



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

A utilização do contraste leiteiro como ferramenta de análise de mastites subclínicas em explorações do Entre Douro e Minho

Joana Rita Machado Ferreira

Orientação | Prof^aDra. Sandra Maria da Silva Branco

Orientação externa | Prof. Dr. Luís André de Oliveira Pinho

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

Évora, 2017



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

A utilização do contraste leiteiro como ferramenta de análise de mastites subclínicas em explorações do Entre Douro e Minho

Joana Rita Machado Ferreira

Orientação | Prof^aDra. Sandra Maria da Silva Branco

Orientação externa | Prof. Dr. Luís André de Oliveira Pinho

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

Évora, 2017

Agradecimentos

Apesar de toda a fadiga e das contradições desta jornada é com muita tranquilidade que a termino e felizmente, não estive sozinha. Decido desta forma prestar a minha gratidão a quem contribuiu para tal e ainda para quem faz de mim, o que sou hoje.

Ao Dr. Luís Pinho, meu orientador, pelo privilégio de trabalhar de perto com alguém tão culto e de grande dedicação à profissão. Por ter contribuído para o enriquecimento dos meus conhecimentos, disponibilidade prestada e por ter uma boa dose de paciência para comigo, um muito obrigado.

À minha orientadora, Prof. Sandra Branco, pela sua orientação e também pela sua preocupação, conselhos prudentes e inúmeras palavras amigas, agradeço em especial.

Um obrigado a toda a equipa dos Serviços Veterinários Associados, em especial ao Dr. Carlos Cabral com quem partilhei muitos momentos de companheirismo. Não são só excelentes profissionais, mas igualmente pessoas de grande humildade.

Quero também deixar uma palavra especial ao Prof. Ricardo Romão e à Prof. Elisa Bettencourt por me terem despertado e incentivado para a área dos animais de produção.

Ao Engenheiro Jorge Ferreira por me ter proporcionado no final do estágio as visitas madrugadoras às explorações e por ter confiado em mim para o auxiliar no seu trabalho.

Aos produtores que me permitiram realizar este trabalho, utilizando as suas explorações como objeto de estudo. Obrigada também pelo acolhimento e pela simpatia.

Não posso abdicar de prestar um agradecimento à equipa da Sociedade Veterinária de Coruche: Dr. Luís Pissarra, Dra. Maria do Carmo Feliciano, Rui e Miguel. Com todos vós aprendi o que é a prática no campo.

À Ângela pela partilha de uma casa durante 5 anos e pela amizade que foi criada.

À Maria Inês, amiga incansável, presença motivadora e conselheira em todos os momentos. A tua ajuda e companhia foram essenciais nestes 5 anos.

À restante família académica, Bruno, Pedro e Cláudio. As lembranças que tenho de Évora são sobretudo “as nossas”.

Aos demais amigos que me acompanharam nestes anos inesquecíveis, em especial às Carolinas e à Micaela pela nossa cumplicidade.

Ao Francisco, por estar sempre ao meu lado, incondicionalmente,

Por sermos uma família de grandes mulheres, à minha terna avó Mariana e à minha mãe Manuela, pela educação digna que me deu e por todo o amor.

Ao meu irmão Gonçalo, o meu exemplo de crescimento pessoal.

Ao meu avô Manuel, que iria gostar muito de estar comigo e de expressar o seu orgulho, neste dia em que me torno médica veterinária.

Resumo

A mastite é uma doença endémica considerada a mais frequente em vacas leiteiras e que causa maiores perdas económicas na produção leiteira, especialmente na forma subclínica.

O contraste leiteiro é um registo, que consiste na avaliação da quantidade e qualidade do leite produzido por cada animal de uma exploração e que permite também monitorizar a eliminação de células somáticas.

Através da aplicação de um programa de análise de contagem de células somáticas, pretendeu-se estudar, vários padrões epidemiológicos de mastites numa amostra de explorações do Entre Douro e Minho.

Os resultados obtidos demonstram que apesar das variações sazonais esperadas, o ano de 2016 foi atípico relativamente à ocorrência de mastites, sobretudo pelos ajustes realizados na produção leiteira, exigidos pelos contratos de recolha de leite na região.

Porém, a amostra em estudo apresenta bons índices epidemiológicos para mastites subclínicas.

Palavras-chave: contraste leiteiro, mastites subclínicas, epidemiologia, saúde do úbere, qualidade do leite

The use of milk recording as a tool for the analysis of subclinical mastitis in dairy farms in Entre Douro e Minho

Abstract

Mastitis is an endemic disease considered to be the most frequent in dairy cows and causes greater economic losses in milk production, especially in the subclinical form.

The milk recording is a register, which consists of the evaluation of the quantity and quality of milk produced by each farm animal and also allows to monitoring of somatic cell elimination.

Through the application of a somatic cell count analysis program, it was intended to study several epidemiological patterns of mastitis in a sample of Entre Douro and Minho farms.

The results show that despite the expected seasonal variations, the year of 2016 was atypical regarding the occurrence of mastitis, mainly due to adjustments made in milk production, required by the milk collection contracts in the region.

However, the sample under study presents good epidemiological indices for subclinical mastitis.

Key words: milk recording, subclinical mastitis, epidemiology, udder health, milk quality

Índice geral

Agradecimentos	III
Resumo	IV
Abstract	V
Índice geral	VI
Índice de gráficos	VIII
Índice de tabelas	IX
Índice de figuras	X
Lista de abreviaturas e símbolos	XI
Preâmbulo	XII
Capítulo I: Revisão bibliográfica	1
1. A mastite	1
1.1) Tipos de mastite	1
1.2) Etiologia da mastite	3
1.3) Impacto económico e programas de controlo	4
1.4) Mastite no período seco e no pós-parto	7
2. Fatores de risco para a ocorrência de mastite	8
2.1) Fatores associados ao animal	8
2.2) Fatores associados ao ambiente e manejo	10
2.3) Fatores associados ao agente etiológico	16
3. Contagem de células somáticas	16
4. O contraste leiteiro	20
5. Análise epidemiológica	21
5.1) Cálculo de índices de mastites para análise epidemiológica através do contraste leiteiro	22
5.1.1) Cálculo de índices epidemiológicos durante o PS	25
Capítulo II: Trabalho experimental	28
1. Introdução	28
2. Materiais e métodos	29
2.1) Amostragem	29
2.2) Recolha de dados	29
2.2.1) Recolha de dados do contraste leiteiro	29
2.2.2) Recolha dos dados através do histórico SVA	29
2.2.3) Recolha de dados através de inquéritos	30
2.3) Análise de dados	30
3. Resultados	34
3.1) Indicadores da exploração	34
3.1.1) Animais em ordenha	34
3.1.2) Produção de leite	35
3.2) Análise do contraste leiteiro	36
3.2.1) CCS do contraste	37

3.2.2) Vacas saudáveis _____	37
3.2.3) Novas infeções _____	38
3.2.4) Vacas curadas _____	39
3.2.5) Vacas com mastite crónica _____	40
3.2.6) Risco de novas infeções _____	41
3.2.7) Taxa de cura _____	42
3.3) CCS no primeiro controlo no pós-parto _____	43
3.4) Período seco _____	44
3.5) Histórico de agentes causadores de mastite _____	46
3.6) Inquéritos realizados nas explorações _____	50
3.6.1) Tabelas de frequência relativa e absoluta _____	50
3.6.1.1) Tipo de exploração e equipa de trabalho _____	50
3.6.1.2) Caracterização do efetivo _____	51
3.6.1.3) Instalações e higiene _____	51
3.6.1.4) Assistência veterinária _____	53
3.6.1.5) Biossegurança _____	54
3.6.1.6) Equipamento de ordenha _____	54
3.6.1.7) Rotina de ordenha _____	55
3.6.1.8) Tratamento dos animais com mastite _____	57
3.6.1.9) Secagem dos animais _____	58
3.6.2) Classificação das explorações e associação com índices epidemiológicos _____	59
4. Discussão _____	61
4.1) Análise do contraste leiteiro _____	61
4.1.1) Indicadores da exploração _____	61
4.1.2) Objetivos propostos _____	63
4.1.3) Sazonalidade dos índices epidemiológicos de mastites _____	64
4.1.4) Distribuição dos dados anuais _____	66
4.1.5) Controlo pós-parto _____	67
4.1.6) Período seco _____	68
4.2) Prevalência dos agentes causadores de mastite _____	69
4.3) Caracterização das explorações _____	70
4.3.1) Práticas de manejo e fatores de risco _____	70
4.3.2) Associação entre variáveis _____	73
5. Conclusão _____	73
Bibliografia _____	75
Anexo I – Casuística durante o estágio curricular _____	85
Anexo II – Inquérito base realizado aos produtores _____	88
Anexo III – Programa (Microsoft Excel® 2016) de análise de CCS a partir do contraste leiteiro _____	91

Índice de gráficos

Gráfico 1 – Animais em ordenha ao longo do ano de 2016, na amostra de explorações em estudo. _____	35
Gráfico 2 – <i>Box plot</i> de animais em ordenha em 2016. _____	35
Gráfico 3 – Produção de leite no ano de 2016, na amostra de explorações em estudo. _____	36
Gráfico 4 – <i>Box plot</i> de produção de leite em 2016. _____	36
Gráfico 5 – Contagem de células somáticas ao longo do ano de 2016, na amostra de explorações em estudo. _____	37
Gráfico 6 – <i>Box plot</i> da CCS em 2016. _____	37
Gráfico 7 – Vacas saudáveis ao longo de 2016, na amostra de explorações em estudo. _____	38
Gráfico 8 – <i>Box plot</i> correspondente às vacas saudáveis em 2016. _____	38
Gráfico 9 – Novas infeções ao longo de 2016, na amostra de explorações em estudo _____	39
Gráfico 10 – <i>Box plot</i> correspondente às novas infeções em 2016. _____	39
Gráfico 11 – Vacas curadas ao longo de 2016, na amostra de explorações em estudo. _____	40
Gráfico 12 – <i>Box plot</i> correspondente às vacas curadas em 2016. _____	40
Gráfico 13 – Percentagem de vacas com mastite crónica em 2016, na amostra de explorações em estudo. _____	41
Gráfico 14 – <i>Box plot</i> correspondente às com mastite crónica em 2016. _____	41
Gráfico 15 – Risco de novas infeções em 2016, na amostra de explorações em estudo. _____	42
Gráfico 16 – <i>Box plot</i> correspondente ao risco de novas infeções em 2016. _____	42
Gráfico 17 – Taxa de cura de mastites ao longo de 2016, na amostra de explorações em estudo. _____	43
Gráfico 18 – <i>Box plot</i> correspondente à taxa de cura em 2016. _____	43
Gráfico 19 – <i>Box plots</i> correspondentes ao 1º controlo no pós-parto nos grupos de vacas consoante o número de lactações. _____	44
Gráfico 20 – <i>Box plot</i> das vacas saudáveis no PS. _____	45
Gráfico 21 – <i>Box plot</i> das vacas infetadas no PS. _____	45
Gráfico 22 – <i>Box plot</i> das vacas curadas no PS. _____	45
Gráfico 23 – <i>Box plot</i> das vacas com mastite crónica no PS. _____	45
Gráfico 24 – <i>Box plot</i> do risco de NI no PS. _____	45
Gráfico 25 – <i>Box plot</i> da taxa de cura no PS. _____	45
Gráfico 26 – Prevalências de 2009 a 2017, de mastites ambientais e mastites contagiosas na amostra de explorações em estudo. _____	47
Gráfico 27 – Prevalências de 2009 a 2017, dos principais agentes etiológicos de mastite na amostra de explorações em estudo. _____	47
Gráfico 28 – Principais agentes de mastites da exploração D e suas prevalências de 2009 a 2017. _____	48

Gráfico 29 – Principais agentes de mastites da exploração J e suas prevalências de 2009 a 2017.	49
Gráfico 30 – Principais agentes de mastites da exploração O e suas prevalências de 2009 a 2017.	49
Gráfico 31 – Tipo de mastites da exploração O e suas prevalências de 2009 a 2017.	50

Índice de tabelas

Tabela 1 – Classificação de mastites clínicas quanto à gravidade dos sinais clínicos (Adaptado de Ruegg, 2014).	2
Tabela 2 – Perdas económicas das mastites (Adaptado de Petrovski <i>et al</i> , 2006).	5
Tabela 3 - Prevalência estimada de infeção e perdas na produção de leite associada com a CCS elevada no tanque (NMC, 1996).	17
Tabela 4 – <i>Linear score</i> e a sua relação com as perdas de produção de leite, durante a lactação (adaptado de Reneau, 1986).	19
Tabela 5 - Caracterização da amostra com base em dados do ano 2016.	29
Tabela 6 – Índices analisados e objetivos propostos pelo modelo de análise de CCS (n.a: não aplicável).	31
Tabela 7 – Índices analisados no pós-parto e no período seco e objetivos propostos pelo modelo de análise de CCS no período seco.	32
Tabela 8 – Indicadores da exploração analisados e respetivas médias do ano de 2016.	34
Tabela 9 – Médias do ano de 2016, de acordo com a análise do CL.	36
Tabela 10 – Médias do ano de 2016, relativas ao primeiro controlo no período pós-parto.	43
Tabela 11 – Médias dos diferentes índices do ano de 2016, no período seco.	45
Tabela 12 – Tipo de exploração e equipa de trabalho.	51
Tabela 13 – Caracterização do efetivo.	51
Tabela 14 – Instalações e higiene.	52
Tabela 14 (continuação) – Instalações e higiene.	53
Tabela 15 – Assistência veterinária.	53
Tabela 16 – Biossegurança.	54
Tabela 17 – Equipamento de ordenha.	54
Tabela 17 (continuação) – Equipamento de ordenha.	55
Tabela 18 – Rotina de ordenha.	56
Tabela 18 (continuação) – Rotina de ordenha.	57
Tabela 19 – Tratamento dos animais com mastite.	57
Tabela 20 – Secagem dos animais.	58
Tabela 21 – Alterações na taxa de refugo.	58

Tabela 22 – Tabela de contingência para as vacas saudáveis e tamanho do efetivo. _____	59
Tabela 23 – Tabela de contingência para as vacas saudáveis e processo da ordenha. _____	59
Tabela 24 – Tabela de contingência para o risco de NI e tamanho do efetivo. _____	60
Tabela 25 – Tabela de contingência para o risco de NI e processo da ordenha. _____	60
Tabela 26 – Tabela de contingência para a taxa de cura e tamanho de efetivo. _____	61
Tabela 27 – Tabela de contingência para a taxa de cura e processo de ordenha. _____	61

Índice de figuras

Figura 1 – Classificação de higiene do úbere (Adaptado de Schreiner e Ruegg, 2003). _____	11
Figura 2 – Exemplo de instalações numa exploração da região, com limpeza adequada (fotografia gentilmente cedida pelo Dr. Pedro Meireles, SVA). _____	12
Figura 3 – Exemplo de uma sala de ordenha de uma exploração da região, com limpeza adequada (foto gentilmente cedida pelo Dr. Luís Pinho, SVA). _____	15
Figura 4 – Exemplo de resumo mensal do contraste leiteiro de uma exploração do EDM (retirado de Bovinfor®). _____	20
Figura 5 – Exemplo de compilação dos dados dos 12 meses, na exploração A. _____	32
Figura 6 – Compilação das médias anuais de todos os índices das 20 explorações. _____	33

Lista de abreviaturas e símbolos

ADN – ácido desoxirribonucleico

ALIP – Associação Interprofissional de Leite e Laticínios

CCS – contagem de células somáticas

Céls/ml – células por mililitro

CL – contraste leiteiro

DEL – dias em lactação

DHIA – *Dairy Herd Improvement Association* (Associação de Melhoramento de Gado Leiteiro)

E.coli – *Escherichia coli*

EDM – Entre Douro e Minho

EUA – Estados Unidos da América

Fa – frequência absoluta

Fr – frequência relativa

IDF – *International Dairy Federation* (Federação Internacional de Produtos Lácteos)

IIM – infeção intramamária

INE – Instituto Nacional de Estatística

LS – *linear score*

Máx – máximo

MC – mastite clínica

Mín - mínimo

MSC – mastite subclínica

NI – novas infeções

NMC – *National Mastitis Council* (Conselho Nacional de Mastites)

PMN – polimorfonucleares neutrófilos

PS – período seco

Staph. aureus - *Staphylococcus aureus*

Strep. uberis – *Streptococcus uberis*

SVA – Serviços Veterinários Associados

TCM – Teste Californiano de Mastites

UE – União Europeia

Preâmbulo

O estágio curricular foi realizado nos Serviços Veterinários Associados (SVA) que se localizava em Fradelos, Vila Nova de Famalicão, num período de quatro meses entre 3 de janeiro de 2017 e 3 de maio de 2017. O estágio foi focado na Medicina de Produção em explorações de bovinos leiteiros na região Entre Douro e Minho (EDM) tendo como objetivo, englobar as diferentes áreas da produção leiteira para que fosse possível desenvolver as competências necessárias para apreciar as explorações como um todo. A autora acompanhou a equipa composta por seis médicos veterinários que prestam serviços especializados, nas diversas áreas de intervenção no que diz respeito à medicina de bovinos leiteiros destacando-se:

- **Controlo reprodutivo e fertilidade:** este serviço era prestado regularmente às explorações e incluía exames de avaliação da condição uterina após o parto, bem como exames de diagnóstico precoce de gestação e acompanhamento da gestação nos períodos considerados mais críticos. Sempre que possível era feita a sexagem fetal. Todos os exames eram realizados por palpação transretal e por ultrassonografia e os resultados dos exames introduzidos numa base de dados informatizada. No final eram discutidas as decisões a tomar relativamente a cada caso.

- **Clínica médica e cirúrgica:** a componente clínica foi desenvolvida através do acompanhamento de consultas em regime ambulatorio, emergências médicas e cirurgias. Era sempre realizado, em primeiro lugar, um exame clínico sistematizado ao animal, de modo a estabelecer os diagnósticos diferenciais possíveis e no final discutir as opções de tratamento médico ou cirúrgico.

- **Gestão técnica e económica:** neste serviço as explorações eram acompanhadas continuamente e para que se assegurasse a sua eficiência, todos os parâmetros relacionados com a produção eram analisados incluindo as instalações, nutrição, manejo em geral, performance reprodutiva e produtiva. Através de um sistema de registos informatizado e avaliação deste, o produtor era aconselhado em tomadas de decisão para uma melhor gestão do seu trabalho e formação profissional, com o objetivo de obter a melhor rentabilidade da sua exploração. Eram propostas ao produtor medidas de interesse para melhorar a sua exploração, de acordo com o panorama geral da mesma e tendo em conta a situação atual do mercado leiteiro.

- **Qualidade de leite:** sendo uma área cada vez com um maior destaque para um pleno funcionamento de uma exploração leiteira, esta área foi desenvolvida por intermédio da realização de provas de estábulo, em que as amostras de leite recolhidas nas ordenhas eram processadas em laboratório para cultura e identificação microbiológica. Tendo em conta os resultados das mesmas, eram elaborados planos terapêuticos para mastites. No serviço de qualidade de leite foi feita consultadoria nas explorações, implementando boas práticas na rotina de ordenha e no manejo dos animais para prevenir a eventual ocorrência de mastites e

minimizar os seus efeitos. Também foram realizadas revisões técnicas, com auxílio de equipamento especializado, ao equipamento de ordenha de algumas explorações.

Para além de acompanhar este tipo de serviços, a autora teve ainda a oportunidade de acompanhar um dos engenheiros responsáveis da Fromageries Bel Portugal, S.A, num projeto com vista a certificar as explorações em que a empresa recolhe leite. Para isso, durante o estágio foram realizadas visitas a várias explorações para observar a rotina de ordenha e as suas instalações, avaliar indicadores de bem-estar animal e ainda aconselhar os produtores no que diz respeito a boas práticas de manejo, objetivando uma maior produção de leite e igualmente uma qualidade excepcional do mesmo.

Toda a casuística e atividades desenvolvidas bem como os respetivos gráficos e tabelas de frequências, constam no anexo I.

A Medicina de Produção de bovinos leiteiros engloba todo um conjunto de conhecimentos técnicos em diversas áreas da produção leiteira com a finalidade de promover não só o bem-estar e a saúde dos animais, mas sobretudo os aspetos económicos, tendo ainda em consideração o impacto negativo que daí possa advir. Uma vez que o estágio curricular focou esta temática, o presente estudo destaca a saúde do úbere como uma das principais áreas da Medicina da Produção.

Capítulo I: Revisão bibliográfica

1. A mastite

A mastite bovina define-se como a inflamação da glândula mamária podendo ter etiologia infecciosa ou não infecciosa. Do ponto de vista prático a grande maioria da inflamação é provocada por bactérias, mas as leveduras, fungos e algas também são agentes causadores de mastite (Bradley, 2002; Ruegg e Pantoja, 2013). Esta doença possui uma natureza multifatorial complexa, sendo as práticas de manejo da exploração consideradas um dos mais eficazes meios para o controlo da doença (Halasa *et al.*, 2007).

A incidência de mastite aumenta quando os mecanismos de defesa da glândula mamária se encontram alterados. No período de transição, que compreende as três semanas antes e as três semanas após o parto, os mecanismos de defesa da glândula mamária estão comprometidos e por isso, neste período os animais ficam mais suscetíveis à mastite (Sordillo, 2009).

Os microrganismos invadem a glândula mamária através do canal do teto, quebrando os seus mecanismos de defesa e começam a multiplicar-se produzindo toxinas e causando lesões no tecido glandular (Nielsen, 2009.). Consequentemente a composição do leite é alterada, variando esta de acordo com a resposta inflamatória. O grau de alterações que ocorrem é essencialmente devido à patogenicidade do microrganismo causador da doença e à quantidade de tecido da glândula mamária afetado, especialmente se se tratar de tecido epitelial. As principais mudanças no úbere incluem a passagem de iões, proteínas e enzimas do sangue para o leite, devido ao aumento da permeabilidade vascular e invasão de células fagocitárias. Por sua vez, a capacidade da glândula mamária em sintetizar os constituintes do leite diminui e como consequência, alguns deles (nomeadamente a caseína, gordura e lactose) surgem em menor concentração na secreção láctea. O quarto do úbere afetado pode também produzir substâncias relacionadas com a reação inflamatória, nomeadamente proteínas da fase aguda (Pyörälä, 2003).

1.1) Tipos de mastite

A mastite pode ser classificada como clínica ou subclínica, de acordo com os sinais clínicos. Tendo em conta a sua gravidade, são denominadas de subagudas, agudas ou hiperagudas. Relativamente à duração do processo patológico no tempo, podem ser consideradas como agudas ou crónicas (Lundberg, 2015).

Os casos de mastite clínica (MC) dão origem a sinais visíveis. Caracterizam-se pela inflamação do úbere e por alterações visíveis no leite e no úbere (Harmon, 1994; *National Mastites Council* [NMC], 1996). Ruegg (2014), estabeleceu uma escala de 3 pontos para as

mastites clínicas de acordo com a sua gravidade e tendo por base sinais clínicos, de forma prática e simples para avaliar a intensidade de deteção de casos da doença (tabela 1).

