. Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. **Journal of Dairy Science**, 72:250–258, 1989.

HOGAN, J. S.; SMITH, K. L. Bacteria counts in sawdust bedding. **Journal of Dairy Science**, 80:1600–1605, 1997.

HOGAN, J.; SMITH, K. L. Managing environmental mastitis. **Veterinary Clinics North America: food animal practice**, v. 28, n. 2, p. 217-224, 2012.

HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. Applied logistic regression. **New York: John Wiley & Sons**, 307 P., 1989.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk enumeration of somatic cells –Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto electronic counters. Brussels: **IDF**, 13p. IDF Standard 148-2, 2006.

JAMROZIK, J.; SCHAEFFER, L. R. Test-day somatic cell score, fat-to-protein ratio and milk yield as indicator traits for subclinical mastitis in dairy cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, 129(1), 11–19, 2012.

JANNI, K. A.; ENDRES, M. I.; RENEAU, J. K.; SCHOPER, W.W. Compost dairy barn layout and management recommendations. **Applied Engineering in Agriculture**, v.23, p.97–102, 2007.

JOBIM, M.B.; LOPES, M. A.; COSTA, G.M. D.; DEMEU, F. A. Pathogens associated with bovine mastitis in dairy herds in the south region of Brazil. **Boletim de Indústria Animal**, 67, 175–181, 2010.

LEMESHOW, S.; HOSMER, D. W. Estimating odds ratios with categorically scaled covariates in multiple logistic regression analysis. **American Journal of Epidemiology**, V. 119, N. 2, P. 147-151, 1984.

MCGUIRE, M. A.; BEEDE, D. K.; DELORENZO, M. A.; WILCOX, C. J.; HUNTINGTON, G. B.; REYNOLDS, C. K.; COLLIER, R. J. Effectsofthermal stress andlevelof feed intakeon portal plasma flowand net fluxesof metabolites in lactating Holstein cows. **Journal of Animal Science**, 67:1050–1060, 1989.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. 4. ed. Verona: **NMC**, 47 p., 2004.

OLIVEIRA, E. F.;BRITO, M. A. V. P.;LANGE, C. C.;MENDONÇA, L.C.;MEURER, I.R.; HYLARIO, S. M.; SILVA, M. R.;SOUZA, G. N. Prevalência de patógenos contagiosos em rebanhos da associação dos criadores de gado holandês do estado de Minas Gerais, 2011-2012. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, p. 265-266, n. 2013.

OLIVEIRA, L.; RUEGG, P.L. Treatments of clinical mastitis occurring in cowson 51 large dairy herds in Wisconsin. **Journal of Dairy Science**, 97, 5426–5436, 2014.

OSTRENSKY, A. Efeitos de ambiente sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça holandesa no Paraná. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. 114f, 1999.

PETZEN, J.; WOLFANGER, C.; BONHOTAL, J.; SCHWARZ, M.; TERRY, T.; YOUNGERS, N. Case Study: **Eagleview Compost Dairy Barn**, 2009.

PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. Vencendo a luta contra a mastite. Piracicaba :**Westfalia Surge/WestfaliaLandtechnik do Brasil**, 192p., 2002.

PIESSENS, V.; VAN COILLIE, E.; VERBIST, B.; SUPRÉ, K.; BRAEM, G.; VAN NUFFEL, A.; DE VUYST, L.; HEYNDRIKX, M.; DE VliegHER, S. Distributionofcoagulasenegative*Staphylococcus* species frommilkandenvironmentof dairy cowsdiffers between herds. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 6, p. 2933-2944, 2011.

PINARELLI, C. The effectofheat stress onmilkyield. **Latte**, Milan, v. 28, n. 12, p. 36-38, 2003.

PYÖRÄLÄ, S.; TAPONEN, S. Coagulase-negative staphylococci-emergingmastitispathogens. **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1-2, p. 3-8, 2009.

RAINARD, P.; RIOLLET, C. Innateimmunityofthebovinemammarygland. **Veterinary Research**, 37:369–400, 2006.

REKSEN O. Relationships between milkcultureresultsandcompositemilk somatic cellcounts in Norwegian dairy cattle. **J Dairy Sci**. 91:3102–13, 2008.

SAMPAIO, I. B. M. Estatística aplicada a experimentação animal. Belo Horizonte: **Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia**, 1998. 221 p.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. São Paulo: **Manole**, 2007.

SCHREINER, D. A. E.; RUEGG, P. L. Relationship Between UdderandLegHygiene Scores and Subclinical Mastitis. **Journal of Dairy Science**, 86:3460–3465, 2003.

SHANE, E.; ENDRES, M.; JANNI, K. Alternative bedding materials for compost bedded pack barns in Minnesota: a descriptive study. **Applied Engineering Agriculture**, 26, 465–473, 2010.

SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Environmental mastitis: Cause, prevalence, prevention. **Journal of Dairy Science**, 68:1531–1553, 1985.

SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C.; BRITO, M. A. V. P.; SILVA, M. V. G. B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, 61(5), 1015–1020, 2009.

SVENNESEN, L. Effects of implementing a compost bedded pack system on somatic cell count compared to a free stall system within the same farm, 2013.

TAPONEN, S.; PYÖRÄLÄ, S. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis: not so different from *Staphylococcus aureus*? **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1-2, p. 29-36, 2009.

ZDANOWICZ, M. J. A.; SHELFORD, C. B.; TUCKER, D. M.; WEARY, M. A.; VON KEYSERLINGK, G. Bacterial populations on teat ends of dairy cows housed in free stalls and bedded with either sand or sawdust. **Journal of Dairy Science**, 87:1694–1701, 2004.