Tabela 1 – Classificação de mastites clínicas quanto à gravidade dos sinais clínicos (Adaptado de Ruegg, 2014).

Sem gravidade		Com gravidade
1 - Suave	2 - Moderada	3 - Grave
Leite com alterações	Úbere com alterações	Sinais sistémicos
Leite com alteração da coloração, presença de flocos ou coágulos.	Sinais de inflamação: rubor, calor, tumefação e dor.	Redução na produção de leite, febre, anorexia, desidratação, diarreia e redução da motilidade gástrica.

Ao utilizar esta escala sugere-se como objetivo um total de 15% de casos graves. Caso esse valor seja excedido, devem investigar-se os casos e detetar as possíveis causas (Ruegg, 2014).

A observação do úbere é fundamental e a MC pode ser reconhecida antes ou após o parto através de secreções, do colostro ou do leite pela presença de qualquer alteração já enunciada acima. Depois de confirmado o diagnóstico deve proceder-se à colheita de leite assepticamente de todos os quartos para identificação do agente bacteriano, antes de ser administrado qualquer antibiótico (Timms, 2004).

A mastite subclínica (MSC) é caracterizada por não apresentar sinais clínicos nem no úbere, nem no leite. É a forma mais prevalente de mastite (NMC, 1996; Akers, 2002). O leite é visivelmente normal, mas a contagem de células somáticas (CCS) é elevada devido ao afluxo de células inflamatórias na glândula (Timms, 2004). Os agentes patogénicos podem ser identificados por análise microbiológica, através da recolha de amostras de leite (Harmon, 1994; Akers, 2002).

A MSC pode ser diagnosticada no campo com recurso a métodos indiretos como o Teste Californiano de Mastites (TCM), medição da concentração de eletrólitos ou medição da condutividade elétrica (Blowey e Edmonson, 2010). O TCM continua a ser o único meio confiável que pode ser facilmente utilizado para tal, no campo (Ruegg, 2002). Este teste tem como base uma reação química em que o leite de cada quarto ou de todos os quartos, reage com um detergente contendo um indicador de pH. Quando misturados em quantidades iguais, o reagente penetra nas paredes celulares e nucleares dos leucócitos e ocorre libertação de ADN que ao ficar disponível, forma um gel que aumenta de consistência à medida que aumenta o número de leucócitos no leite (Mellenberger, 2001). As explorações que realizam regularmente TCM como medida de controlo, têm significativamente menor risco de ocorrência de MSC (Busato *et al*, 2000).

A CCS será discutida com mais pormenor, mais à frente neste capítulo.

1.2) Etiologia da mastite

Quanto à etiologia, os microrganismos que causam mastite são geralmente classificados como contagiosos ou ambientais com base no seu reservatório primário e modo de transmissão (Bogni *et al*, 2011), sendo estes principalmente bactérias (Nielsen, 2009). Watts (1988), isolou da glândula mamária de bovino 137 espécies de microrganismos capazes de provocar a doença.

As mastites contagiosas e as mastites ambientais diferem consoante a fonte de infeção. As mastites contagiosas são provocadas por bactérias que se propagam de vaca para vaca (NMC, 1996). Adaptam-se ao hospedeiro e sobrevivem na glândula mamária, sendo que o contágio é feito tipicamente através da ordenha (Bradley, 2002; Blowey e Edmonson, 2010). Os fatores mais importantes na transmissão de agentes contagiosos incluem a máquina de ordenha, as mãos dos ordenhadores, os materiais de lavagem de tetos e os procedimentos de tratamento. A propagação destes microrganismos pode ser bastante reduzida por uma boa higiene do úbere (NMC, 2007a).

Como principais medidas de controlo destacam-se: preparação adequada dos tetos antes da ordenha (limpeza e secagem individual dos tetos antes da fixação da máquina de ordenha); utilização de tetinas bem dimensionadas e de equipamento que funcione corretamente (principalmente em vácuo); utilização de *pós-dipping* no final da ordenha; deteção e avaliação dos casos clínicos de mastites contagiosa para tomadas de decisão quanto ao tratamento; realização de terapia para vacas secas; refugio de vacas cronicamente infetadas; manutenção de um rebanho fechado (caso se comprem animais, avaliar o seu leite antes de os juntar aos restantes); criação de um programa de qualidade de leite para a exploração com objetivos bem definidos (ex: 0% de vacas infetadas com *Mycoplasma* spp. e menos de 5% de vacas infetadas com *Staphylococcus aureus*) (NMC, 2007a). Outras ações de controlo que devem ser adotadas são a segregação de quartos e vacas infetados na ordenha e para otimizar a função imunológica, a vacinação (Breen, 2016).

Os agentes contagiosos são de particular importância porque causam principalmente formas subclínicas que são frequentemente difíceis de detetar (Bogni *et al*, 2011). Os efetivos com elevada prevalência de agentes contagiosos possuem uma CCS alta e uma baixa incidência de mastite clínica (Blowey e Edmonson, 2010). Os principais agentes contagiosos são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, para os quais os úberes de vacas infetadas servem de reservatório (Nielsen, 2009). Para além destes, estão também referenciados como agentes contagiosos *Mycoplasma* spp. e *Corynebacterium* spp. (Bogni *et al*, 2011). Em vacas leiteiras, a prevalência de *Staphylococcus aureus* em todo o mundo está relatada entre 5% a 18% (Contreras e Rodríguez, 2011) e o agente é causa comum de mastites clínicas, tanto em primíparas como em múltiparas (Lundberg, 2015).

Por outro lado, as bactérias responsáveis pelas mastites ambientais habitam no ambiente dos animais, tendo contato com o úbere e tetos causando infecção (NMC,1996). São microrganismos descritos como invasores oportunistas da glândula mamária e são eliminados rapidamente quando se estabelece a resposta imunitária do hospedeiro (Bradley, 2002). Neste grupo incluem-se coliformes (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.), leveduras, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Pseudomonas* spp. (Nielsen, 2009; Bogni *et al*, 2011).

O ponto chave para controlar a mastite ambiental dentro de uma exploração é a redução da exposição das vacas aos agentes patogénicos e para tal, é necessário um manejo e higiene apropriados de todas as instalações (Hogan e Smith, 2012). Para diminuir os agentes de mastite no ambiente onde habitam as vacas, a redução da humidade e da contaminação orgânica assume uma especial relevância. Remover frequentemente o estrume do estábulo, evitar a sobrepopulação de animais nos lotes e manter as camas limpas e secas (preferencialmente feitas com material inorgânico, como areia) são importantes medidas de manejo para o controlo deste tipo de mastites. A acrescentar a estas medidas, destaca-se ainda o manejo e higiene do parque das vacas secas e da maternidade que devem ser prioritários. Estas instalações devem estar sempre limpas, secas e bem ventiladas. Embora não seja uma medida prioritária para a ocorrência de mastites ambientais, contrariamente às mastites contagiosas, a higiene na ordenha deve ser sempre eficaz. Neste ponto, a utilização de *pré-dipping* é efetiva na redução de novas infeções da glândula mamária causadas por coliformes, durante a lactação (Hogan e Smith, 2012).

Tradicionalmente as bactérias são classificadas como de maior ou menor impacto, dependendo da magnitude da resposta inflamatória associada à infeção. Os agentes de maior impacto são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, coliformes e *Mycoplasma* spp, sendo responsáveis por mastites clínicas e subclínicas (Bogni *et al*, 2011). Estas bactérias causam também alterações na composição do leite (Nielsen, 2009).

Os agentes de menor impacto estão associados a infeções moderadas e são sobretudo *Staphylococcus* coagulase negativos e *Corynebacterium bovis* (Bogni *et al*, 2011).

1.3) Impacto económico e programas de controlo

A mastite bovina é considerada como uma das doenças economicamente mais importantes do sector leiteiro nos países em desenvolvimento (Petrovski *et al*, 2006). Esta doença é um problema de saúde pública, mas também claramente um problema a nível económico. Sendo uma doença endémica, em muitas explorações do mundo, esta doença é uma das causas mais consideráveis de uma produção de leite menos eficiente (Hogeveen, 2005).

Estimar o custo real de uma mastite é notoriamente difícil e para tal, têm de ser consideradas as consequências da doença e de que forma estas interferem com a economia e sustentabilidade da exploração. Os custos diretos são teoricamente os mais fáceis de contabilizar, uma vez que são visíveis e notórios para o produtor, contrariamente às perdas económicas indiretas ou custos indiretos que não são óbvios e podem ser referidos como custos ocultos (Nielsen, 2009). Na tabela 2, estão sumarizados os fatores que contribuem para o impacto económico das mastites de forma direta e indireta.

Tabela 2 – Perdas económicas das mastites (Adaptado de Petrovski et al, 2006).

Custos diretos	Custos indiretos
Tratamento: serviço veterinário e medicamentos	Perdas por quebra na produção leiteira
Leite descartado	Refugo e custo de reposição de animais
Mão de obra adicional	Penalizações monetárias e ausência de prémios pela diminuição na qualidade do leite
Casos fatais	
Recidivas	Risco de contágio entre animais e relação das mastites com outras doenças

As estimativas económicas variam entre países e mesmo entre regiões dentro de um mesmo país. Além disso, os resultados desses cálculos mudam com o tempo devido a mudanças nos regulamentos de qualidade do leite e circunstâncias das mudanças no mercado (Halasa *et al*, 2007). Um estudo recente efetuado por Serrenho (2015), revela que a mastite é responsável por perdas anuais médias de cerca de 147 €/vaca/ano, com uma amplitude de 0 a 623 €, em Portugal.

A avaliação do valor económico de um programa de controlo de mastites deve ser apoiada por uma avaliação confiável das perdas económicas causadas pela doença e pelo conhecimento dos custos da implementação desse programa (Seegers et al, 2003).

As decisões de gestão e de implementação de programas de prevenção e controlo de mastites devem ser pensadas de acordo a realidade da exploração. Estas decisões podem ser tomadas consoante diferentes fatores: do quarto (pela secagem de quartos), da vaca (abate ou tratamento), do rebanho (mudança na gestão das instalações e melhores condições de higiene na ordenha) e nacional (serviços de controlo) (Hogeveen, 2005).

Para minimizar todo o impacto negativo proveniente desta doença, o *National Mastitis Council* elaborou um plano de controlo de mastites que consiste nos seguintes 10 pontos:

- 1) Estabelecer objetivos para a saúde do úbere: estipular valores alvos de CCS e de taxa de incidência de mastites clínicas. É importante ir revendo e atualizando os objetivos estabelecidos e adequar o manejo aos mesmos.
- 2) Assegurar um ambiente limpo, seco e confortável: certificar que o estábulo está bem dimensionado, é adequado para os animais e está bem ventilado. As camas devem manter-se limpas (bem como os corredores de passagem), secas e com conforto. Há que garantir que a densidade animal é a adequada nos parques e estimular os animais para que se mantenham de pé após a ordenha.
- 3) Estabelecer processos de ordenha adequados: os tetos, aquando a ordenha, devem estar limpos e secos. Recomenda-se a aplicação de um desinfetante no teto antes da ordenha (*pré-dipping*) e que cada teto seja limpo e seco individualmente. O ordenhador deve utilizar luvas limpas. As tetinas devem estar ajustadas ao nível do úbere e a remoção das tetinas em funcionamento deve ser evitada. Quando acabar a ordenha, aplicar desinfetante em cada um dos tetos (*pós-dipping*). É essencial que se mantenha uma boa higiene em toda a sala e equipamentos da ordenha.
- 4) Usar e manter os equipamentos de ordenha de forma adequada: o equipamento de ordenha deve cumprir as normas e deve ser revisto periodicamente. É necessário que as tetinas sejam substituídas de acordo com a frequência recomendada. A sala de ordenha deve ser limpa e desinfetada devidamente após cada ordenha.
- 5) Manter registos completos e atualizados: registar (digital ou manualmente) todos os casos de MC, incluindo os dados da animal, quarto afetado, tratamento e data do mesmo, evolução da infeção e resultados da análise bacteriológica. Deve ser também feito o registo de CCS para obter informações quanto aos casos de MSC.
- 6) Tratar adequadamente a mastite clínica durante a lactação: desenvolver um protocolo de tratamento com o médico veterinário e implementá-lo na exploração, tendo em conta o custo-benefício. É importante recolher assepticamente amostras clínicas para cultura microbiológica de pré-tratamento, para identificar o agente e testar a sua suscetibilidade a antibióticos, para um tratamento mais eficaz. O tratamento deve ser aplicado sempre tendo em conta as boas práticas de higiene e as vacas tratadas devem ser identificadas para evitar o problema de resíduos antibióticos no leite.
- 7) Efetuar um manejo eficaz das vacas secas: nutrição adequada para um melhor sistema imunitário, proceder a secagem utilizando antibiótico por via intramamária e/ou selante interno e aplicar desinfetante de tetos no final. A secagem, nalguns casos, pode ser efetuada de forma seletiva. As vacas secas devem estar num ambiente limpo, seco e confortável de forma a obter benefícios máximos para a sua saúde. Em casos específicos pode ser necessário o uso de vacinas apropriadas.
- 8) Manter as medidas de biossegurança nos casos de agentes patogénicos contagiosos e considerar o refugio de vacas crónicas: ordenhar em último lugar as vacas com CCS elevada (superior a 200.000 céls/ml) por forma a reduzir a propagação da infeção e observar a resposta ao tratamento. Antes de comprar qualquer animal é crucial verificar

o seu histórico de MSC e se possível, devem ser recolhidas amostras de leite para análise microbiológica; separar as vacas adquiridas das restantes até se assegurar a inexistência de qualquer infeção intramamária (IIM). As vacas com mastites crônicas por *Staphylococcus aureus* ou com outro agente não responsivo ao tratamento (ex: *Mycoplasma* spp.) devem estar separadas do resto do rebanho ou então consideradas para refugio. Monitorizar a saúde do úbere das primíparas, pois estas podem afetar a saúde de todo o rebanho.

- 9) Monitorizar regularmente a saúde do úbere: verificar com regularidade os dados individuais das vacas, grupos de vacas ou do rebanho no que diz respeito à CCS, à taxa de MC e aos resultados de análise microbiológicas do leite. Se existirem casos de MSC, pôr em prática um programa de CCS a nível individual. Deve-se ter especial atenção a qualquer IIM nas novilhas. Todos estes dados devem auxiliar nas tomadas de decisão a nível do mercado do leite e de avaliação dos protocolos terapêuticos e preventivos em vigor na exploração.
- 10) Rever periodicamente os programas de controlo de mastites: obter uma avaliação objetiva do cumprimento do programa por parte do médico veterinário ou técnico consultor da exploração. O programa deve ser revisto ponto a ponto e devidamente atualizado conforme as conclusões retiradas.

Cerca de 90% dos casos de mastite, podem ser controlados, se aplicado um plano de controlo semelhante ao referido anteriormente (Fox, 2013).

1.4) Mastite no período seco e no pós-parto

A transição do período seco (PS) para a lactação é um período de alto risco para as vacas leiteiras e a mastite é o seu principal desafio. É neste período, sobretudo no início e no final do mesmo, que o risco para a mastite aumenta (Dingwell et al, 2004; Pyörälä, 2008).

A glândula mamária da vaca leiteira exige um período não lactante (denominado período seco) antes do parto, para otimizar a produção de leite na lactação seguinte e para minimizar os possíveis fatores de risco para a ocorrência de IIM.

Durante o processo de secagem, o aumento da pressão intramamária pode causar a perda de leite dos tetos. As células de defesa afluem à glândula dentro de uma semana após a secagem, mas não têm efeito protetor imediato. O tampão de queratina produzido no canal do teto, que também contém substâncias inibitórias contra bactérias, é formado dentro de uma a duas semanas após a secagem e deve naturalmente selar o teto de forma a prevenir a ocorrência de qualquer IIM (Pyörälä, 2008). Logo, após a secagem a glândula mamária não dispõe prontamente das defesas necessárias para o combate aos microrganismos capazes de desencadear IIM. Muitos são os fatores que contribuem para o aparecimento de IIM no pós-parto, nomeadamente o estado imunitário da glândula mamária no momento do parto, a terapia

de secagem utilizada, o agente causador de mastite e o estado metabólico da vaca (Pyörälä, 2008).

Um estudo efetuado por Green *et al* (2002), revelou que 53% das mastites desenvolvidas nos primeiros 100 dias em lactação tiveram origem no PS. Estes autores ainda constataram que, nas primeiras duas semanas pós-parto, 60% das mastites clínicas foram provocadas por agentes já identificados durante o PS. Noutro estudo de Dingwell *et al* (2004), os autores destacaram que 11% dos quartos desenvolveu uma nova infeção durante o PS e a sua maioria (85%) foram causadas por microrganismos de maior impacto. Cerca de 34% dos agentes isolados foram ambientais e as mastites por *Staphylococcus aureus* assumiram uma percentagem de 11%. Em geral, 21% das vacas desenvolveram uma nova IIM no pós-parto.

A CCS sobe após o parto, num intervalo de cinco a 35 dias, sendo que a primeira redução mais significativa na mesma ocorre a partir das duas semanas pós-parto (Barkema *et al*, 1999). Noutro estudo, constatou-se que a CCS aumenta no parto, mas diminui para níveis normais depois de três a quatro dias (Pyörälä, 2008)

Sugere-se que durante todo o PS se faça uma monitorização da CCS, para conseguir prever o estado de saúde do úbere e tomar as decisões necessárias em termos de manejo (Pantoja *et al*, 2009). Se a CCS for superior a 200 000 céls/ml em todo o PS, o risco de infeção subclínica, sobretudo por um agente de maior impacto aumenta (cerca de 20,4 vezes mais) (Pantoja *et al*, 2009). Esta CCS no PS também contribui para uma maior perda de leite na lactação seguinte, portanto em perdas financeiras para o produtor (Barkema *et al*, 1999; Green *et al*, 2002; Pantoja *et al*, 2009).

Deste modo é fulcral que o manejo das vacas secas seja tido em grande consideração para prevenir a mastite no pós-parto, minimizando os fatores de risco no PS nomeadamente o ambiente onde habitam as vacas secas e novilhas, a sua alimentação e o momento de transferência das fêmeas para o espaço da maternidade (Pyörälä, 2008).

2. Fatores de risco para a ocorrência de mastite

A mastite como doença multifatorial, são provocadas por uma interação de diversos fatores de risco. Conhecer esses mesmos fatores é essencial para o controlo e prevenção da doença, pela identificação de situações de risco e pela implementação de medidas preventivas para a ocorrência da mesma. Os fatores de risco podem estar associados à vaca, aos quartos do úbere e à exploração (Dingwell *et al*, 2004).

2.1) Fatores associados ao animal

- a) **Idade e número de lactações:** com o aumento da idade, a resistência à IIM diminui e também, devido à existência de doenças crónicas, a prevalência de mastite aumenta em animais mais velhos. Porém, as novilhas podem apresentar mastite sobretudo no final da gestação devido ao desenvolvimento do úbere ou em alguns casos, nas

primeiras semanas após o parto, sobretudo devido a ambientes muito contaminados, sucção por parte de outros animais e presença de vetores (moscas) (De Vliegher *et al*, 2012). À medida que o número de lactações aumenta, também aumenta a prevalência de mastites. Um estudo efetuado por Penev *et al* (2014), demonstra que em vacas de 3ª e 4ª lactação a incidência é maior, comparativamente a vacas de 1ª e 2ª lactação, sendo que a presença de mastite em vacas de 3ª lactação foi bastante elevada (48,9%).

- b) **Dias em lactação (DEL):** há medida que aumentam os DEL, o risco de MSC é maior. Quando o período de lactação ultrapassa os 100 dias, o risco de MSC é de 34,5% (Busato *et al*, 2000).
- c) **Raça:** estudos comprovam que as raças de pelagem preta e branca (como a *Holstein Friesian*) tem um menor risco de contrair mastites, relativamente às raças de pelagem vermelha e branca (como a *Meuse Rhine IsseI*) (Shukken *et al*, 1990; Elbers *et al*, 1998). Contudo um estudo suíço revela que a raça *Holstein Friesian* apresenta maior risco relativamente à raça Parda Suíça. Existe ainda uma diferença entre raças puras e raças cruzadas, sendo as últimas mais propícias a desenvolver a doença (Busato *et al*, 1999).
- d) **Estado da lactação:** a maioria das novas infeções ocorre no início da lactação (Elbers *et al*, 1998), nos 60 dias de lactação e no pico da lactação, o que pode resultar do balanço energético negativo verificado neste período (Zadoks *et al*, 2001) ou de uma infeção durante o PS (Breen *et al*, 2009);
- e) **Estado nutricional:** vários compostos nomeadamente minerais e vitaminas desempenham um papel fundamental na defesa imunitária dos animais às mastites, diminuindo a sua incidência e duração. A vitamina E e o selénio são antioxidantes desempenhando funções de defesa nos tecidos e células e a sua carência compromete a atividade dos polimorfonucleares neutrófilos (PMN). A suplementação destes dois compostos na dieta tem demonstrado ser benéfica, pois resulta num maior fluxo de PMN no leite quando há invasão bacteriana intramamária e num aumento da fagocitose por parte das células. Outros compostos também possuem os seus benefícios no que diz respeito à resistência a mastites. A suplementação em cobre contribui para a diminuição da gravidade dos sinais clínicos em mastites por *E. coli* e o zinco é requerido para a formação de queratina, logo através da sua adição na dieta (na forma orgânica) diminui significativamente a incidência de novas IIM. Concentrações plasmáticas baixas de vitamina A (<80µg/100 ml) e de β-carotenos (<200µg/100 ml) estão associados a uma maior gravidade de IIM, logo estes podem ser adicionados ao alimento das vacas para prevenir novas infeções (O'Rourke, 2009).
- f) **Produção de leite:** uma maior produção de leite do rebanho está positivamente correlacionada com a taxa de mastite no mesmo. Consistentemente é encontrada relação genética entre produção de leite e a ocorrência de mastite, sendo que a incidência da doença é maior em vacas altamente produtoras (Schukken *et al*, 1990).

- g) **Outras afeções:** vacas que se encontrem em balanço energético negativo têm maior risco de desenvolver MC. Os partos gemelares, as distócias, as retenções de membranas fetais e as claudicações aumentam o risco de episódio de MC após o parto, possivelmente devido a cetose concomitante e a deficiência em vitamina E e selênio (Zadoks *et al*, 2001).
- h) **Características físicas e morfológicas do úbere:** os animais com a base do úbere abaixo ou junto ao jarrete, têm maior probabilidade de desenvolverem mastite, do que os animais com o úbere posicionado acima do jarrete, principalmente por agentes ambientais. Tal facto deve-se ao aumento da idade dos animais, número de partos e à alta produção (Coentrão *et al*, 2008).
- i) **Características físicas e morfológicas dos tetos:** o canal do teto é a primeira barreira de defesa contra as IIM. O derrame de leite é um importante fator de risco para a ocorrência de IIM (Breen *et al*, 2009). Ocorre devido ao mau funcionamento do esfíncter do canal do teto, principalmente quando a vaca não está a ser ordenhada, que significa que há uma perda contínua de leite entre a cisterna do teto e o ambiente interno. Esta perda de leite também pode promover o meio nutritivo necessário para os microrganismos ambientais se desenvolverem, sobretudo nas camas, aumentado a exposição do úbere (Schukken *et al*, 1990). São mais frequentes os casos de MSC por derrame de leite, relativamente aos de MC (Querengässer *et al*, 2002). As situações de hiperqueratose do teto, também podem despoletar a ocorrência de mastite. Esta situação refere-se ao aumento da espessura (hiperplasia) do estrato córneo (camada de queratina) da pele do teto e é uma resposta inespecífica a um estímulo crónico (Brenn *et al*, 2009). A hiperqueratose é provocada por sobreordenação, pulsação desadequada, níveis de vácuo demasiado altos, ordenha com camisas de tetinas danificadas e/ou remoção abrupta das tetinas sem previamente desligar o vácuo (Blowey e Edmondson, 2010). O edema e a congestão do teto, resultam numa oclusão mais lenta do canal do teto, estando este mais tempo aberto, possibilitando a entrada de microrganismos e consequentemente IIM (Mein *et al*, 2004).

2.2) Fatores associados ao ambiente e manejo

- a) **Higiene do úbere:** existe uma relação entre o grau de higiene do úbere e a incidência de mastite. Esta escala baseia-se na observação dos animais quando chegam à sala de ordenha e relaciona a conspurcação dos úberes, com a incidência de mastite. As vacas com úberes mais conspurcados terão uma maior incidência de IIM e aquelas que tenham um grau de 3 ou 4 estão mais sujeitas a mastite por agentes de maior impacto comparativamente às que tenham um grau de 1 e 2 (Schreiner e Ruegg, 2003). A classificação de higiene do úbere, encontra-se especificada na figura 1.

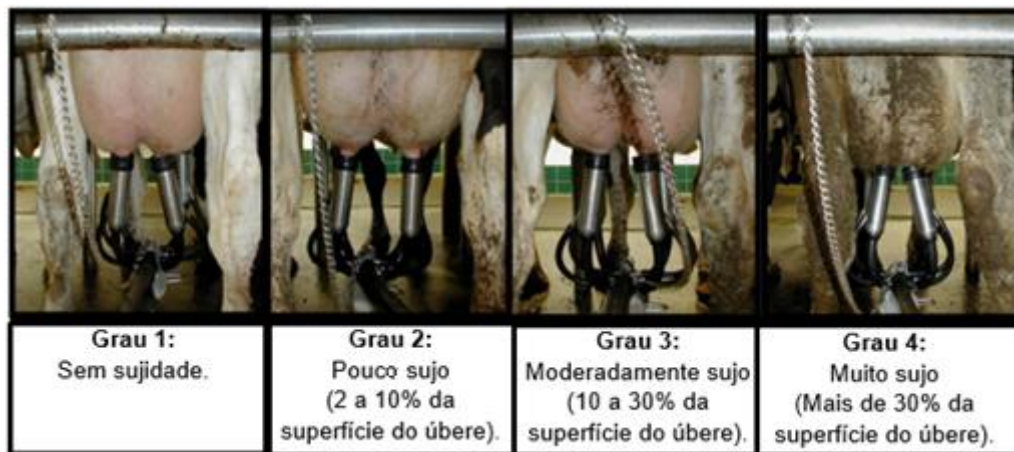


Figura 1 – Classificação de higiene do úbere (Adaptado de Schreiner e Ruegg, 2003).

- b) **Qualidade das instalações:** no estábulo as camas são parte importante do ambiente da vaca leiteira, uma vez que esta passa a maior parte do seu tempo diário deitada. As camas podem desempenhar um papel fundamental na transmissão de agentes patogénicos ambientais, uma vez que existe contato direto e permanente entre o úbere, tetos e o material das camas onde as bactérias sobrevivem por longos períodos (Elbers *et al*, 1998). Os materiais de cama inorgânicos, como a areia, mostram-se ser mais eficazes relativamente aos materiais orgânicos, uma vez que evitam a propagação de bactérias. Os cubículos continuam a ser muito utilizados pelos agricultores como camas para os seus animais. Os tapetes dos cubículos não absorvem a humidade e a sua superfície permanece húmida, resultando num ambiente favorável ao crescimento bacteriano. Existe uma correlação positiva entre a sujidade dos cubículos, com a taxa de mastite e ainda com a limpeza das vacas (Schukken *et al*, 1990). Um especial destaque deve ser dado à área da maternidade, pois se apresentar elevada conspurcação fecal, aumenta o risco de MC, sobretudo nas novilhas (De Vliegher *et al*, 2012). Um estudo comprova que tanto a limpeza dos cubículos como das maternidades promove uma CCS baixa e uma menor exposição a agentes ambientais (Barkema *et al*, 1998). Ainda relativamente ao manuseio das camas, estas devem ter as dimensões adequadas para a exploração em causa para evitar que se acumule muita matéria orgânica e disponibilidade de nutrientes para o crescimento bacteriano. Para além disso se as dimensões das camas não forem adequadas e/ou foram desprovidas de conforto, os animais deitam-se noutras zonas do estábulo, nomeadamente nos corredores, que caso não estejam igualmente limpos representam o mesmo problema das camas. A limpeza dos corredores é também um fator a ter em conta para prevenir a ocorrência de mastite, pois resultam num piso mais limpo, unhas mais limpas, consequentemente cubículos com menor quantidade de fezes e úberes mais limpos. Limpar os corredores mais do que quatro vezes por dia, mostra-se eficaz

para minimizar o risco de mastite, sobretudo se o sistema de limpeza do pavimento for automático (rodo) (Santman-Berends *et al*, 2016).

Independentemente do material da cama, a quantidade que se coloca não deve ser demasiado alta, pois desta forma é substituída menos frequentemente. Se a camada de material não for fina e as suas dimensões as ideais, rapidamente se desenvolvem as condições favoráveis de temperatura e humidade para o desenvolvimento de coliformes. O *Staphylococcus aureus*, relativamente a outros *Staphylococcus* coagulase negativos, é isolado com menor frequência a partir do ambiente, embora a sua presença nas camas seja comum (Elbers *et al*, 1998). Mais ainda, a sobrepopulação de animais nos parques aumenta o risco de mastites ambientais (Krawczel e Grant, 2009).

A fonte de água para os animais não deve ser qualquer tipo de poço ou de curso natural, pois embora não exista uma razão concreta, provavelmente as vacas ficam expostas a locais mais contaminados (Schukken *et al*, 1990).

Outro fator importante é a ventilação das instalações. Uma boa ventilação ajuda a manter o ambiente mais seco e fresco e controla a temperatura e humidade (Schukken *et al*, 1990).



Figura 2 – Exemplo de instalações numa exploração da região, com limpeza adequada (fotografia gentilmente cedida pelo Dr. Pedro Meireles, SVA).

c) **Manejo dos animais:** O PS continua a ser reconhecido como um fator crítico para a saúde do úbere. No final da lactação se uma IIM estiver presente pode ser curada, mas também há risco de adquirir novas infecções no PS (Madouasse *et al*, 2012). Estima-se que cerca de 8 a 12% de quartos que não recebam antibioterapia intramamária no PS, fiquem infetados neste período e que o risco aumenta no início e no final do PS (Ruegg, n.d). Num estudo efetuado por Peeler *et al* (2000), concluiu-se que um PS curto (<40 dias) protege as vacas de mastite. É argumentável afirmar que um curto PS resulta numa redução do período de risco para o estabelecimento de uma infeção e que a administração de antibiótico intramamário na vaca seca, proporcionará proteção contra as bactérias e resulta em menores taxas de MC. No entanto na prática, é recomendável uma duração entre 40 a 60 dias pois favorece em termos de produção leite, gordura e proteína na próxima lactação e facilita o parto (Sawa *et al*, 2012).

A introdução de animais na exploração pode por si só pode representar um fator de risco para a ocorrência de mastite (Peeler *et al*, 2000).

O tratamento dos casos de MC com antimicrobianos foi associado a um menor risco de IIM. Os casos de MC que não são tratados adequadamente podem levar a IIM crónicas que são clinicamente curadas, mas permanecendo o úbere bacteriologicamente infetado, resultando num maior risco de recorrência (Santman-Berends *et al*, 2016).

d) **Máquina de ordenha:** estimativas apontam que os efeitos produzidos pela máquina de ordenha representam 6 a 20% de novas infeções nas explorações (Mein *et al*, 2004). A máquina de ordenha pode afetar a saúde do úbere e conseqüentemente estar na origem de novas IIM por: contaminação da pele do teto, alteração da condição do teto, indução da penetração de microrganismos no canal do teto, disseminação de microrganismos e graus de esvaziamento do úbere variáveis (*International Dairy Federation* [IDF], 1987).

A máquina de ordenha através das tetinas, pode servir de veículo para o transporte de bactérias provocando contaminação cruzada entre vacas (Mein, 2012). O surgimento de fissuras nas partes de borracha (ou silicone, dependendo do material) do equipamento de ordenha facilita a acumulação de leite (Coentrão *et al*, 2008). Estas fissuras permitem a aderência de microrganismos e se o leite estiver contaminado, a transmissão de agentes de mastite. A contaminação do teto também pode ocorrer por fluxo retrógrado de leite do coletor para os tubos dos outros quartos (Blowey e Edmondson, 2010).

Os microrganismos podem penetrar no canal do teto quando se gera uma diferença de pressões entre a extremidade do teto e o coletor, resultando na propulsão de gotículas de leite dos tubos curtos do leite ou do coletor para a extremidade dos tetos. Se as gotículas de leite estiverem contaminadas, poderá ocorrer infeção do quarto (Mein *et al*, 2004).

Alguns estudos radiográficos e de ultra-sons demonstraram que cerca de um terço do volume de leite presente na cisterna do teto, logo após a teta começar a colapsar, é

propulsionado de volta para a cisterna do úbere pelo encerramento do canal da tetina. Na prática, a importância deste mecanismo não está bem estabelecida (Mein, 2012).

Quanto aos graus de esvaziamento do úbere, tanto a subordenha como a sobreordenha têm efeitos nefastos no úbere. A primeira devido à acumulação de leite residual que fica no úbere entre ordenhas, possibilitando a multiplicação bacteriana, elevando a CCS e aumentando o risco de mastite. A segunda por originar lesões traumáticas nos tetos, que já foram descritas como prejudiciais e facilitam a ocorrência de mastite (Blowey e Edmondson, 2010). Em comparação com as novas taxas de infecção no início do PS ou quando as ordenhas não são efetuadas, a nova taxa de infecção é relativamente baixa nas vacas que são ordenhadas regularmente duas ou mais vezes por dia. Assim, a máquina de ordenha poderá ter um efeito positivo na redução do risco de nova infecção por mastite. Em geral, os sinais clínicos da mastite diminuem à medida que a frequência de ordenha aumenta, desde que a condição da tetina não seja comprometida pela ordenha (Mein, 2012).

- e) **Técnica da ordenha:** num efetivo existem animais saudáveis e outros que acabam por estar infetados e por essa razão separar as vacas por grupos (não infetadas; infetadas; estado de infecção desconhecido) parece ser uma boa estratégia para evitar novas infecções. As vacas são agrupadas de acordo com a CCS. O grupo não infetado é o primeiro a ser ordenhado em conjunto com as primíparas, até se obter o resultado da primeira CCS. De seguida é ordenhado o grupo em que o estado de infecção é desconhecido e no final as vacas com mastite (Ruegg *et al*, 2005).

Na fase da pré-ordenha, é feita a preparação dos tetos. Esta fase visa limpar, desinfetar e secar corretamente os tetos, antes da fixação da unidade de ordenha, a fim de manter a contaminação bacteriana do leite o mais baixa possível (Rasmussen e Reinemann, 2010). As bactérias mais patogénicas residem na extremidade do teto e como tal a sua desinfecção é importante na redução do número de bactérias. Está bem estabelecido que a desinfecção do teto pode reduzir as bactérias da superfície da tetina em 75% (Ruegg *et al*, 2005). O *pré-dipping* continua a ser o produto mais eficaz para controlar os agentes ambientais. A água não é aconselhada para a lavagem e a sua utilização está associada a mastites por *E.coli* (Schukken *et al*, 1991). Se utilizada, deve ser só a nível dos tetos, pois se o úbere estiver conspurcado com matéria fecal, esta facilmente atingirá a ponta dos tetos e possibilita a entrada de microrganismos para o seu interior. A secagem do teto ao ar não é um substituto satisfatório para a secagem manual com um pano ou toalha de papel individual. Os tetos molhados permitem o fácil acesso das bactérias à pele (Ruegg *et al*, 2005).

No final da ordenha, deve ser aplicado a cada teto o *pós-dipping* sendo este de grande importância para reduzir a transmissão de agentes contagiosos ou se os tetos estiverem danificados (Rasmussen e Reinemann, 2010; Ruegg *et al*, 2005). As explorações que utilizam *pós-dipping* possuem CCS no tanque mais baixas (Barkema *et al*, 1998b). No entanto, este fator é controverso já que outros estudos afirmam que

esta prática aumenta o risco de mastite (Schukken *et al*, 1990; Elbers *et al*, 1998; Peeler *et al*, 2000). Tal pode acontecer porque normalmente nos rebanhos onde a prevalência de MC é mais alta, tomam-se medidas adicionais como a desinfecção dos tetos após a ordenha para tentar reduzir as IIM (Santman-Berends *et al*, 2016).

No final da ordenha, deve-se estimular as vacas para se manterem em estação, através da distribuição de comida fresca na manjedoura, pois o canal do teto mantém-se aberto durante 1 a 2 horas (Blowey e Edmonson, 2010) o que facilita a penetração dos microrganismos.

Coentrão *et al* (2007), concluíram que em explorações em que os ordenhadores não tinham qualquer tipo de formação (procedimentos de higiene adequados, uso e manutenção do equipamento de ordenha e realização periódica de TCM) apresentaram 2,51 vezes mais probabilidade de apresentar uma CCS superior a 200 000 céls/ml.

A máquina de ordenha deve ser mantida limpa, bem como toda a sala de ordenha (figura 3) (Ruegg *et al*, 2005).

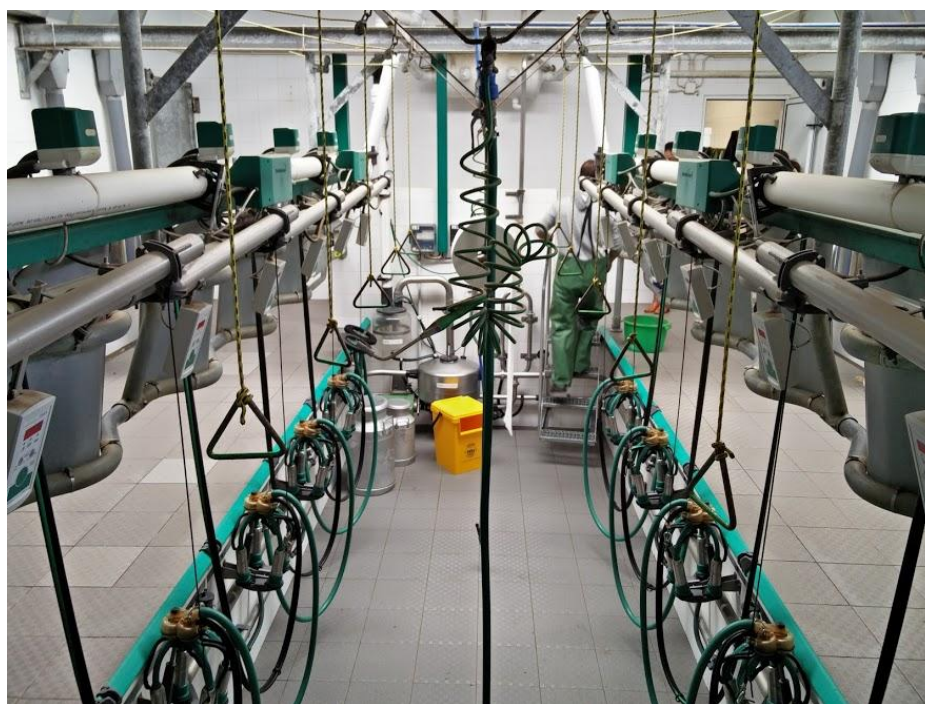


Figura 3 – Exemplo de uma sala de ordenha de uma exploração da região, com limpeza adequada (foto gentilmente cedida pelo Dr. Luís Pinho, SVA).

- f) **Estação do ano:** a prevalência de mastite tem tendência a aumentar com o tempo mais quente e húmido, mais especificamente na primavera e verão. O aumento da temperatura do ar, bem como o aumento da humidade e sobretudo se as vacas se encontrarem estabuladas, beneficia a ocorrência de mastites por induzirem o crescimento das bactérias (Penev *et al*, 2014). Diferentes autores relatam resultados

divergentes neste parâmetro. Riekerink *et al* (2007), estabeleceram que a maior parte dos casos de mastite ocorriam no inverno. Ainda de acordo com estes autores, a incidência de mastites depende do sistema de produção. Se as vacas permanecerem em regime extensivo na pastagem todo o ano, o risco de mastite essencialmente por *E. coli* tem o seu pico no inverno, o que seria diferente caso estivessem estabuladas todo o ano, em que esse pico seria no verão. (Riekerink *et al*, 2007). Logo, pode-se concluir que a estação do ano é um fator de risco, mas que depende das condições da exploração.

2.3) Fatores associados ao agente etiológico

a) **Viabilidade:** a capacidade de determinado agente patogénico sobreviver no ambiente, neste caso relacionado com os animais e resistir aos procedimentos de limpeza e desinfecção, é uma característica de relevância de cada agente capaz de provocar a doença. Os agentes causadores de mastite contagiosa são mais suscetíveis à desinfecção, comparativamente aos agentes ambientais (Radostits *et al*, 2007).

b) **Fatores de virulência:** os diferentes fatores de virulência existentes entre os agentes etiológicos de mastite aumentam a probabilidade de ocorrência da doença. Entre os vários fatores de virulência, destacam-se: a capacidade de adesão e colonização ao epitélio mamário; a produção de diversas toxinas (como as enterotoxinas, as α e β toxinas, as hemolisinas, as leucocidinas); a capacidade de resistir aos mecanismos das células de defesa, como os macrófagos e PMN; a produção de biofilme e ainda a produção de inúmeras enzimas (como a coagulase, a hialuronidase ou a catalase) (Radostits *et al*, 2007; Sutra e Poutrel, 1994).

c) **Multiplicação no leite:** o facto do agente se multiplicar bem no leite, indica a sua capacidade em utilizar a lactose como fonte de carbono e/ou que possui capacidade proteolítica, garantindo a suplementação adequada em azoto através da hidrólise de caseína (Costa, 1998).

3. Contagem de células somáticas

Como já referido, a inflamação provocada pela mastite resulta da entrada e multiplicação de microrganismos patogénicos na glândula mamária com uma série de eventos complexos, nomeadamente uma redução da atividade de síntese de compostos do leite, alterações composicionais no leite e o aumento na CCS (Harmon, 1994).

Entendem-se por células somáticas um conjunto de células que estão sempre presentes no leite sobretudo células de descamação do epitélio mamário e células de defesa do organismo, nomeadamente os leucócitos. As células somáticas presentes no leite de uma vaca saudável incluem os macrófagos (66-88%), linfócitos (10-27%), neutrófilos (1-11%) e células epiteliais (0-7%) (Ruegg, 2002). Com o início da inflamação, surge um aumento dramático na CCS explicado pelo aumento de PMN (Akers e Nickerson, 2011).

Quando as bactérias invadem e colonizam a glândula mamária são os macrófagos que iniciam a resposta inflamatória e atraem PMN para o leite, com o objetivo de eliminar os microrganismos invasores (Ruegg, 2002).

A CCS de uma vaca que não está infetada com mastite é geralmente menos que 200 000 céls/ml sendo que muitos animais conseguem manter os valores abaixo das 100 000 céls/ml. A percentagem de neutrófilos presentes bem como as CCS são indicadores da existência da doença. Se mais do que 90% forem neutrófilos e a CCS for acima das 200 000 céls/ml, está-se perante uma mastite (Ruegg, 2002). Vários estudos revelam que em quartos não infetados a CCS atinge aproximadamente 70 000 céls/ml (Pantoja e Ruegg, 2013; Shukken *et al*, 2003). Muitos autores consideram que o limiar de CCS aceite do ponto visto prático, para determinar se de facto existe infeção intramamária, é de 200 000 céls/ml, (Madouasse, 2011; Pantoja e Ruegg, 2013; Pyörälä, 2003; Ruegg, 2002). Foi demonstrado que este valor foi considerado ótimo para minimizar o erro de diagnóstico, sendo a sua sensibilidade de cerca de 75% e a sua especificidade de aproximadamente 90% (Degen *et al*, 2015; Shukken *et al*, 2003; Lam *et al*, 2009). Os valores abaixo de 200 000 céls/ml não asseguram absolutamente a ausência de infeção, apenas existe maior probabilidade de que o leite seja proveniente de uma glândula sem inflamação, logo, sem infeção (Fox, 2013). Ruegg (2015) recentemente sugeriu que todas as vacas com CCS de 200 000 céls/ml, são consideradas como tendo pelo menos um quarto afetado com mastite subclínica.

A CCS no leite para diagnóstico de MSC, pode realizar-se através da recolha de amostras do tanque de leite ou do animal individualmente. A CCS no tanque de leite é utilizada para estimar a prevalência da doença a nível do rebanho (Madouasse, 2009). É também o indicador de referência mais frequentemente utilizado para avaliar a qualidade do leite e é usado por diversas empresas que recolhem o leite, como base de pagamento ou como prémio de produção (Østerås, 2006; Ruegg ,2002;). A colheita deve ser efetuada assepticamente, com prévia homogeneização do tanque e na sua parte superior. A CCS no tanque de leite fornece indicações ao nível de MSC e das perdas de produção de leite no rebanho (Schroeder, 2012).

Tabela 3 - Prevalência estimada de infeção e perdas na produção de leite associada com a CCS elevada no tanque (NMC, 1996).

CCS do tanque (x10 ³ céls/ml)	Quartos infetados (%)	Nível de infeção (%) ¹	Perdas de produção ² (%)
200	6	4	0
500	16	11	6
1000	32	21	18
1500	48	32	29

¹O nível de infecção (nas vacas) baseia-se no pressuposto que a média de vacas está infetada em metade dos quartos.

²Perda de produção calculada como uma percentagem da produção esperada em 200 000 céls /ml.

A CCS individual deve ser feita por amostras obtidas na ordenha e permite identificar as vacas com infecção intramamária (IIM) (Madouasse, 2009).

A presença celular no leite é um dos importantes mecanismos de proteção da glândula. Num trabalho de Sharma *et al* (2011), foi descrito que existem diversos fatores que influenciam a CCS no leite a nível individual e do rebanho para além das IIM e estes são:

- a) **Número de lactações:** a CCS aumenta com o número de lactações independentemente de a vaca estar ou não infetada. A elevação do CCS tem sido associada à resposta imune inata do animal na preparação para o parto e para melhorar o mecanismo de defesa da glândula mamária neste momento crítico.
- b) **Idade e raça:** a CCS aumenta com a idade, mas isto acontece principalmente devido a um aumento da prevalência de infecção em vacas mais velhas e não necessariamente ao aumento da idade *per se*. As raças de vacas de alta produção têm tendência a possuir um maior número de células somáticas no leite, sendo exemplos disso a raça Parda Suiça e a *Holstein Friesian*).
- c) **Número de partos:** existe uma pequena mudança na CCS de quartos não infetados à medida que o número de lactações aumenta, mas a CCS aumenta com o número de partos.
- d) **Estação do ano:** a CCS parece ser mínima no inverno e atinge valores mais elevados no verão, porque devido às temperaturas e humidade ideais nesta altura do ano, o número de bactérias nas camas e o seu crescimento é maior.
- e) **Stress:** no leite, radicais livres são produzidos durante momentos de stress, principalmente na ordenha e devido a feridas nos tetos por microrganismos ambientais ou contagiosos. Estes radicais são instáveis e reagem de forma rápida com outros compostos para ganhar estabilidade, aumentando desta forma a CCS.
- f) **Variação diurna:** em geral, a CCS é menor antes da ordenha, aumenta rapidamente após a descarga dos primeiros jatos e pode persistir até 4 horas após a ordenha, diminuindo depois gradualmente.
- g) **Transporte e armazenamento do leite:** a CCS pode ser influenciada pelos métodos de transporte e armazenamento, demonstrando-se que é mais elevada quando são utilizadas substâncias como o dicromato de potássio, bronopol e azidiol.

No entanto, existem outras razões relacionadas com a gestão da exploração que são igualmente importantes no que diz respeito à alteração da CCS. A falta de condições de higiene na exploração, seja nas instalações ou no manuseio da ordenha, facilita a ocorrência de IIM e conseqüentemente faz aumentar as descargas de células somáticas no leite. A privação

de alimento e de água, faz com que diminua drasticamente a produção de leite e proporcionalmente provoca um aumento na CCS (Harmon, 1994; Sharma *et al*, 2011).

A *Dairy Herd Improvement Association* (DHIA) criou um sistema que consiste na transformação logarítmica da CCS em várias categorias classificadas de 0 a 9, denominado *linear score* (LS). A grande vantagem da utilização do LS não é só a simplificação da leitura da CCS que se encontra regularmente expressa em milhares, mas porque permite relacionar as células somáticas com a produção de leite (Reneau, 1986). À medida que a CCS aumenta, também aumentam as perdas de produção de leite (Batra, 1986; Fetrow, 1988), embora o contrário nem sempre se verifique.

Tabela 4 – *Linear score* e a sua relação com as perdas de produção de leite, durante a lactação (adaptado de Reneau, 1986).

Linear score	Média de CCS (x10 ³ céls/ml)	Perdas durante a lactação (Kg)	
		Primíparas	Vacas com mais lactações
0	< 25	0	0
1	25	0	0
2	50	0	0
3	100	200	400
4	200	400	800
5	400	800	1200
6	800	1000	1600
7	1600	1200	2000
8	3200	1400	2400
9	6400	1600	2800

Tem sido crescente a preocupação com a saúde do úbere e com a implementação de programas que a promovam, não só pelo facto da existência de mastites que prejudicam tanto em quantidade e qualidade o leite, mas porque o consumidor final é cada vez mais exigente com o produto e igualmente com o bem-estar animal durante todo o processo. A CCS pode ser utilizada como meio de monitorização da saúde do úbere segundo várias perspetivas, nomeadamente: quarto afetado, vaca, rebanho e população. As contagens de células somáticas de um quarto ou todos os quartos, representam diretamente o estado inflamatório da glândula mamária. A contagem de células somáticas do rebanho e população está relacionada com o processo inflamatório nas vacas individualmente, mas é mais específica para o estado de saúde do úbere do rebanho e para a qualidade do leite do rebanho e da população (Schukken *et al*, 2003).

4. O contraste leiteiro

O contraste leiteiro (CL) é um método de registo objetivo e sistemático da produção leiteira, que consiste na avaliação da quantidade e qualidade do leite produzido por cada animal de uma exploração, no decurso das suas sucessivas lactações, permitindo estimar a produção total de leite, gordura e proteína e fornecendo ainda informações sobre a presença de células somáticas, ureia e corpos cetónicos no leite. O CL é efetuado mensalmente e executado por um profissional, o contrastador ou por uma equipa dos mesmos, que assistem à ordenha de todos os animais no contraste e retiram amostras de leite para que seja feita a medição da quantidade de leite que cada fêmea produz e sempre garantindo que não existe qualquer estimulação mecânica ou outra. As amostras são enviadas para o Laboratório Interprofissional de Leite e Lacticínios () onde são analisadas, sendo os resultados disponibilizados aos produtores, em média, em 48 horas. A informação recolhida e os resultados das análises de leite são processados informaticamente e disponibilizados aos criadores em diferentes relatórios para serem utilizados na gestão das explorações (Resultados do Contraste Leiteiro; Resumo Mensal; Contagem de Células Somáticas; Dados Reprodutivos; Animais em Risco de Cetose) (Portaria n.º 1066/91 de 22 de outubro).

Os métodos oficialmente reconhecidos para a realização do contraste leiteiro em todo o território nacional são o método principal (A4) ou o método alternado (AT4). O método principal é o que se pratica todos os meses, sobre todo o efetivo da mesma raça, abrangendo todas as ordenhas efetuadas em 24 horas. O método alternado é o que se pratica todos os meses, sobre todo o efetivo da mesma raça, incidindo alternadamente sobre uma das ordenhas (Portaria n.º 1066/91 de 22 de outubro).

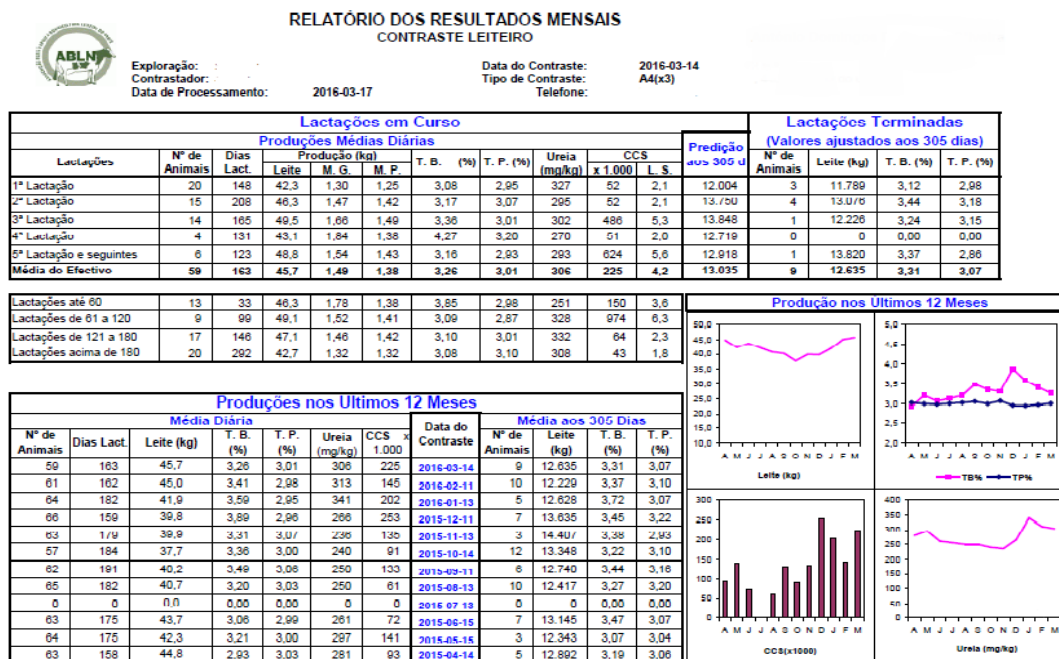


Figura 4 – Exemplo de resumo mensal do contraste leiteiro de uma exploração do EDM (retirado de Bovinfor®).

5. Análise epidemiológica

Uma doença como a mastite, é assumida como sendo influenciada por múltiplos e potenciais fatores de risco ou determinantes. Estes podem ser agrupados em tempo, espaço e características do hospedeiro. As investigações epidemiológicas concentram-se na medição dessas determinantes para grupos de animais selecionados de uma população. Os parâmetros que devem ser investigados incluem o estado de saúde do animal e quaisquer fatores que possam potencialmente influenciar o mesmo, como idade, condição corporal, estado sanitário, etc. A localização espacial e temporal de cada indivíduo também pode ser relevante (Pfeiffer, 2009).

As doenças seguem padrões temporais, podendo ser consideradas epidêmicas ou endêmicas. Uma epidemia é definida como a ocorrência de doença acima do que seria considerado teoricamente esperado, enquanto que uma doença endêmica é definida como a ocorrência frequente ou constante de doença numa população e local específicos. Podem ocorrer também casos esporádicos de doença, que se caracterizam por ocorrer de forma irregular e ao acaso (Thrusfield, 2007). A mastite insere-se no grupo das doenças endêmicas, sendo bastante comum em bovinos leiteiros.

O padrão espacial da doença é tipicamente uma consequência de fatores ambientais. Os fatores incluem aspectos do clima (temperatura, humidade, precipitação), bem como aspectos do manejo (o manejo efetuado numa determinada área de um país pode resultar em altas taxas da doença que pode não ser vista em outras áreas geográficas) (Stevenson, 2008). A nível espacial poderá ser de interesse determinar se a doença é resultado da transmissão de um agente infeccioso devido à proximidade dos animais ou da presença de fatores de risco presentes na região (Pfeiffer, 2009).

Uma das tarefas fundamentais na pesquisa epidemiológica é a quantificação da ocorrência da doença. O evento de interesse pode ser infeção, doença clínica ou morte ao nível do animal individual. Mas também é possível usar o estado da doença de agregados de animais, como os rebanhos (Pfeiffer, 2009).

Os conceitos epidemiológicos fundamentais são a incidência e a prevalência.

A incidência refere-se ao número de novos casos e mede com que frequência os indivíduos inicialmente suscetíveis se tornam casos de doença à medida que são observados ao longo do tempo. A contagem de casos incidentes é o número desses eventos que ocorrem numa população definida durante um período de tempo específico. (Pfeiffer, 2009; Stevenson, 2008).

A taxa de incidência (também conhecida como densidade de incidência) expressa o número de casos novos de uma determinada doença durante um período definido, numa população sob o risco de desenvolver a doença (Stevenson, 2008). Não é um risco ou uma probabilidade e portanto, não possui uma interpretação individual. Em vez disso é um conceito instantâneo, o que significa que o valor calculado expressa a taxa em que os casos ocorrem em determinado instante (Pfeiffer, 2009). A fórmula de cálculo é a seguinte:

$$\text{Taxa de incidência} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de novos casos}}{\text{Quantidade indivíduo-tempo}^1 \text{ de exposição}}$$

¹Medida composta pelos indivíduos que integram uma população e pelo intervalo de tempo durante o qual cada um deles se expõe ao risco de adoecer.

O termo prevalência refere-se ao número de casos de uma dada doença ou atributo que existe numa população em determinado momento (Stevenson, 2008). A prevalência pode ser interpretada como a probabilidade de um indivíduo escolhido aleatoriamente de uma população, possuir a doença num determinado momento. Portanto, esta medida é muito importante para a tomada de decisão diagnóstica (Pfeiffer, 2009). A prevalência é calculada com base na fórmula:

$$\text{Prevalência} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de casos existentes}}{\text{Total da população}}$$

Os relatórios sobre a incidência de mastite e a prevalência são escassos. A incidência de mastite em vacas leiteiras varia dependendo da localização geográfica e do ambiente habitacional. Na América do Norte e na Europa, a incidência de MC em vacas leiteiras varia de 7 a 30 casos por 100 vacas/ano em risco. Nos rebanhos de pastoreio da Nova Zelândia, avaliou-se uma taxa de incidência entre 10% e 19%, mas num dos estudos apenas as vacas com menos de 100 dias após o parto foram avaliadas. Da mesma forma, na região de Nova Gales do Sul da Austrália, a incidência de MC foi de 16%. Um estudo em África relatou que a incidência de MC é de 43 casos por cada 100 vacas/ano em risco. A prevalência de MSC é de 31% nos EUA, de 20% a 40% na Europa Ocidental e de 29% na Austrália. Em outros países em desenvolvimento, a prevalência de MSC é muito maior (Contreras e Rodriguez, 2011).

Em epidemiologia, outro conceito essencial é o de risco. Este define a probabilidade de que a doença se desenvolva num indivíduo durante um período específico de tempo e é calculada como uma proporção (Pfeiffer, 2009).

5.1) Cálculo de índices de mastites para análise epidemiológica através do contraste leiteiro

A CCS é de inestimável valor para o controlo das mastites nas explorações e o CL possui dados relativos à mesma, que estão prontamente acessíveis para os produtores (Bradley *et al*, 2007).

O CL é uma ferramenta de gestão muito útil a ser utilizada nas explorações leiteiras e pode também ser aplicado para estudar padrões epidemiológicos. Não obstante, por inúmeras

vezes, não se retira adequadamente vantagem do mesmo e este acaba por ser menosprezado, porque os parâmetros apresentados nos relatórios mensais não estão devidamente explicados ou não possuem qualquer referência que possibilite a utilização correta destes dados. Contudo, é possível efetuar uma análise direta do CL, bem como proceder a fórmulas matemáticas e cálculos com os seus dados, para a obtenção de índices de interesse para a saúde do úbere e gestão da exploração. Estes índices calculam-se sobretudo através da CCS fornecida através do CL ao longo dos meses.

É de extrema importância lembrar que um valor limite de CCS individual deve ser selecionado e aplicado de forma sistemática. Se esse valor for alterado, as conclusões que se tiram face ao estado de infeção dos animais, são mais difíceis de avaliar mês a mês (Bradley e Green, 2005).

Definindo como limite para infeção uma CCS > 200 000 céls/ml (ou LS > 4), podem ser calculados os seguintes índices para análise de mastites:

a) Vacas saudáveis: garantir a produção de leite de alta qualidade de vacas saudáveis, é o principal objetivo dos médicos veterinários que trabalham com os produtores de leite. Por isto, é cada vez mais necessária a implementação de programas de saúde do úbere que visam prevenir a ocorrência de mastite na exploração (Ruegg, 2012). O sucesso destes programas depende da deteção efetiva da doença e de um diagnóstico preciso, da avaliação das opções de tratamento mais adequadas a cada caso e da implementação de boas práticas para prevenir a exposição dos animais aos agentes etiológicos de mastites. Devem ser ainda revistos com regularidade os registos de CCS do rebanho, de modo a monitorizar os casos de mastite e também devem estabelecer-se objetivos para a exploração (Ruegg, 2012).

- **Vacas saudáveis (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} < \text{limiar no CL anterior} + \text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} < \text{limiar no último CL}}{\text{N}^\circ \text{ total de vacas nos dois CL consecutivos}} \times 100$$

b) Novas infeções (NI) e risco de novas infeções: o índice de NI é relativo à proporção de vacas que adquiriram nova IIM entre contrastes (Bradley *et al*, 2007). Para obter dados sobre novas infeções é importante registar os casos de mastite. As vacas com novas infeções, em que a CCS permanece elevada em amostras subsequentes, devem ser vigiadas para avaliação do seu estado bacteriológico. A observação dos procedimentos de ordenha, a classificação da integridade dos tetos, a classificação da higiene das vacas e dos úberes, a higiene da cama, a avaliação da separação dos animais cronicamente infetados e a avaliação do ambiente da vaca são fatores de risco

importantes que afetam a nova taxa de infecção (Schukken *et al*, 2003). As NI só podem ser reduzidas através da diminuição do impacto de todos os fatores de risco (Østerås, 2006). É difícil monitorizar as novas IIM através de cultura bacteriológica repetida ao longo do tempo, mas repetindo a CCS de cada animal individualmente, poderá servir como medida representativa deste parâmetro (Dohoo e Leslie, 1991).

- **NI (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} < \text{limiar no CL anterior} + \text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} > \text{limiar no último CL}}{\text{N}^\circ \text{ total de vacas nos dois CL consecutivos}} \times 100$$

- **Risco de NI (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de novas infeções}}{\text{N}^\circ \text{ de NI} + \text{N}^\circ \text{ de vacas saudáveis}} \times 100$$

c) **Vacas com mastite crónica:** quando o sistema imunitário não é capaz de combater e remover as bactérias, surge uma infecção crónica da glândula mamária, o que desencadeia uma CCS elevada a longo prazo (Schukken *et al*, 2003). Os produtores devem saber identificar e controlar os animais cronicamente infetados. As vacas que mantêm mais de dois meses consecutivos uma CCS > 200 000 céls/ml e as vacas que experimentam dois episódios repetidos de mastite clínica podem ser consideradas cronicamente infetadas. São necessárias três contagens mensais de células somáticas para se tomar uma decisão relativamente às vacas cronicamente infetadas (Bradley e Green, 2005). Quando uma grande proporção de vacas, possui uma CCS elevada de forma crónica indica que as vacas são infetadas com microrganismos adaptados ao hospedeiro, geralmente transmitidos de forma contagiosa (Ruegg e Pantoja, 2013). As vacas cronicamente infetadas devem ser identificadas através de testes de rotina de CCS e de análise microbiológica, para identificar os agentes causais. As que forem refratárias ao tratamento, devem ser refugadas para reduzir o risco de transmissão para animais saudáveis (Ruegg e Pantoja, 2013).

- **Vacas com mastite crónica (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} > \text{limiar no CL anterior} + \text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} > \text{limiar no último CL}}{\text{N}^\circ \text{ total de vacas nos dois CL consecutivos}} \times 100$$

d) **Vacas curadas e taxa de cura:** um úbere é classificado como clinicamente curado quando os sinais clínicos de inflamação e alterações no leite estão ausentes, embora a

vaca possa estar a produzir menos leite. No entanto, a definição de cura está também relacionada com a inexistência de microrganismos em análises bacteriológicas anteriores e pela ausência de uma CCS acima do valor limite (200 000 céls/ml) (Degen *et al*, 2005). O sucesso na monitorização dos animais tratados, pode ser comprovado pela realização de culturas microbiológicas do leite dos animais sujeitos a tratamento ou seguindo os padrões de contagem de células somáticas. Um exemplo disto é o controlo que deve ser feito no tratamento de vacas secas por meio da CCS no PS *versus* a CCS no parto (Schukken *et al*, 2003).

- **Vacas curadas (%):**

$$\frac{\text{N}^{\circ} \text{ de vacas com CCS} > \text{limiar no CL anterior} + \text{N}^{\circ} \text{ de vacas com CCS} < \text{limiar no último CL}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de vacas nos dois CL consecutivos}} \times 100$$

- **Taxa de cura (%):**

$$\frac{\text{N}^{\circ} \text{ de vacas curadas}}{\text{N}^{\circ} \text{ de vacas curadas} + \text{N}^{\circ} \text{ vacas crónicas}} \times 100$$

5.1.1) Cálculo de índices epidemiológicos durante o PS

Está comprovado que existe uma relação entre uma IIM adquirida no PS com a ocorrência de mastite na lactação seguinte (Green *et al*, 2002). Se a CCS ultrapassa o valor de 200 000 céls/ml entre o fim de uma lactação e o início da próxima, é sugestivo que ocorreu uma infeção durante o PS (Green *et al*, 2008).

Embora o PS represente um risco para a IIM, ainda não foram desenvolvidos para as vacas após o parto, sistemas eficientes para monitorizar o seu estado da infeção. A CCS é um teste efetivo e de baixo custo para confirmar e monitorizar a mastite numa exploração e parece ser igualmente útil, para verificar a eficácia do tratamento das vacas no PS (Cook, *et al*, 2002).

Usando os dados do primeiro CL da lactação seguinte, é possível obter uma perceção da origem provável da IIM e da importância do PS na epidemiologia da mastite (Bradley *et al*, 2007). Desta forma, podem também ser calculados os seguintes índices, para o PS:

- a) **Vacas saudáveis:** este índice reflete a proporção de vacas que antes do PS não possuíam infeção e que no final do mesmo período, não adquiriram nova IIM. Ou seja, conseguiram manter sempre níveis abaixo das 200 000 céls/ml.

- **Vacas saudáveis (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} < \text{limiar no último CL antes do PS} + \text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} < \text{limiar no CL lact. seguinte}}{\text{N}^\circ \text{ total de vacas nos dois CL consecutivos}} \times 100$$

b) Vacas infetadas no PS e risco de novas infeções no PS:

o índice de NI no PS fornece a indicação da proporção de vacas que adquiriram infeção durante o PS (Bradley *et al*, 2007). As boas práticas de manejo durante o PS, influenciam a CCS do rebanho durante a lactação e só através da minimização dos fatores de risco, é possível prevenir a mastite e diminuir o risco de NI (Green *et al*, 2008).

- **Vacas infetadas no PS (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} < \text{limiar no último CL antes do PS} + \text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} > \text{limiar no CL lact. seguinte}}{\text{N}^\circ \text{ total de vacas nos dois CL consecutivos}} \times 100$$

- **Risco de NI no PS (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de NI no PS}}{\text{N}^\circ \text{ de NI no PS} + \text{N}^\circ \text{ vacas saudáveis no PS}} \times 100$$

c) Vacas com mastite crónica no PS: este índice indica a proporção de vacas que foram secas com infeção e que a mantiveram no PS.

- **Vacas com mastite crónica no PS (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} > \text{limiar no último CL antes do PS} + \text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} > \text{limiar no CL lact. seguinte}}{\text{N}^\circ \text{ total de vacas nos dois CL consecutivos}} \times 100$$

d) Vacas curadas no PS e taxa de cura: as vacas curadas são todas as vacas que foram curadas da infeção durante o PS (Bradley *et al*, 2007). Estas vacas não adquiriram nova IIM no PS. Segundo um estudo de Down *et al* (2016), a taxa de cura do PS é mais baixa em explorações persistentemente infetadas com agentes contagiosos.

- **Vacas curadas no PS (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} > \text{limiar no \u00faltimo CL antes do PS} + \text{N}^\circ \text{ de vacas com CCS} < \text{limiar no CL lact. seguinte}}{\text{N}^\circ \text{ total de vacas nos dois CL consecutivos}} \times 100$$

- **Taxa de cura (%):**

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas curadas no PS}}{\text{N}^\circ \text{ de vacas curadas no PS} + \text{N}^\circ \text{ vacas cr\u00f3nicas no PS}} \times 100$$

A avalia\u00e7\u00e3o da sa\u00fade do \u00fabere nas vacas do p\u00f3s-parto \u00e9 de import\u00e2ncia, uma vez que esta \u00e9 determinante para a produ\u00e7\u00e3o e qualidade do leite subsequentes. Logo, a sa\u00fade do \u00fabere das vacas no p\u00f3s-parto deve ser uma preocupa\u00e7\u00e3o nas explora\u00e7\u00f5es. A forma mais comum de avaliar as vacas rec\u00e9m-paridas \u00e9 a simples observa\u00e7\u00e3o dos sinais cl\u00ednicos de mastite. No entanto t\u00eam sido utilizados outros m\u00e9todos, como a CCS (Anderson *et al*, 2010).

Um n\u00famero limitado de estudos considera diferentes abordagens para monitorizar a sa\u00fade do \u00fabere das vacas, no p\u00f3s-parto. Contudo existem quest\u00f5es importantes a serem consideradas, nomeadamente quando monitorizar e o que monitorizar (Anderson *et al*, 2010).

Para colmatar estas lacunas, a an\u00e1lise do CL poder\u00e1 ser uma alternativa interessante, atrav\u00e9s dos dados individuais da CCS, num primeiro controlo no p\u00f3s-parto.

Em cada an\u00e1lise do CL, tomando como base o valor de CCS < 200 00 c\u00e9ls/ml, \u00e9 \u00fatil avaliar as vacas consoante o seu n\u00b0 de partos e n\u00b0 de lacta\u00e7\u00f5es. De acordo com Bradley e Green (2005), tal permite deduzir que:

- Se a CCS aumenta nas vacas mais jovens, sugere que as novas infe\u00e7\u00f5es ocorram em vacas mais novas;

- Uma elevada CCS, no primeiro m\u00eas p\u00f3s-parto, sugere que uma IIM tenha sido adquirida no PS;

- Uma elevada CCS, numa fase tardia da lacta\u00e7\u00e3o, sugere que uma nova infe\u00e7\u00e3o tenha sido adquirida durante a lacta\u00e7\u00e3o.

Capítulo II: Trabalho experimental

1. Introdução

Na região EDM, muitos são os agricultores que vivem da produção leiteira. De acordo com os últimos dados recolhidos pelo INE em 2015, relativos à produção de leite em Portugal, só a região Norte (bacia leiteira Entre Douro e Minho) produziu cerca de 740 mil toneladas de litros de leite, sendo a região dominante desta indústria no nosso país.

Grande parte dos produtores desta região estabelece contratos com empresas de recolha de leite, desde o fim das quotas leiteiras em março de 2015, em que a quantidade de leite que deve ser entregue anualmente é fixa. Maioritariamente essas empresas funcionam como compradoras de leite, em regime cooperativo. No contrato, devem constar dados obrigatórios como a identificação de ambas as partes, preço de leite por litro, quantidade de leite em litros que deve ser entregue no final de cada mês e posteriormente no final do ano, a modalidade de entrega ou recolha do leite e sua calendarização, prazos e condições de pagamento, duração do contrato e causas de cessação do mesmo e outras regras.

Durante todos os meses do ano, o produtor deve entregar a quantidade definida e no final do ano, a soma de litros de leite cedida mensalmente à empresa tem de ser exatamente a referida no contrato. Em 2016, caso o agricultor produzisse acima do contrato era penalizado em dois cêntimos em todo o leite produzido e em 15 cêntimos no leite produzido acima da margem tolerada. Com estas penalizações impostas pelas Cooperativas, muitos produtores adaptaram a sua produção de acordo com os limites do seu contrato, influenciado diretamente a gestão técnico-económica da exploração.

A mastite é uma doença endémica considerada a mais frequente e que causa maiores perdas económicas na produção leiteira (Bradley, 2002; Halasa *et al*, 2007; Akers e Nickerson 2011) As mastites subclínicas continuam a ser a causa de maior prejuízo económico nas explorações de gado bovino leiteiro, logo a sua prevenção deve constituir uma prioridade para produtores e médicos veterinários por razões económicas e de saúde pública (Bexiga *et al*, 2005).

O CL é usado mundialmente para avaliar o desempenho individual das vacas e consiste no registo regular, geralmente mensal, de dados de todas as vacas ordenhadas, de determinado rebanho (Madouasse, 2009). Este registo contém a CCS de cada vaca, o que permite ao produtor e restante equipa técnica da exploração, a verificação por rotina da mesma e a identificação de animais que estejam infetados (Madouasse, 2009).

Com este trabalho pretendeu-se realizar um estudo dos padrões epidemiológicos de mastites subclínicas numa amostra de explorações da região Entre Douro e Minho. Foi sistematizada a análise do contraste leiteiro através da utilização dum formato digital de índices epidemiológicos.

2. Materiais e métodos

2.1) Amostragem

A partir do total de explorações de bovinos leiteiros cuja assistência veterinária é efetuada pelo grupo de médicos veterinários dos SVA, foram selecionadas 20 explorações numa amostra de conveniência caracterizada na tabela 5. Em todas estas explorações foi realizado contraste leiteiro, sendo esta uma condição essencial para obter todos os dados necessários para o estudo. Todos os dados apresentados são referentes ao ano civil de 2016.

Tabela 5 - Caracterização da amostra com base em dados do ano 2016.

Variável	Descrição	Amostra
Exploração	Número total de explorações em estudo	20
Vacas em lactação ^a	Efetivo médio de vacas em lactação inseridas no estudo	75
Vacas secas ^a	Efetivo médio de vacas secas inseridas no estudo	30
Produção(kg/dia/vaca lactante) ^a	Produção média de leite por dia, por vaca lactante	33,5
CCS (x10 ³ céls/ml) ^a	Média de CCS	188
DEL ^a	Média de dias em lactação	171

^aDados recolhidos através da informação fornecida pelo contraste leiteiro

2.2) Recolha de dados

2.2.1) Recolha de dados do contraste leiteiro

Os dados essenciais para a realização deste estudo foram recolhidos através da base de dados nacional Bovinfor® que visa o armazenamento da informação produtiva, reprodutiva e genealógica dos bovinos leiteiros. Foram selecionadas informações do programa de base de dados relativas ao contraste leiteiro de cada exploração da opção “Relatórios”, onde é possível consultar os relatórios do contraste leiteiro. Relativamente a esta opção foram consultados os resumos mensais (“Relatório dos Resultados Mensais”), o “Relatório Mensal de Gestão de Células Somáticas”, a “Listagem das Vacas Secas” e por último o relatório do Contraste Leiteiro (“Contraste Excel”). Estas informações foram posteriormente armazenadas para serem introduzidas num modelo de análise de CCS.

2.2.2) Recolha dos dados através do histórico SVA

Foram ainda recolhidas informações referentes ao histórico de mastites nas explorações em estudo, com auxílio de dados dos SVA. Estas informações continham os antecedentes das ocorrências de mastite, especificando os agentes causadores da doença em cada exploração, por pesquisa em cultura bacteriológica realizada na clínica dos SVA. O objetivo da recolha destes dados foi a monitorização da saúde do úbere ao nível da população e distinguir se a maioria das mastites na região em estudo é provocada por agentes de foro contagioso ou por agentes ambientais.

De referir que das 20 explorações estudadas, três nunca fizeram esta pesquisa de agentes, logo os resultados apresentados serão apenas relativos a 17 explorações.

2.2.3) Recolha de dados através de inquéritos

Os 20 proprietários das explorações em estudo foram alvo de um inquérito, previamente elaborado (anexo II) com a finalidade de as caracterizar relativamente ao seu maneio de uma forma geral, focando especialmente as práticas da rotina de ordenha. Este inquérito teve também como objetivo, através das questões colocadas, identificar fatores de risco para a ocorrência de mastite, sobretudo na forma subclínica. Este foi composto por 47 questões divididas em nove grupos, na sua maioria de resposta fechada, de escolha múltipla.

No último grupo onde se realizou uma questão em relação à taxa de refugo (“Ao longo do ano de 2016, ocorreram alterações no que diz respeito à sua taxa de refugo anual?”) teve como principal intenção, perceber de que forma os contratos de produção impostos influenciaram o maneio dos animais e conseqüentemente a gestão técnico-económica da exploração.

2.3) Análise de dados

Foi utilizado um modelo de análise de CCS desenvolvido pelos SVA e aplicado pela autora para se proceder à análise de dados. Trata-se um programa Microsoft Excel® 2016 que contém diversos índices: relativos a indicadores da exploração, relativos ao CL e relativos a um controlo no período pós-parto. Alguns destes índices podem ser obtidos através da análise direta do CL, enquanto que outros são calculados automaticamente pelo programa, após a introdução dos dados. Para o preenchimento do modelo, foi utilizada toda a informação do CL referida no ponto anterior “Recolha de dados”.

O modelo possui um esquema de cores para cada índice consoante a relação com o objetivo definido. Este modelo foi aplicado a cada uma das explorações individualmente e os objetivos a alcançar, encontram-se denominados na tabela 6.

Tabela 6 – Índices analisados e objetivos propostos (n.a: não aplicável).

Índices	Objetivo
Indicadores da exploração	
Animais em ordenha^a	n.a
Primíparas (%)^a	n.a
Dias em lactação (DEL)^a	n.a
Produção (kg/dia/vaca lactante)^a	n.a
Perdas de produção (kg)	0 L
Perdas de produção (%)	0%
Contraste leiteiro	
CCS do contraste^a	<150 000 céls/ml
CCS (<i>linear score</i>)	<4
Vacas > 200 000 céls/ml (%)	<20%
Vacas saudáveis (%)	>75%
Novas infeções (%)	<8%
Vacas curadas (%)	<10%
Vacas com mastite crónica (%)	<10%
Risco de novas infeções (%)	<10%
Taxa de cura (%)	>50%
Vacas < 200 000 céls/ml (%)	>80%
1º controlo no pós-parto	
1º controlo de CCS > 200 000 céls/ml (%)	<15%
1º controlo de CCS > 200 000 céls/ml (uma lactação) (%)	<10%
1º controlo de CCS > 200 000 céls/ml (duas lactações) (%)	<10%
1º controlo de CCS > 200 000 céls/ml (três ou mais lactações) (%)	<10%

^aDados obtidos diretamente, pela informação do CL.

Considerou-se como limiar de CCS as 200 000 céls/ml, pois este valor é indicativo da inexistência de IIM (Fox, 2013). Acima deste valor sugere-se então a existência de MSC (Schukken *et al*, 2003).

O primeiro controlo no pós-parto foi realizado também através do programa de análise de CCS. Este consistiu na primeira análise mensal a seguir ao parto, em que ocorreu o contraste e as vacas tinham mais do que cinco DEL. Para este controlo, as vacas recém-paridas foram selecionadas em cada um dos meses, por um cálculo utilizando as datas de parto dos registos do “Contraste Excel”. Desses animais, foram identificados os que possuíram CCS acima do limiar e foram divididos por grupos, consoante as lactações (com uma, dois e três ou mais).

Para além do que já foi descrito, foi ainda realizada uma análise do período seco em cada uma das explorações (tabela 7). Esta análise foi possível através da utilização dos dados do CL relativos à “Listagem de vacas secas” e da sua consequente introdução no programa. Para análise do período seco, cada índice foi calculado individualmente por exploração e serão apresentadas e discutidas, as médias anuais dos mesmos.

Tabela 7 – Índices analisados no período seco e objetivos propostos.

Índices	Objetivo
Período seco	
Vacas saudáveis (%)	>90%
Vacas infetadas (%)	<10%
Vacas curadas (%)	>60%
Vacas com mastite crónica (%)	<20%
Risco de novas infeções (%)	<10%
Taxa de cura (%)	>60%

Os dados para análise foram compilados da seguinte forma:

Por mês: os índices obtidos em cada mês em cada uma das explorações, foram selecionados e agrupados para formar uma tabela com os 12 meses do ano (figura 5). Deste modo formou-se uma tabela para cada exploração. De seguida calculou-se a média, mínimo e máximo mensais para cada um dos índices e foram criados gráficos de linhas com esses mesmos parâmetros, para aferir a existência de variações sazonais em cada um dos índices ao longo do ano de 2016.

ÍNDICES	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Total	Objetivo
ANIMAIS EM ORDENHA	63	59	54	56	54	54	54	50	50	50	51	47	53,5	
PRIMÍPARAS	25	24	21	21	23	24	24	20	20	20	21	18	21,75	
% PRIMÍPARAS	40%	41%	39%	38%	43%	44%	44%	40%	40%	42%	39%	38%	41%	
DEL	170	147	155	156	173	189	189	189	189	164	163	169	171,083	
PRODUÇÃO(kg/vaca lactante)	36,5	36,3	38,6	38	39,3	36,5	36,5	33,3	33,3	32,5	34,6	35,6	35,9167	
% PERDAS DE PRODUÇÃO	0,0304	0,0208	0,0378	0,0112	0,0132	0,0096	0,0096	0,0172	0,0172	0,0004	0,01	0,042	0,01828	0%
L PERDAS DE PRODUÇÃO	69,9048	44,5474	78,7903	23,8336	28,013	18,9216	18,9216	28,638	28,638	0,85	17,646	70,2744	35,7316	
ANÁLISE CONTRASTE LEITEIRO														
CCS CONTRASTE	252	204	299	156	166	148	148	186	186	102	150	310	191,417	<150
L.S.	4,3	4,0	4,5	3,6	3,7	3,6	3,6	3,9	3,9	3,0	3,6	4,6	3,9	<4
% VACAS >200	31%	32%	26%	21%	27%	24%	24%	35%	35%	19%	20%	50%	0,3	<20%
% VACAS SAUDÁVEIS	54%	60%	60%	60%	55%	54%	54%	60%	60%	69%	77%	50%	0,59364	>75%
% NOVAS INFECÇÕES		12%	12%	17%	27%	22%	22%	18%	18%	8%	9%	32%	0,17909	<8%
% CURADAS		16%	14%	2%	18%	22%	22%	18%	18%	14%	2%	5%	0,15455	<10%
% CRÓNICAS		18%	14%	2%	0%	2%	2%	5%	5%	8%	10%	14%	0,07364	<10%
% RISCO NOVAS INFECÇÕES		15%	14%	20%	33%	28%	28%	19%	19%	8%	9%	41%	0,21273	<10%
% RISCO DE CURA		47%	50%	91%	100%	92%	92%	78%	78%	63%	17%	25%	0,66636	>50%
% ANIMAIS <200	69%	68%	74%	79%	73%	76%	76%	65%	65%	81%	80%	50%	0,71333	>80%
% ANIMAIS 201-400	13%	18%	16%	6%	14%	12%	12%	23%	23%	14%	14%	25%	0,15833	
% ANIMAIS 401-800	11%	8%	4%	13%	6%	10%	10%	5%	5%	6%	5%	20%	0,08583	
% ANIMAIS >800	6%	6%	6%	2%	6%	2%	2%	8%	8%	0%	2%	5%	0,04417	<5%
1º CONTROLO POS-PARTO														
% 1º CONTROLO >200	29%	22%	0%	13%	0%	25%	25%	43%	43%	0%	13%	43%	0,21333	
% 1º LACT >200	0%	50%		50%	0%	0%	0%	33%	33%	0%	0%		0,16667	<10%
NUM VACAS >200	2	2	0	2	2	1	1	3	3	6	1	0	1,91667	
% 2º LACT >200	33%	20%	0%	0%	0%	50%	50%			0%	33%	0%	0,18667	<10%
NUM VACAS >200	3	5	2	4	2	2	2	0	0	4	3	3	2,5	
% 3º LACT >200	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0,41667	
NUM VACAS >200	2	2	2	2	1	1	1	4	4	1	4	4	2,33333	
% 3º LACT >200	50%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	50%	50%	0%	0%	75%	0,1875	<10%

Figura 5 – Exemplo de compilação dos dados dos 12 meses, na exploração A.

Legenda (figura 5): parte do modelo de análise – a azul, os dados de preenchimento automático; a verde, os resultados que cumprem os objetivos; a vermelho, os resultados que não cumprem os valores ideais.

Por ano: foi feita uma tabela que continha todas as médias no final do ano, de cada exploração para todos os índices (figura 6). Com essa tabela foi permitido efetuar um balanço do ano de 2016 e proceder-se à elaboração de gráficos *box plots* a fim de avaliar a distribuição e dispersão dos dados e confirmar a presença de valores atípicos (*outliers*).

Exploração	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
ANIMAIS EM ORDENHA	53,5	34	66,917	56,417	42,083	63,867	38,317	51,563	65,167	58,333	58,833	147,617	65,417	32,083	74,333	117,08	93,333	100,25	73,833	71,417
% PRIMÍPARAS	41%	45%	42%	35%	44%	23%	47%	36%	28%	33%	46%	38%	46%	32%	41%	40%	34%	33%	40%	33%
DEL	171,08	180,25	163,17	187,08	155,83	170,42	170,42	198,75	174,5	186,58	183,17	167,58	153,08	193,58	170,32	182,42	182,67	178,58	73,833	177,17
PRODUÇÃO (kg/vaca lactante)	35,917	28,775	35,583	42,075	34,183	33,008	30,3	23,058	34,283	33,517	29,842	35,408	32,417	31,308	35,275	33,308	31,867	35,767	29,167	37,383
% PERDAS DE PRODUÇÃO	0,0183	0,0193	0,0068	0,021	0,0032	0,0168	0,0237	0,027	0,0035	0,0302	0,0354	0,0253	0,0216	0,0194	0,0004	0,0426	0,0083	0,0119	-0,004	0,0134
PERDAS DE PRODUÇÃO	35,732	18,75	14,916	50,341	14,12	46,613	23,108	40,818	8,0875	58,184	61,514	132,76	46,056	57,486	4,2541	256,05	24,165	41,804	-7,636	35,884
ÍNDICE CONTRASTE LEITEIRO																				
CCS CONTRASTE	191,42	196,5	133,32	205,17	145,92	183,83	216,42	235,17	117,67	251,08	277,17	226,42	207,75	197,17	102,08	319	141,58	159,42	79,667	166,83
LS	3,9	3,7	3,2	4,0	3,4	3,8	3,9	4,2	3,2	4,1	4,4	4,1	4,0	3,9	2,9	4,6	3,4	3,5	2,6	3,7
% VACAS >200	26,62%	14,58%	12,50%	16,33%	17,83%	21,08%	22,56%	29,92%	12,58%	18,17%	28,08%	21,17%	21,42%	23,32%	9,00%	30,63%	16,42%	17,33%	11,00%	10,00%
% VACAS SAUDÁVEIS	59,36%	61,45%	65,16%	79,00%	78,91%	72,18%	71,73%	63,55%	63,91%	78,64%	61,73%	71,50%	76,64%	69,36%	69,09%	63,36%	79,00%	77,18%	87,27%	84,36%
% NOVAS INFECÇÕES	17,31%	6,91%	5,00%	6,27%	5,55%	10,00%	9,64%	12,45%	6,18%	6,64%	14,16%	10,80%	7,91%	10,16%	4,27%	12,16%	7,55%	3,03%	2,73%	4,27%
% CURADAS	16,45%	6,73%	6,00%	6,27%	8,27%	9,18%	8,27%	8,82%	4,55%	4,55%	13,45%	8,70%	6,27%	9,45%	4,09%	8,00%	5,82%	6,36%	4,27%	3,91%
% CRÓNICAS	7,36%	4,55%	4,00%	8,73%	7,45%	8,64%	10,09%	15,16%	5,45%	10,00%	10,36%	8,90%	9,00%	11,38%	2,73%	16,55%	8,00%	7,27%	5,64%	7,55%
% RISCO NOVAS INFECÇÕES	21%	53%	5%	6%	5%	11%	8%	14%	6%	6%	17%	8%	12%	4%	17%	8%	10%	3%	4%	4%
% TAXA DE CURA	67%	85%	45%	43%	40%	50%	46%	35%	35%	32%	58%	49%	33%	44%	60%	32%	41%	41%	41%	33%
% ANIMAIS <200	71%	85%	88%	84%	82%	79%	77%	70%	87%	82%	72%	79%	79%	76%	91%	69%	82%	83%	89%	87%
ÍNDICE CONTROLO POS-PARTO																				
% ÍNDICE CONTROLO >200	21,33%	14,83%	16%	13,58%	15,00%	22,75%	15,00%	14,42%	4,42%	15,00%	31,58%	16,25%	25,50%	15,75%	10,25%	21,17%	19,58%	8,67%	5,92%	13,67%
% ÍNDICE LACT >200	17%	14%	15%	3%	22%	28%	7%	3%	5%	23%	26%	23%	38%	12%	12%	25%	7%	8%	14%	14%
NUM VACAS >200	1,32	2,25	4,17	2,67	2,32	3,83	2,33	2,08	1,67	2,83	3,00	6,58	3,32	2,83	4,58	8,42	3,25	4,58	3,33	2,67
>200	0,33	0,33	0,33	0,17	0,83	0,45	0,25	0,17	0,08	0,75	1,00	1,67	1,58	0,42	0,50	0,75	0,75	0,50	0,33	0,25
% ÍNDICE LACT >200	18%	0%	20%	7%	3%	12%	16%	3%	3%	11%	44%	5%	7%	18%	1%	16%	2%	6%	4%	9%
NUM VACAS >200	2,50	0,83	2,67	1,75	1,33	3,00	1,25	1,58	2,67	2,00	2,25	6,33	2,42	2,92	2,75	6,42	2,67	1,25	3,33	2,50
>200	0,42	0,00	0,42	0,08	0,08	0,36	0,17	0,08	0,08	0,08	1,00	0,33	0,25	0,50	0,08	1,08	0,17	0,08	0,17	0,25
% ÍNDICE LACT >200	18%	22%	20%	34%	13%	25%	25%	23%	4%	11%	32%	11%	15%	17%	15%	36%	23%	9%	7%	23%
NUM VACAS >200	2,33	2,25	3,33	3,17	1,92	4,50	2,25	2,58	4,17	2,32	1,50	6,17	3,50	5,58	2,58	8,08	5,83	6,08	2,58	3,32
>200	0,67	0,42	0,67	0,83	0,25	1,17	0,50	0,67	0,17	0,33	0,75	0,83	0,58	1,08	0,42	3,08	1,33	0,58	0,17	0,67

Figura 6 – Compilação das médias anuais de todos os índices das 20 explorações.

Legenda (figura 6): parte do modelo de análise – a azul, os dados de preenchimento automático; a verde, os resultados que cumprem os objetivos; a vermelho, os resultados que não cumprem os valores ideais; a laranja, os valores de CCS aceitáveis (entre 150 000 cél/ml e 200 000 cél/ml).

Por fim, as variáveis obtidas pelos inquéritos realizados aos produtores e seus resultados para caracterizar as suas explorações e identificar fatores de risco para a ocorrência de mastites, foram armazenados numa base de dados em Microsoft Excel® 2016 para posterior análise. Procedeu-se à elaboração de tabelas de frequência e de tabelas de contingência.

As explorações da amostra foram classificadas mediante duas categorias: tamanho do efetivo e caracterização da ordenha. De seguida, pelas médias anuais que se obtiveram e tendo em conta os objetivos propostos para os índices epidemiológicos, elaboraram-se tabelas de contingência 2x2. Para a verificação de diferenças consideradas significativas tomou-se que $p < 0,05$, pelo teste estatístico Qui-Quadrado.

Será também incluída a análise do histórico de agentes causadores de mastites de cada uma das explorações, juntamente com a análise epidemiológica.

3. Resultados

3.1) Indicadores da exploração

Na tabela 8, estão representados os resultados dos indicadores da exploração, neste caso as médias anuais de cada um deles especificamente. Apenas as perdas de produção (tanto em litros como em percentagem) tinham um objetivo definido, sendo os restantes parâmetros indicativos. Verificou-se que a perda de leite na produção foi de 1,8 %, traduzindo-se em 50 kg de leite perdidos por vaca, nas explorações de EDM. Só serão apresentados os resultados, em termos gráficos, referentes aos animais em ordenha e à produção de leite, uma vez que estes foram os mais significativos.

Tabela 8 – Indicadores da exploração analisados e respetivas médias do ano de 2016.

Índices	Média anual
Indicadores da exploração	
Animais em ordenha	75
Primíparas (%)	38%
Dias em lactação (DEL)	171
Produção (kg/dia/vaca lactante)	33,5 kg/dia/vaca lactante
Perdas de produção (kg)	50 kg por vaca
Perdas de produção (%)	1,8 %

3.1.1) Animais em ordenha

Ao longo do ano de 2016, constatou-se que a média de animais em ordenha não sofreu alterações significativas, mantendo-se em valores constantes, nunca ultrapassando as 80 vacas.

No mês de maio, foi quando o máximo de animais em ordenha foi atingido: 187 vacas. De um ponto de vista geral, existiu ao longo do início e meados de 2016 um decréscimo dos animais em ordenha, que acaba por ser contrariado no último trimestre do ano, quando o número de vacas em ordenha aumenta substancialmente.

Os valores mínimos são relativamente regulares, tendo de fevereiro a maio nunca excedido as 30 vacas à ordenha.

Pelo gráfico 2, verificou-se que a distribuição dos animais em ordenha foi assimétrica ao longo do ano. A maioria das explorações teve sensivelmente entre 55 a 90 vacas à ordenha durante o ano de 2016. No entanto, existiram dois valores discrepantes, que foram representativos de duas explorações com efetivos maiores, com 148 e 177 vacas à ordenha respetivamente. A média de animais em ordenha na região foi de 75 vacas.

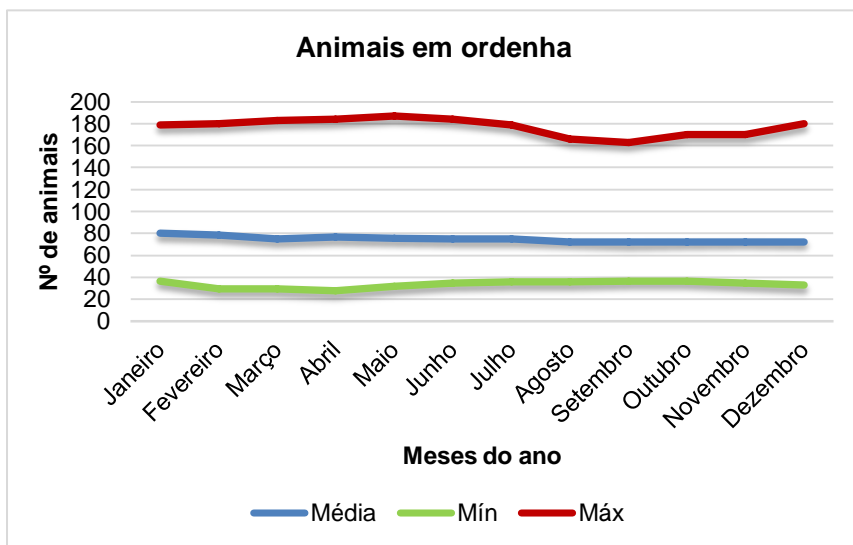


Gráfico 1 – Animais em ordenha ao longo do ano de 2016, na amostra de explorações em estudo.

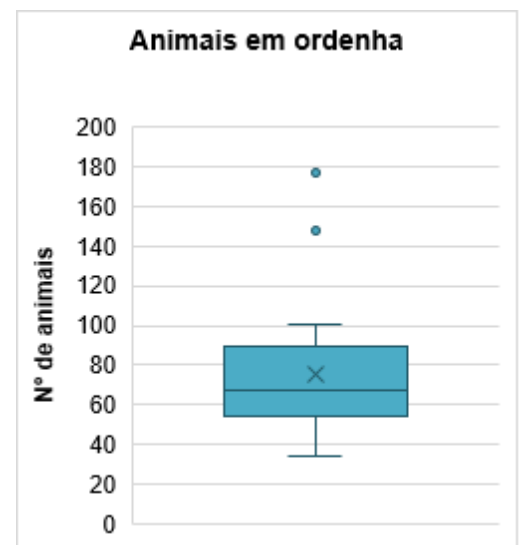


Gráfico 2 – Box plot de animais em ordenha em 2016.

3.1.2) Produção de leite

Analisando o gráfico 3 relativo à produção de leite, nas 20 explorações verificou-se que a média é superior na primeira metade do ano e mais baixa na segunda metade de 2016, embora nos últimos meses do ano, tenha ocorrido um aumento na produção. Em termos gerais a média manteve-se sempre entre os 30 kg/dia/vaca lactante e os 35 kg/dia/vaca lactante.

Nos máximos de produção de leite ocorreram várias oscilações ao longo do ano, sendo que se destacou uma subida até abril, seguida de descida que se tornou mais evidente até novembro (embora com uma pequena subida em junho). O valor máximo ocorreu no mês de março, com 45,7 kg/dia/vaca lactante.

Os valores mínimos modificaram-se ao longo do ano. No início do ano ocorreu uma descida, seguida de uma manutenção relativamente constante até uma nova subida em maio. Posteriormente o comportamento dos valores é semelhante ao dos máximos.

Na distribuição dos dados, foi perceptível alguma assimetria positiva dos mesmos. Mais de 75% das explorações produziu acima dos 30 kg/dia/vaca lactante. A exploração com a produção de leite mais baixa obteve uma média de cerca de 29 kg/dia/vaca lactante, enquanto que a exploração com a maior produção atingiu uma média substancial de 42 kg/dia/vaca lactante. A média das 20 explorações em estudo, em termos de leite produzido, foi de 33,5 kg/dia/vaca lactante (muito próxima da mediana que foi de 33,7 kg/dia/vaca lactante).

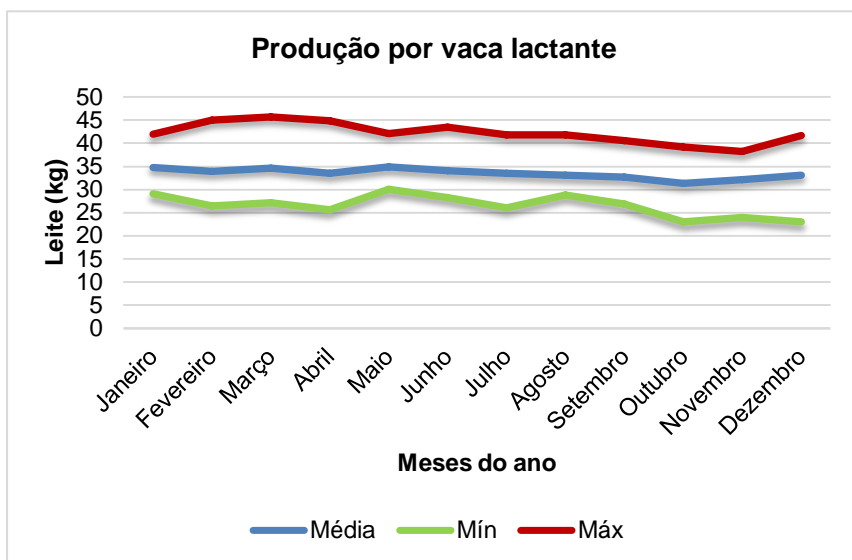


Gráfico 3 – Produção de leite no ano de 2016, na amostra de explorações em estudo.

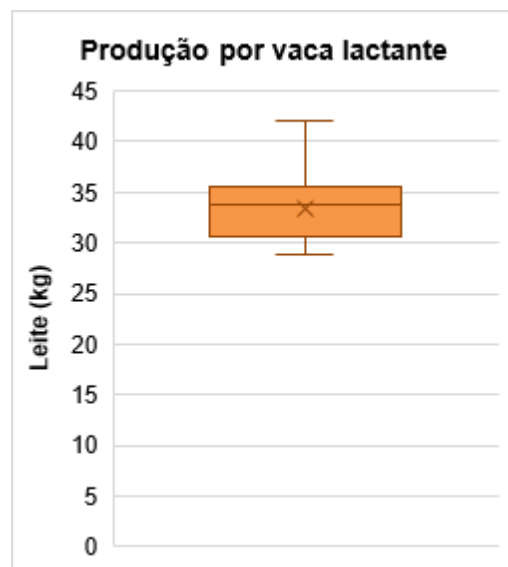


Gráfico 4 – Box plot de produção e leite em 2016.

3.2) Análise do contraste leiteiro

Na tabela 9, são apresentadas as médias anuais resultantes da análise do CL. Comparativamente aos objetivos definidos pelo modelo de análise pôde-se constatar que alguns valores cumprem o que foi desejado, contrariamente a outros, embora se encontrem próximos dos valores ambicionados. O valor de CCS não atingiu o objetivo proposto (<150 000 céls/ml) com 187 500 céls/ml, bem como o risco de novas infeções (<10%) que foi de 12% e a taxa de cura que foi de 46% (não atingindo os 50%).

Tabela 9 – Médias do ano de 2016, de acordo com a análise do CL.

Índices	Média anual
Contraste Leiteiro	
CCS do contraste	187 500 céls/ml
CCS (<i>linear score</i>)	3,7
Vacas > 200 000 céls/ml (%)	19%
Vacas saudáveis (%)	76%
Novas infeções (%)	8,5%
Vacas curadas (%)	7,4%
Vacas com mastite crónica (%)	8,4%
Risco de novas infeções (%)	12%
Taxa de cura (%)	46%
Vacas < 200 000 céls/ml (%)	81%

3.2.1) CCS do contraste

Através do gráfico 5, pôde-se constatar que os valores mais elevados de CCS foram entre os meses de abril e julho, voltando a subir no final do ano, tendo o nível máximo em dezembro (746 000 céls/ml). A média ao longo do ano foi relativamente constante, mantendo os seus níveis entre os 160 000 céls/ml e os 210 000 céls/ml.

Pelo gráfico 6 foi possível afirmar que a média total do ano na região foi de 187 500 céls/ml e 50% das explorações apresentou valores de CCS entre as 143 000 céls/ml e as 224 000 céls/ml. A distribuição dos dados foi relativamente uniforme, embora tenha apresentado alguma assimetria positiva.

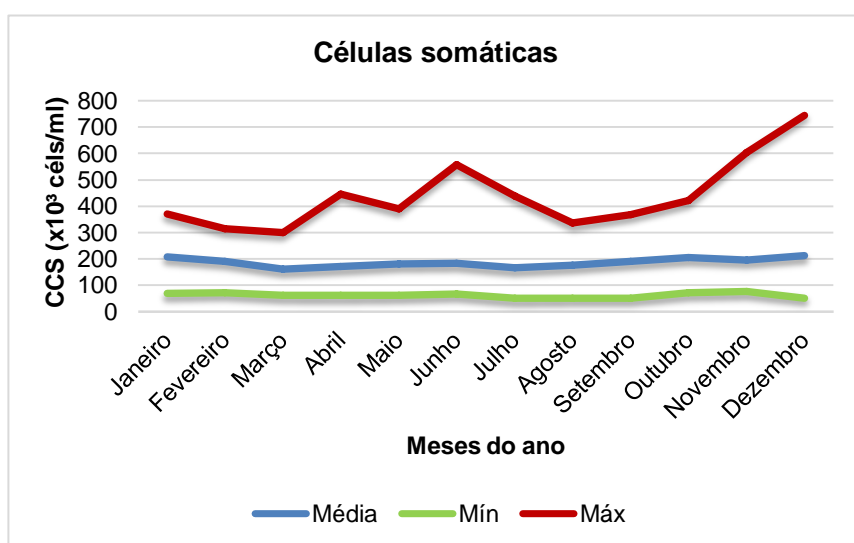


Gráfico 5 – Contagem de células somáticas ao longo do ano de 2016, na amostra de explorações em estudo.

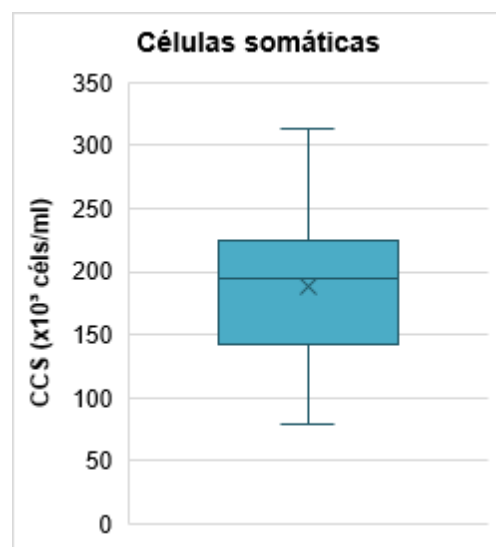


Gráfico 6 – Box plot da CCS em 2016.

3.2.2) Vacas saudáveis

No que diz respeito à proporção de vacas saudáveis ao longo do ano, pela análise do gráfico 7, esta não demonstrou grandes oscilações. O valor máximo foi de 95% de vacas saudáveis no mês de agosto e o valor mínimo no mês de dezembro, 48% de vacas saudáveis. A média de vacas saudáveis não ultrapassou os 80%. Os valores mais altos correspondentes a este índice foram observados em fevereiro e março e de agosto a outubro. Contudo, foi possível observar no último trimestre de 2016, uma pequena descida neste índice, mais evidente nos valores mínimos.

Relativamente ao gráfico 8, apurou-se que em 2016 a média de vacas alegadamente sem IIM nas 20 explorações foi de 76%. O valor máximo aproximou-se dos 90% e o valor mínimo foi de 60%. Neste caso pôde-se considerar que a distribuição dos dados não sofreu grandes variações.

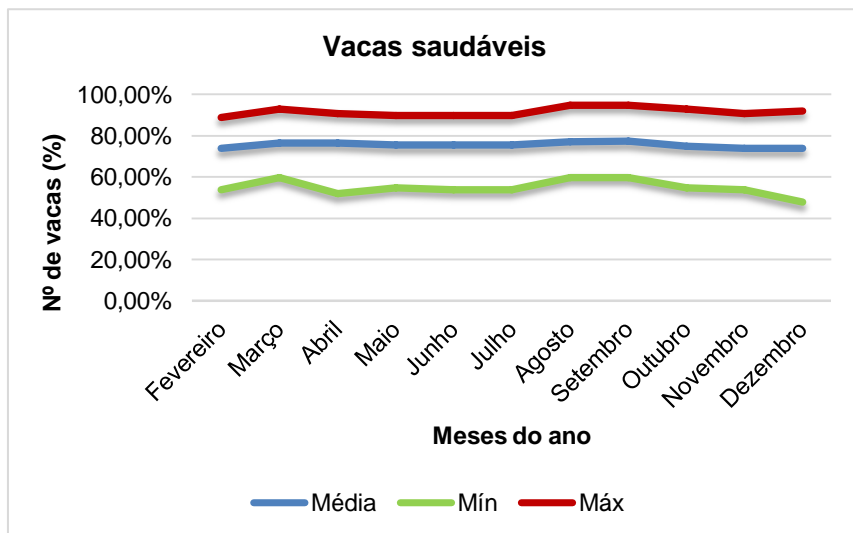


Gráfico 7 – Vacas saudáveis ao longo de 2016, na amostra de explorações em estudo.

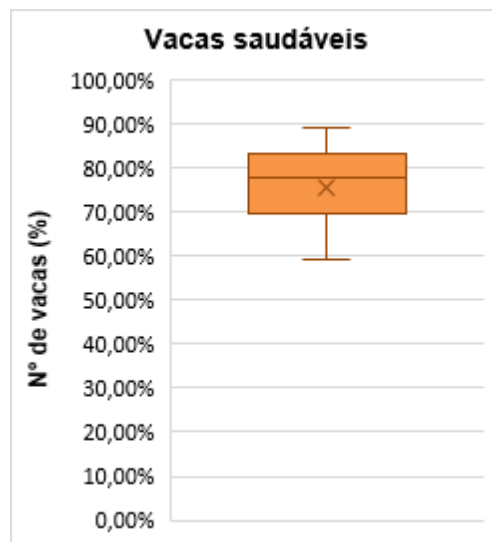


Gráfico 8 – Box plot correspondente às vacas saudáveis em 2016.

3.2.3) Novas infeções

Em relação às novas infeções, portanto à incidência de IIM, verificaram-se algumas oscilações importantes ao longo do ano. A média anual manteve-se entre os 7% e os 10% e os níveis mínimos situaram-se entre os 0% e os 2% (em março, abril, agosto, setembro e outubro). Quanto ao máximo, observou-se que a percentagem de vacas com novas infeções subiu substancialmente no final do ano e atingiu os 32% em dezembro. Este índice não se manteve constante ao longo do ano, com várias oscilações e dois picos principais de novas infeções, maio e dezembro respetivamente.

Pela análise do gráfico 10, verificou-se que a média de novas infeções nas explorações foi de 8,5%. Foi notória uma assimetria positiva, com metade das explorações com uma incidência acima dos 7%.

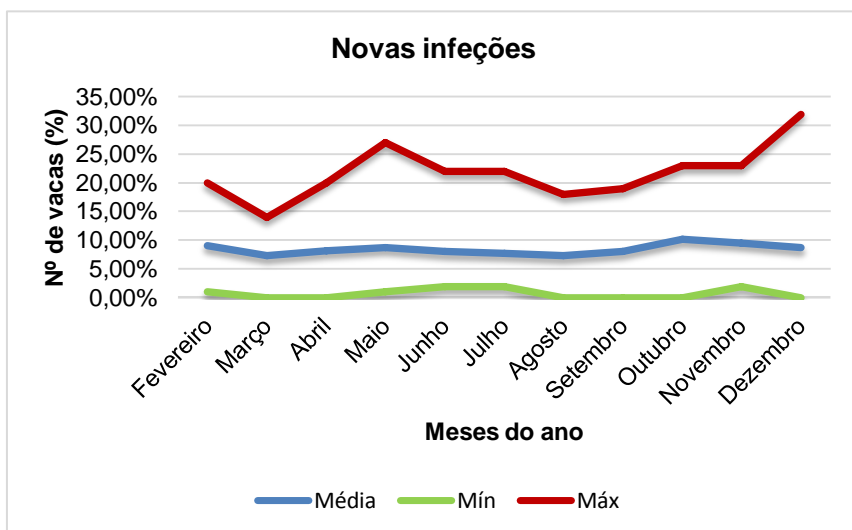


Gráfico 9 – Novas infecções ao longo de 2016, na amostra de explorações em estudo.

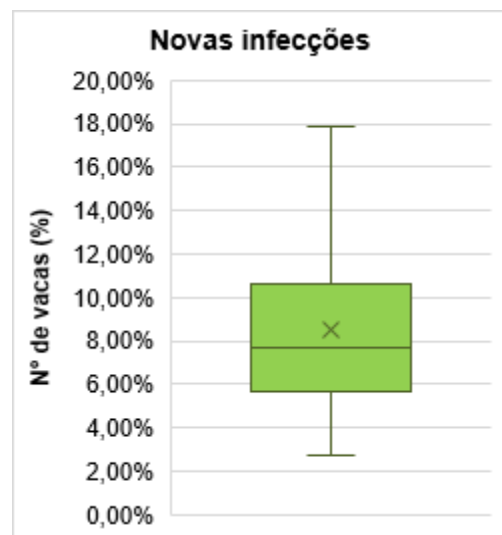


Gráfico 10 – Box plot correspondente às novas infecções em 2016.

3.2.4) Vacas curadas

Através da análise do gráfico 11, verificou-se que a proporção de vacas curadas não foi regular em 2016. A média oscilou entre os 6% e os 8,5%. Os valores mínimos não ultrapassaram os 2% e em determinados meses (março, junho, julho, outubro e novembro) foram nulos. Em termos de valores máximos, verificou-se que no princípio do ano ocorreu uma descida de fevereiro para março sendo que no mês seguinte, ocorreu uma subida com este índice a atingir valores sempre acima dos 20% até agosto. A partir daí, houve uma nova descida até outubro e nos últimos dois meses do ano, a percentagem manteve-se nos 19%.

No que diz respeito à distribuição de dados, a média de vacas curadas em 2016 situou-se nos 7,4% e constatou-se também pelo gráfico 12, que existe assimetria positiva, logo uma distribuição de dados sem uniformidade. Adicionalmente numa das explorações, a percentagem de vacas curadas atingiu os 15,5% e este valor traduziu-se num *outlier*.

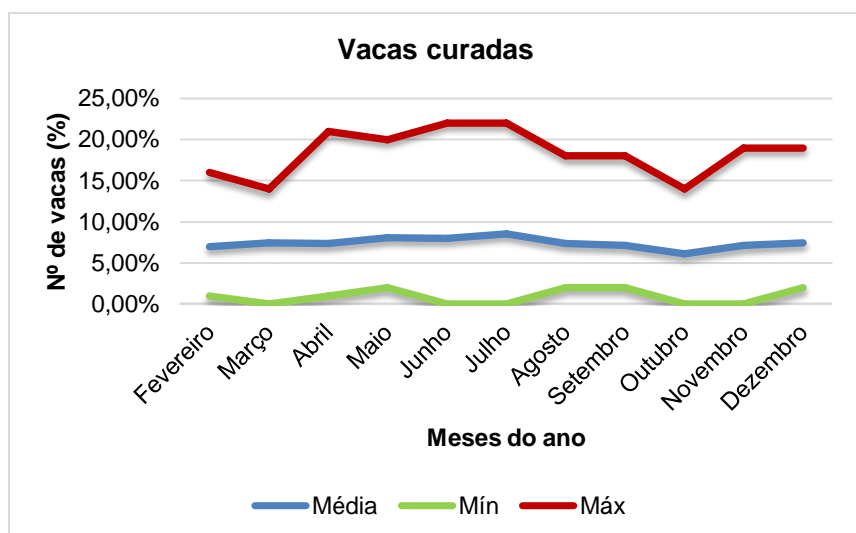


Gráfico 11 – Vacas curadas ao longo de 2016, na amostra de explorações em estudo.

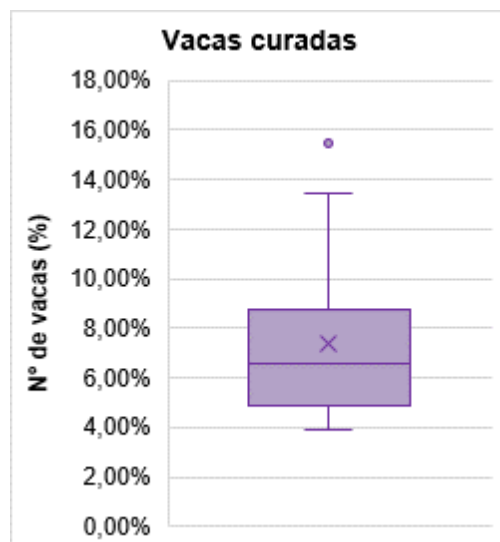


Gráfico 12 – *Box plot* correspondente às vacas curadas em 2016.

3.2.5) Vacas com mastite crónica

Relativamente à média de vacas com mastite crónica em 2016, esta tanto no início como no final do ano atingiu os seus valores mais elevados, aproximando-se dos 10%. Durante o resto do ano, manteve-se em valores mais ou menos constantes. Quanto aos mínimos, oscilaram entre 0% (fevereiro, maio, agosto e setembro) e os 2%. No que concerne aos máximos, estes nunca estiveram abaixo dos 15% e em março, julho e novembro obtiveram-se os valores mais elevados do ano, 22%. De realçar, como tem vindo a ser constatado na análise dos resultados de todos os índices, os valores mais elevados verificaram-se no final do ano.

Pela análise do gráfico 14, observou-se que a média de vacas com mastite crónica (8,4%) aproximou-se muito da mediana (8,3%). Embora o 3º quartil seja ligeiramente maior que o 1º quartil, a distribuição dos dados não apresentou grande discrepância. Numa das 20 explorações, a cronicidade da doença foi de 16,5% distanciando-se das outras explorações da região.

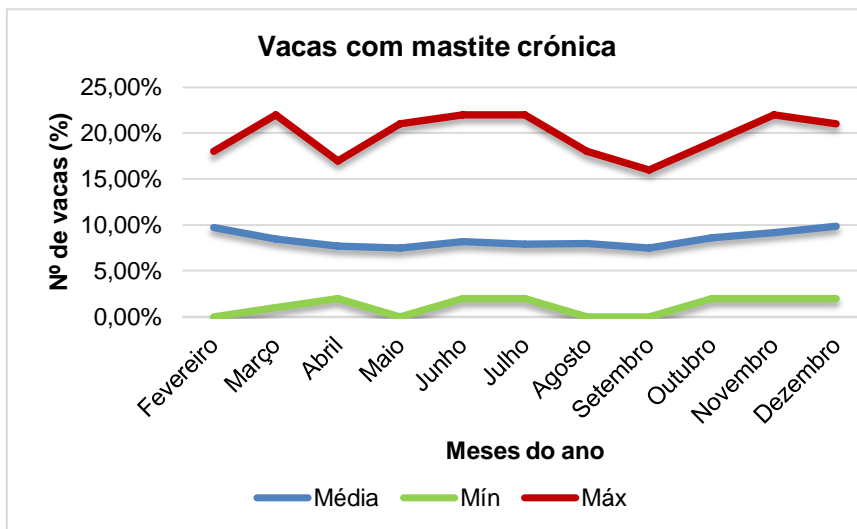


Gráfico 13 – Percentagem de vacas com mastite crônica em 2016, na amostra de explorações em estudo.

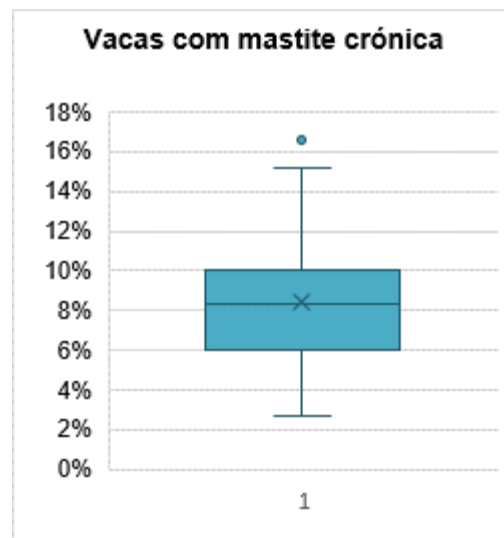


Gráfico 14 – Box plot correspondente às vacas com mastite crônica em 2016.

3.2.6) Risco de novas infeções

Pela análise do gráfico 15, observou-se que os valores mínimos estiveram sempre próximos de zero, num intervalo de 0% a 2%. Quanto à média no ano de 2016, os seus valores mais elevados foram em fevereiro e depois a partir de setembro, mês em que ocorreu uma pequena subida para um nível constante até ao fim do ano. Tanto em termos de média, como de máximo foi evidente uma descida no mês de fevereiro para o mês de março. Entre março e julho, o risco de novas infeções atingiu os níveis máximos mais elevados e novamente em novembro e dezembro (máximo do ano de 41%).

Em 2016, o risco de novas infeções em média foi de 12%. A distribuição de dados teve uma assimetria positiva e numa das explorações da região o risco de nova infeção foi de 53%, como se pode constatar no gráfico 16.

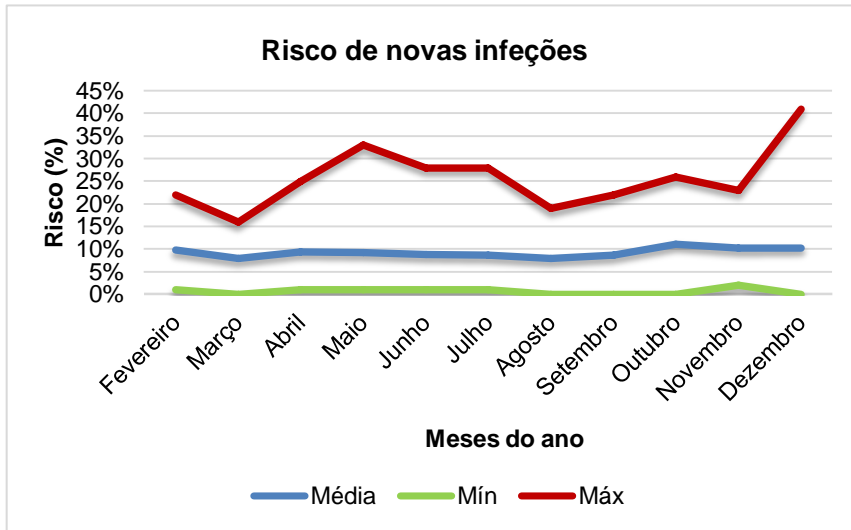


Gráfico 15 – Risco de novas infecções em 2016, na amostra de explorações em estudo.

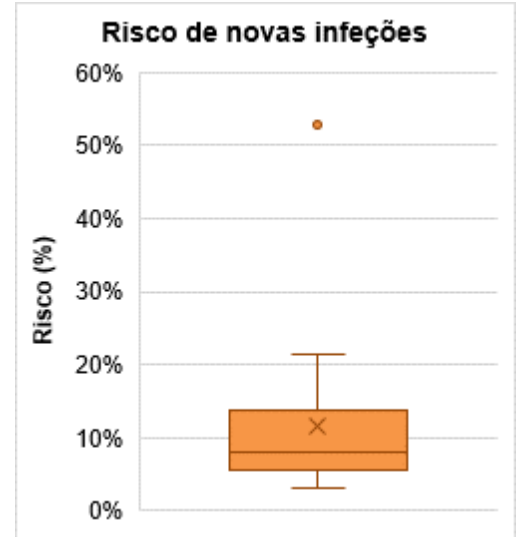


Gráfico 16 – Box plot correspondente ao risco de novas infecções em 2016.

3.2.7) Taxa de cura

Os valores médios de taxa de cura em 2016, nunca ultrapassaram os 50%. O valor mais alto deste parâmetro foi em agosto, atingindo a média de 49% e o valor mais baixo foi o do mês de abril, com 39%. O final do ano caracterizou-se por uma média constante, entre os 40% e os 41%. Quanto aos mínimos, em determinados meses do ano, a taxa de cura foi nula (março, abril, junho, julho, outubro e novembro) e nos restantes estiveram sempre acima dos 10%, sendo que em agosto o valor mínimo de taxa de cura foi de 20%. No que diz respeito aos valores máximos, ao longo do ano de 2016 foi conseguida uma taxa de cura de 100% (em fevereiro, maio, agosto, setembro e outubro). Em outubro ocorreu uma descida substancial, com a taxa de cura máxima a atingir os 67% em novembro e os 75% em dezembro. Nos três parâmetros no início do ano, foi evidente uma descida na taxa de cura.

Pela análise do gráfico 18, observou-se que a média de taxa de cura nas 20 explorações foi de 46%. Mais de 75% das explorações obtiveram uma taxa de cura inferior a 50% e numa das 20 explorações em estudo, a taxa de cura em 2016 foi de 85% (valor atípico).

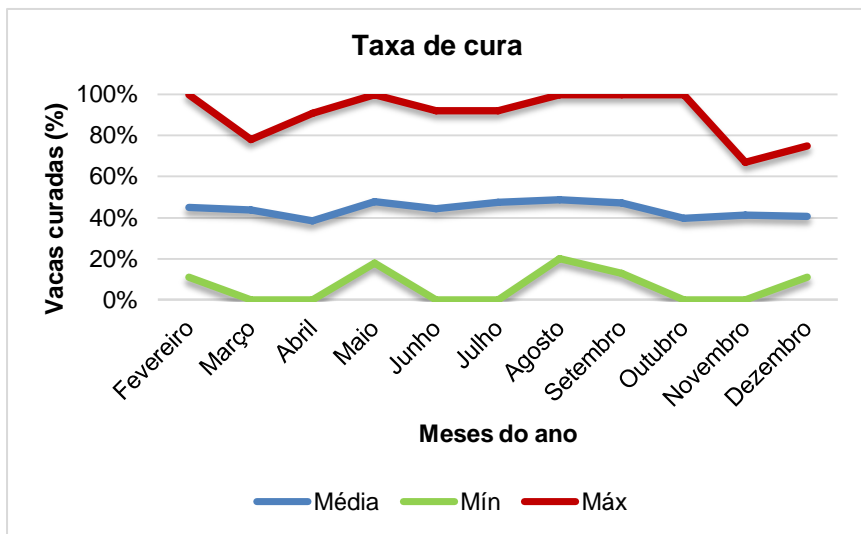


Gráfico 17 – Taxa de cura de mastites ao longo de 2016, na amostra de explorações em estudo.

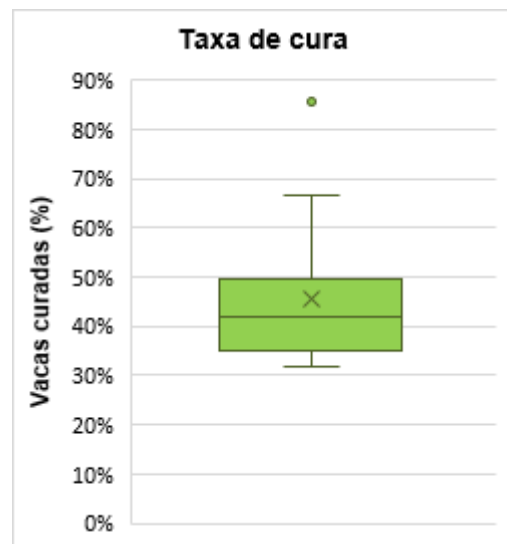


Gráfico 18 – Box plot correspondente à taxa de cura em 2016.

3.3) CCS no primeiro controlo no pós-parto

Observando os conteúdos da tabela 10, onde estão as médias do ano de 2016 respeitantes ao controlo de mastites no pós-parto, pôde-se constatar que no 1º controlo de CCS nas vacas recém-paridas, 16% da totalidade dos animais obteve uma CCS acima das 200 000 céls/ml, ligeiramente acima do que seria o ideal.

No gráfico 19, estão representados os resultados dos três grupos de vacas consoante o seu número de lactações sob a forma de *box plot*, com o intuito de comparar as distribuições de dados anuais dos mesmos e uma suposta relação entre eles.

Tabela 10 – Médias do ano de 2016, relativas ao primeiro controlo no período pós-parto.

Índices	Média anual
1º controlo no pós-parto	
1º controlo de CCS > 200 000 céls/ml	16%
1º controlo de CCS > 200 000 céls/ml (uma lactação)	16%
1º controlo de CCS > 200 000 céls/ml (duas lactações)	11%
1º controlo de CCS > 200 000 céls/ml (três ou mais lactações)	19%

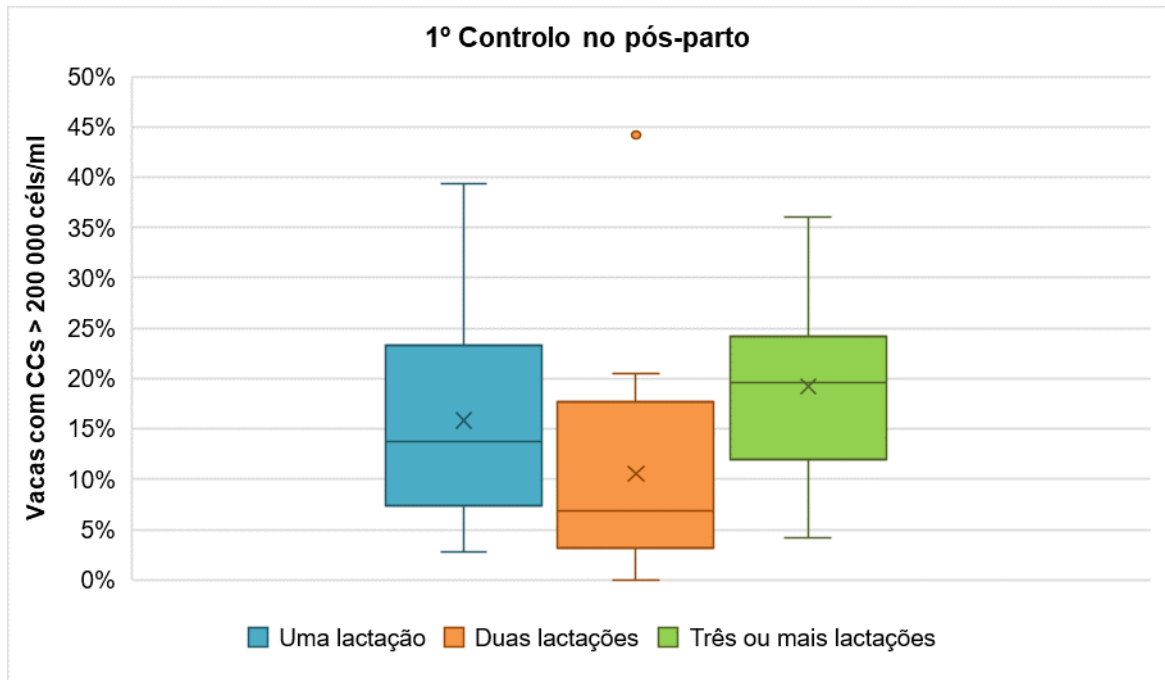


Gráfico 19 – *Box plots* correspondentes ao 1º controlo no pós-parto nos grupos de vacas consoante o número de lactações.

A observação do gráfico 19 permite afirmar que no grupo de vacas com duas lactações, a proporção de animais com IIM é a menor dos três, em termos médios (11%). Foi também neste grupo que se verificou uma menor variabilidade, apesar de existir um valor discrepante (44%) de vacas com CCS acima das 200 000 céls/ml. No grupo de vacas de primeira lactação observou-se uma maior variabilidade comparativamente com os restantes dois grupos e foi no grupo de vacas com três ou mais lactações, que se destacou uma média de vacas com IIM mais elevada, nomeadamente de 19%.

3.4) Período seco

Os resultados da análise do PS, demonstraram claramente que a proporção de vacas saudáveis e de vacas curadas se afastaram do pretendido (objetivo de >90% e >60%, respetivamente). O risco de NI também superou o objetivo delineado, com o valor de 15%. A percentagem de vacas infetadas ultrapassa apenas em 1% o valor ideal. Estes parâmetros e respetivos resultados estão representados na tabela 11.

Tabela 11 – Médias dos diferentes índices do ano de 2016, no período seco.

Índices	Média anual
Período seco	
Vacas saudáveis (%)	65%
Vacas infetadas (%)	11%
Vacas curadas (%)	17%
Vacas com mastite crónica (%)	7%
Risco de NI (%)	15%
Taxa de cura (%)	76%

A distribuição dos dados no PS, encontra-se representada pelos gráficos seguintes:

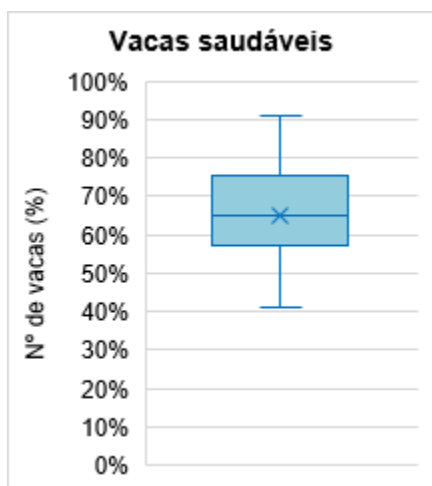


Gráfico 20 – Box plot das vacas saudáveis no PS.

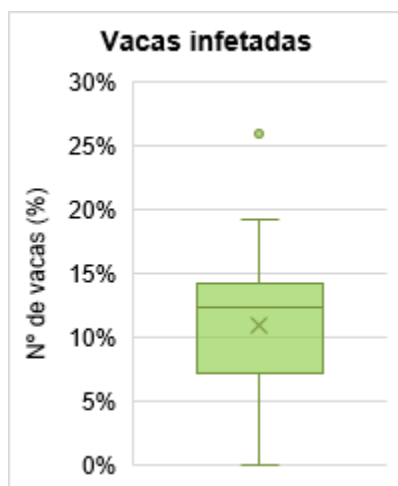


Gráfico 21 – Box plot das vacas infetadas no PS.

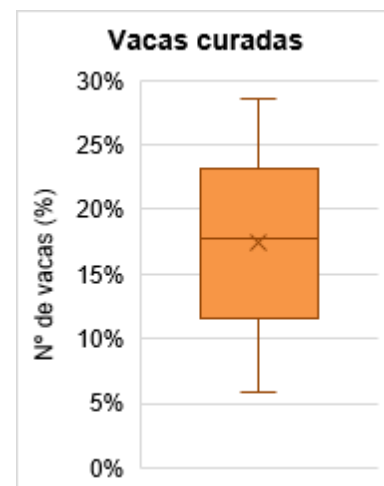


Gráfico 22 – Box plot das vacas curadas no PS.

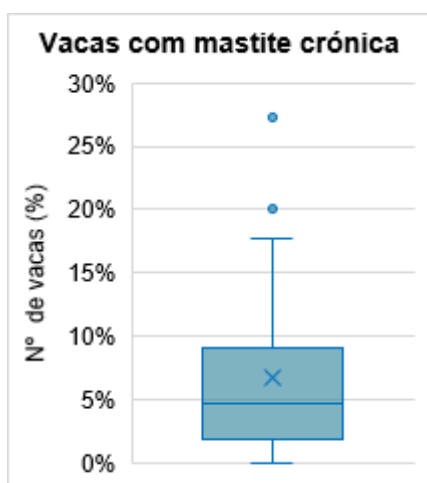


Gráfico 23 – Box plot das vacas com mastite crónica no PS.

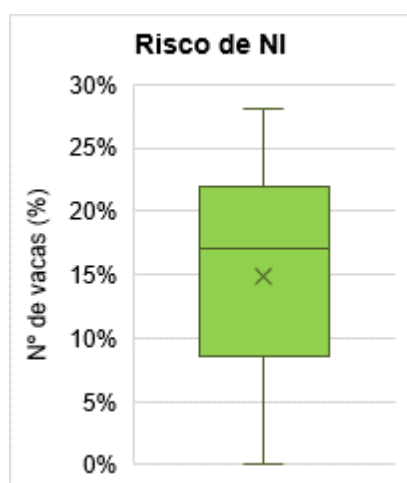


Gráfico 24 – Box plot do risco de NI no PS.

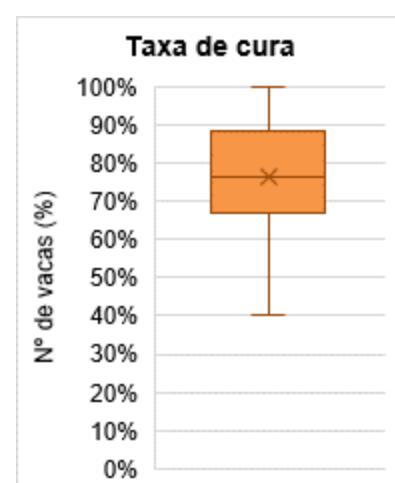


Gráfico 25 – Box plot da taxa de cura no PS.

Pela análise dos gráficos 20 e 22, relativos à percentagem de vacas saudáveis no PS e à percentagem de vacas curadas no PS respetivamente, verificou-se que a distribuição de dados em ambos, foi simétrica.

Relativamente às vacas infetadas no PS, pela análise do gráfico 21 constatou-se uma assimetria positiva dos dados e a existência de valor atípico numa das explorações (26%).

Quanto à proporção de vacas com mastite crónica no PS, observaram-se dois *outliers*, 20% e 27%. Pela análise do gráfico 23, este apresenta um valor mínimo de 0% e foi evidente uma assimetria na distribuição dos dados.

O risco de NI no PS apresentou como valor mínimo 0%. Foi ainda possível constatar que mais de 50% das explorações da amostra, possuíram um risco de NI no PS superior a 17% (gráfico 24).

Finalmente no que diz respeito à taxa de cura do PS, esta atingiu o valor máximo de 100% e tanto a média como a mediana obtiveram o mesmo valor, 76% (gráfico 25).

3.5) Histórico de agentes causadores de mastite

Os gráficos apresentados abaixo retratam a evolução nas prevalências dos agentes de mastite, na amostra de explorações de EDM. Os registos mais antigos no histórico dos SVA datam de 2009 e os registos mais recentes incluem os do presente ano civil, 2017 (até ao mês de agosto).

No gráfico 26, que caracteriza o tipo de mastite e é relativo às prevalências anuais dos dois principais grupos de agentes de mastite (ambientais e contagiosos), observou-se que apesar das oscilações, tanto as mastites contagiosas como as ambientais têm vindo a diminuir nas explorações.

Quanto às mastites contagiosas, no 1º ano de registo, a prevalência foi de 56% e no corrente ano esta é de 23%. De 2009 a 2012 as mastites contagiosas diminuíram nas explorações da região até 2013, quando voltam a assumir uma prevalência acima dos 40%, mas decaindo sucessivamente até 2017 (23%). A prevalência de mastites ambientais nunca superou a prevalência das mastites contagiosas, mas o seu comportamento ao longo dos anos foi mais irregular, com os seus valores mais altos em 2010 (30%) e em 2012 (23%). A partir desse ano, a prevalência desceu gradualmente até aos 11% em 2017.

No gráfico 27, encontram-se os resultados das prevalências obtidas de 2009 a 2017, dos agentes mais frequentes dos dois tipos da doença: *E. coli* e *Strep. uberis* (ambientais) e *Staph. aureus* (contagioso). A tendência, à exceção do ano de 2016, foi de que a prevalência de *Strep. uberis* se manteve mais elevada face às dos outros agentes em causa. Até 2013 a prevalência de *E. coli* foi sempre superior à de *Staph. aureus*. Posteriormente até 2016, sucedeu o contrário, com o agente contagioso a assumir uma maior prevalência. No presente ano e apenas com dados de sete meses, *Staph. aureus* possui a prevalência mais baixa das

três bactérias. De uma forma geral, as prevalências dos três agentes de mastites têm vindo a diminuir e atualmente todas possuem valores abaixo dos 10%. De destacar que as prevalências dos agentes ambientais enunciados, em nove anos, desceram para mais de metade do seu valor inicial.

Ao todo foram identificados 22 agentes de mastite, sendo quatro contagiosos e os restantes ambientais.

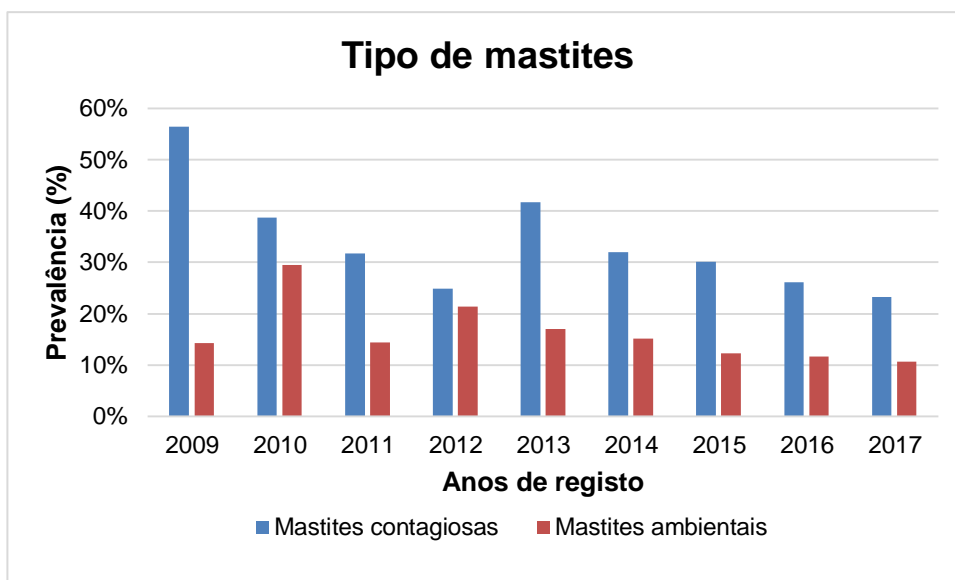


Gráfico 26 – Prevalências de 2009 a 2017, de mastites ambientais e mastites contagiosas na amostra de explorações em estudo.

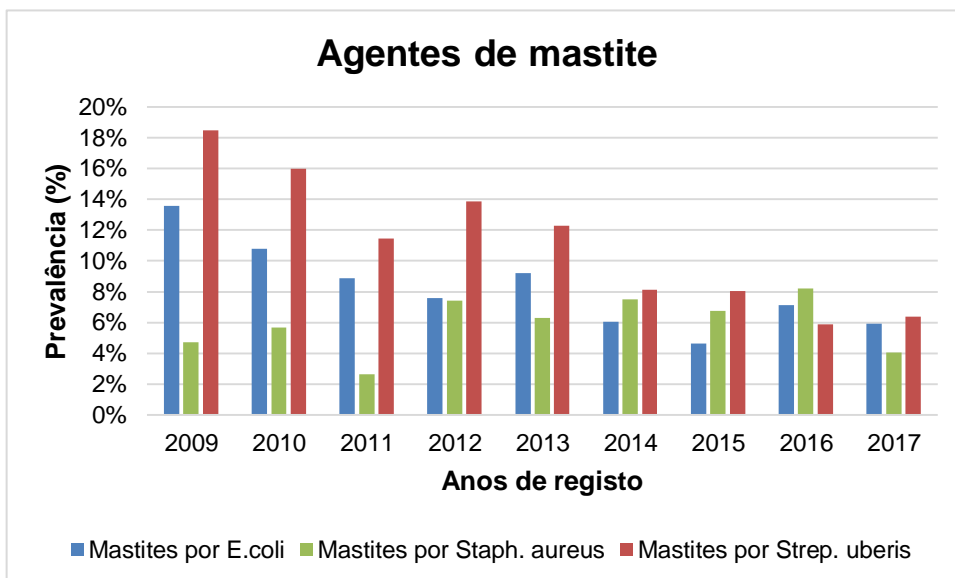


Gráfico 27 – Prevalências de 2009 a 2017, dos principais agentes etiológicos de mastite na amostra de explorações em estudo.

Adicionalmente a estes resultados, que caracterizam a amostra e parte da região em estudo, outros resultados relevantes que dizem respeito em algumas explorações em particular, serão apresentados de seguida.

Pela análise do gráfico 28, a exploração D destacou-se a partir de 2013, pelo aparecimento de *Staph. aureus* como agente de doença. Apesar de nesse ano, a sua prevalência ter sido relativamente baixa (6%), atualmente é o principal agente de mastites naquela exploração sendo responsável por 15% dos casos. Em 2015, atingiu o valor mais elevado (25%), igualando as mastites por *E.coli*.

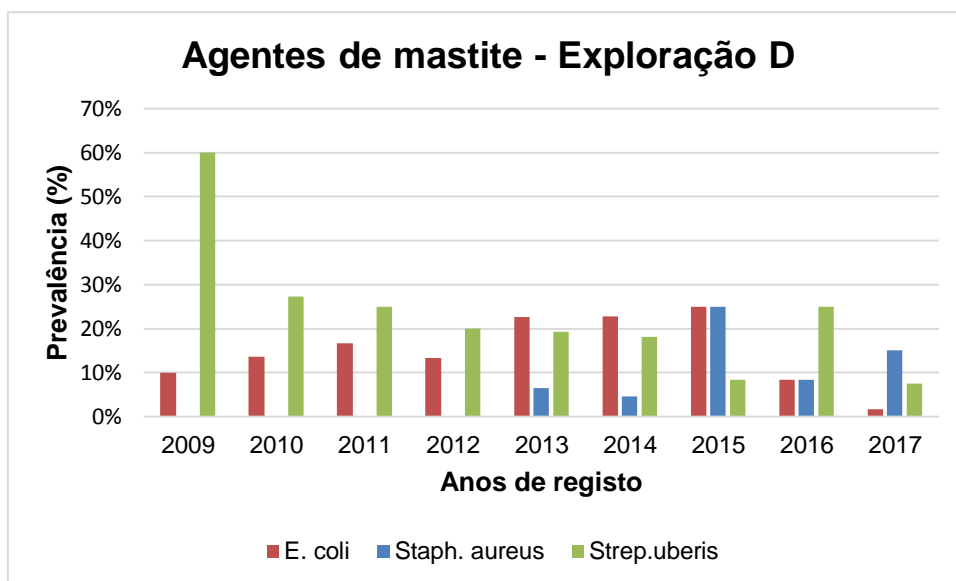


Gráfico 28 – Principais agentes de mastites da exploração D e suas prevalências de 2009 a 2017.

Pela análise do gráfico 29, na exploração J foi observada a presença constante de leveduras ao longo dos anos de registo. A sua prevalência nunca ultrapassou os 10%, à exceção do presente ano de 2017, em que juntamente com *Strep. uberis* até ao momento é o principal agente causador de mastite (13%). De referir ainda a prevalência elevada de *Strep. uberis* no ano de 2013 (56%).

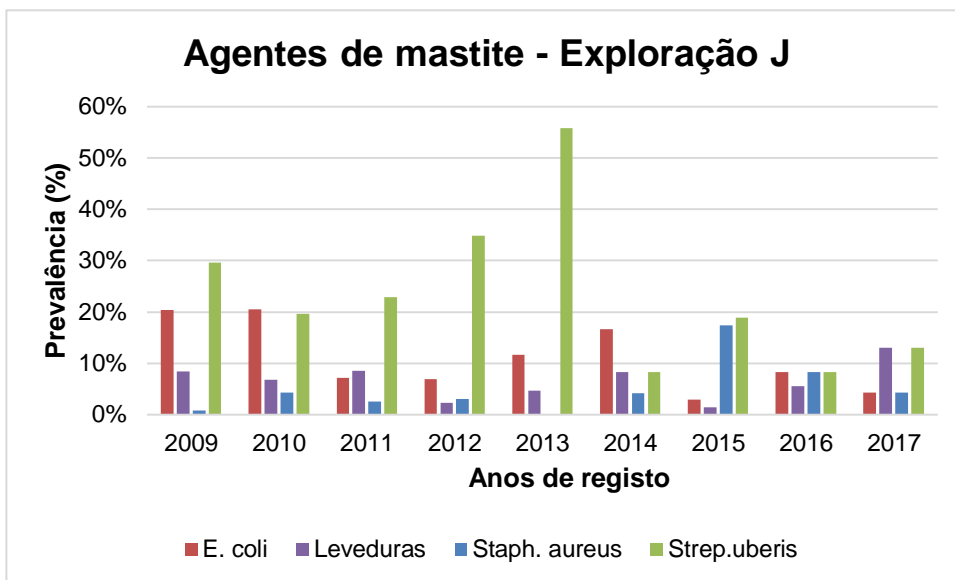


Gráfico 29 – Principais agentes de mastites da exploração J e suas prevalências de 2009 a 2017.

Na exploração O, considerou-se como resultado de interesse o facto de um dos agentes mais prevalentes da doença, ter sido do género *Corynebacterium* spp. Podem ser evidenciados dois períodos essenciais no comportamento do agente em questão: 2009 a 2012 e 2013 a 2017. No primeiro período, a sua prevalência começou por ser muito semelhante à de *E.coli* e *Strep. uberis* com quase 20% e decresceu gradualmente até 2012, ano em que foi nula. Na fase inicial do segundo período, no início atingiu novamente uma prevalência próxima dos 20% e acabou por voltar a ser nula em 2017 (gráfico 30).

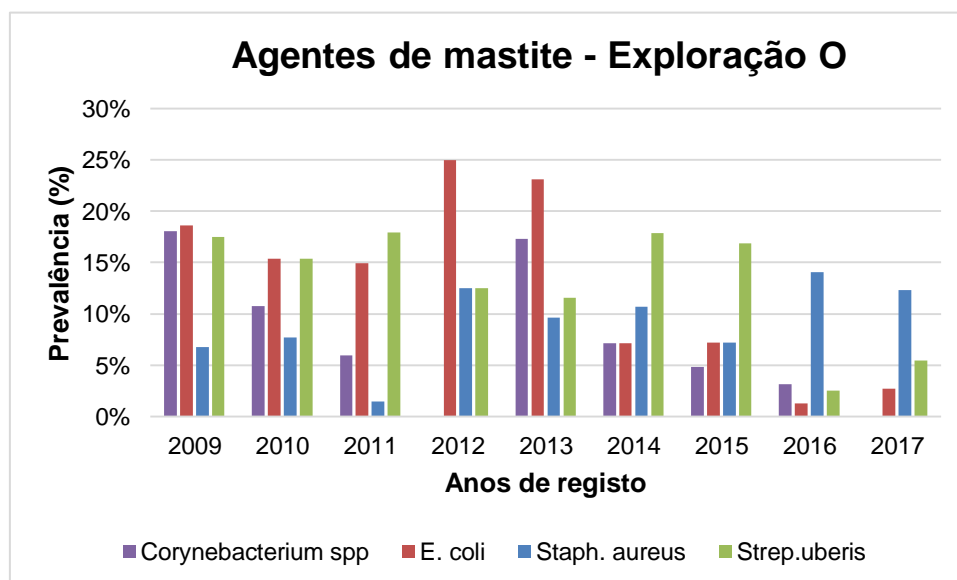


Gráfico 30 – Principais agentes de mastites da exploração O e suas prevalências de 2009 a 2017.

Ainda referente a esta exploração, realçou-se que nos últimos dois anos a tendência quanto à etiologia das mastites tem sofrido alterações. Desde o primeiro ano de registo até 2015, as mastites ambientais superaram as mastites contagiosas. A partir de 2015, a prevalência de agentes contagiosos foi muito superior à de agentes ambientais (gráfico 31).

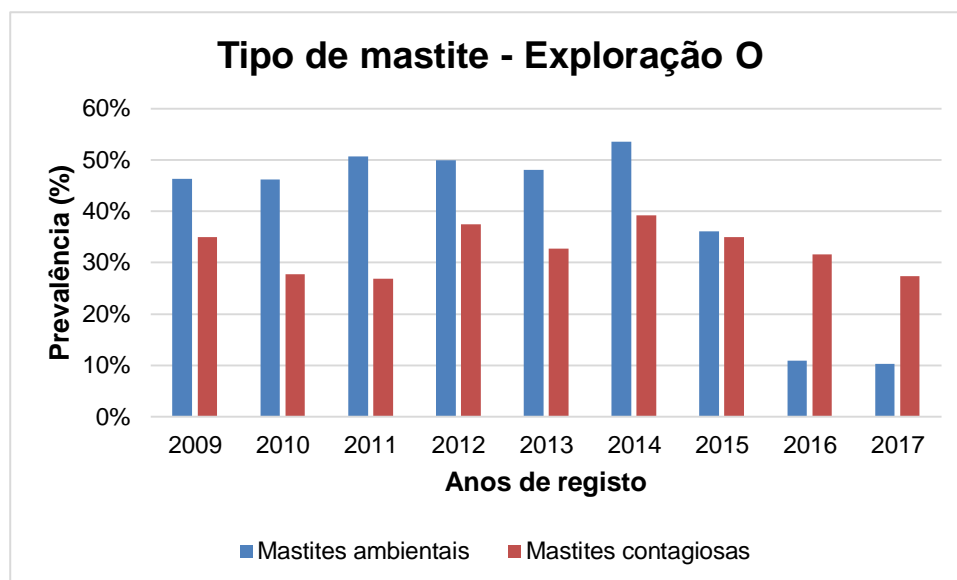


Gráfico 31 – Tipo de mastites da exploração O e suas prevalências de 2009 a 2017.

3.6) Inquéritos realizados nas explorações

3.6.1) Tabelas de frequência relativa e absoluta

3.6.1.1) Tipo de exploração e equipa de trabalho

Neste parâmetro que define a mão-de-obra existente na exploração, o tipo de relação de trabalho encontrado com maior frequência foi “Familiar com funcionários”, com um número máximo de três funcionários encontrado numa exploração. Nas explorações ditas familiares, o número máximo de pessoas do mesmo agregado familiar a trabalhar diariamente na exploração, foi quatro. Na amostra, nenhuma das explorações da região se caracteriza em termos laborais, como “Não familiar”.

Em apenas uma das explorações inquiridas, não existia qualquer divisão precisa de tarefas de modo a facilitar a organização do trabalho. Os resultados encontram-se na tabela 12.

Tabela 12 – Tipo de exploração e equipa de trabalho.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Tipo de exploração			
Familiar	Todos os trabalhadores pertencem ao mesmo agregado familiar	7	35
Familiar c/ funcionários	Existem trabalhadores que não pertencem ao agregado familiar	13	65
Não familiar	Nenhum dos trabalhadores pertence ao mesmo agregado familiar	0	0
Divisão das tarefas			
Sim	As tarefas diárias da exploração estão divididas pelos trabalhadores	19	95
Não		1	5

3.6.1.2) Caracterização do efetivo

Na amostra de explorações da região EDM, a grande maioria dos efetivos era de raça *Holstein Friesian* (95%). Uma das explorações possuía um rebanho misto, com raça *Holstein Friesian*) e *Jersey* (tabela 13).

O maior efetivo possuía 350 animais e o menor 68 animais.

Tabela 13 – Caracterização do efetivo.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Raça			
<i>Holstein Friesian</i>	Raça do efetivo da exploração	19	95
<i>Holstein Friesian</i> e <i>Jersey</i>		1	5
Efetivo total			
Pequeno	Número total de animais na exploração <100 animais	5	25
Grande	>100 animais	15	75

3.6.1.3) Instalações e higiene

No que se refere ao alojamento dos animais, constatou-se que todas as explorações utilizam cubículos.

Em todas as explorações as vacas secas encontravam-se separadas das restantes, sendo que 65% em regime de cubículos, 20% em cama livre e em 15% parque de exercício.

Quanto ao piso dos cubículos, os tapetes de borracha foram predominantes com 85%. Relativamente ao material mais utilizado nas camas, este foi o serrim com 60%. Destacou-se

que existia uma exploração da amostra que não colocava qualquer tipo de material nas camas das vacas.

Relativamente à higiene das instalações, compreendendo a manutenção e limpeza dos cubículos e a limpeza diária dos corredores, 90% das explorações fazia a manutenção dos cubículos de forma diária e 10% apenas uma vez por semana, 90% das explorações limpavam os corredores mais do que uma vez ao dia e 10% limpava menos de uma vez ao dia. As frequências encontram-se na tabela 14.

Tabela 14 – Instalações e higiene.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Tipo de alojamento			
Coleiras (<i>tie stall</i>)	Vacas presas com coleira à manjedoura	0	0
Cubículos	Alojamento em cubículos, que permitem movimento livre	20	100
Cama livre	Sem cubículos ou estrutura a delinear o espaço para camas	0	0
Pastoreio	Pastoreio ao ar livre, sem estabulação	0	0
Alojamento das vacas secas			
Cubículos	Alojamento em cubículos, que permitem movimento livre	13	65
Cama livre	Sem cubículos ou estrutura a delinear o espaço para camas	4	20
Parque de exercício	Parque ao ar livre	3	15
Piso dos cubículos			
Tapete	Tapetes de borracha	17	85
Cimento	Caixa de cimento	3	15
Material das camas			
Palha	O material utilizado é palha	0	0
Areia	O material utilizado é areia	0	0
Serrim	O material utilizado é serrim	12	60
Carbonato de cálcio	O material utilizado é carbonato de cálcio	2	10
Carbonato de cálcio e serrim	O material utilizado é uma mistura de carbonato de cálcio e serrim	5	25
Nenhum	Não é colocado qualquer tipo de material na cama	1	5

Tabela 14 (continuação) – Instalações e higiene.

Variável	Descrição	Fa	Fr(%)
Manutenção e limpeza dos cubículos			
Semanal	Renovação do material da cama e limpeza uma vez por semana	2	10
Diária	Renovação do material da cama e limpeza diariamente	18	90
Mais do que uma vez por semana	Renovação do material da cama e limpeza mais do que uma vez por semana	0	0
Limpeza dos corredores			
Menos de uma vez por dia		2	10
Uma vez por dia		0	0
Mais do que uma vez por dia		18	90

3.6.1.4) Assistência veterinária

Mais de metade das explorações não possuíam um programa de controlo de mastites, que é definido para a exploração (65%). Quanto aos protocolos terapêuticos para a doença, três explorações (15%) não o possuíam. Das explorações que efetuavam protocolos para tratamento de mastites, correspondendo a 85% da amostra, existiu um produtor que admitiu assumir a responsabilidade para a definição dos fármacos a utilizar em caso de doença (tabela 15).

Tabela 15 – Assistência veterinária.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Programa de controlo de mastites			
Sim	Existe um programa de controlo definido para a exploração	7	35
Não	Não existe um programa de controlo definido para a exploração	13	65
Protocolos Terapêuticos			
Definidos pelo veterinário	Existe protocolo terapêutico e este é definido pelo veterinário	16	80
Definidos pelo proprietário	Existe protocolo terapêutico e este é definido pelo proprietário	1	5
Não tem protocolo		3	15

3.6.1.5) Biossegurança

Nesta questão destaca-se o facto que, em nenhuma das explorações da amostra, ocorreu compra de animais do exterior para reposição, sendo esta feita através de animais da própria exploração.

Relativamente à vacinação para prevenção de mastites, apenas uma exploração a praticava (tabela 16).

Tabela 16 – Biossegurança.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Vacinação contra mastites			
Sim		1	5
Não		19	95
Compra de animais para reposição			
Sim	A reposição é feita com animais comprados do exterior	0	0
Não	A reposição é feita por recria própria	20	100

3.6.1.6) Equipamento de ordenha

No que diz respeito ao equipamento de ordenha, verificou-se que maioritariamente as explorações possuíam ordenhas do tipo “dupla” (85%) e mais especificamente, 70% tinham um sistema de ordenha em espinha, 15% tinham uma ordenha paralela, 10% tinham um *robot* e os restantes 5%, um tandem. Quanto ao número de unidades em ordenha das explorações em estudo, 65% das mesmas incluíram-se no grupo de explorações com 10 a 20 unidades. A grande parte das explorações não tinha sistema de remoção de tetinas automático.

Em 70% das explorações, a desinfecção da máquina de ordenha era feita de forma automática e numa exploração apenas, a revisão e manutenção da máquina de ordenha era feita duas vezes por ano (tabela 17).

Tabela 17 – Equipamento de ordenha.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Tipo de ordenha			
Simplex	Uma fila de unidades de ordenha	3	15
Dupla	Duas filas de unidades de ordenha	17	85
<i>Swing</i>		0	0
Tandem		1	5
Espinha		14	70
Circular		0	0
Paralela		3	15
<i>Robot</i>		2	10

Tabela 17 (continuação) – Equipamento de ordenha.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Número de unidades			
Menos de 10		5	25
De 10 a 20		13	65
Mais de 20		2	10
Retiradores automáticos:			
Sim	Tetinas retiradas automaticamente	7	35
Não	Tetinas retiradas manualmente	13	65
Desinfecção da máquina de ordenha:			
Manual	Circuito de desinfecção ativado manualmente	6	30
Automática	Circuito de desinfecção automático	14	70
Manutenção da máquina de ordenha:			
Anual	Manutenção uma vez ao ano	14	70
Bianual	Manutenção duas vezes ao ano	1	5
Superior a um ano	Manutenção efetuada nem uma vez ao ano	5	25

3.6.1.7) Rotina de ordenha

Nesta categoria respeitante às práticas de rotina de ordenha, constatou-se que 30% das explorações não realizavam qualquer divisão de tarefas durante a ordenha. Quanto ao desperdício dos primeiros jatos, 65% das explorações não o fazem e nem em todas as explorações, se utilizavam luvas na ordenha. As unidades de ordenha eram desinfetadas de vaca para vaca em 60% das explorações da amostra.

Na preparação da vaca para a ordenha, numa exploração era efetuada lavagem com água nos tetos. Quanto à secagem, uma exploração optava por não fazer secagem dos tetos e as restantes secavam individualmente, com papel. O princípio ativo mais utilizado como *pré-dipping* era o iodo (45%) e só 65% das explorações o utilizavam. Todas as explorações recorreram ao *pós-dipping* após a ordenha e o princípio ativo mais usado era o iodo (90%).

Todos os animais, imediatamente após a ordenha, dispunham de comida na manjedoura.

As diferentes frequências estão registadas na tabela 18.

Tabela 18 – Rotina de ordenha.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Divisão de tarefas:	As tarefas na ordenha estão divididas pelos ordenhadores		
Sim		14	70
Não		6	30
Desperdício dos primeiros jatos:	Os primeiros jatos são retirados antes de iniciar a ordenha		
Sim		7	35
Não		13	65
Uso de luvas:	Os ordenhadores utilizam luvas		
Sim		16	80
Não		4	20
Desinfecção das unidades de ordenha:	Entre vacas, as unidades são desinfetadas		
Sim		12	60
Não		8	40
Lavagem com água:			
Lavagem dos tetos		1	5
Lavagem do úbere		0	0
Não utiliza água		19	95
Secagem de tetos:			
Individual	Uma porção de material para cada vaca	19	95
Coletiva	Uma porção de material para várias vacas	0	0
Não seca	Não seca os tetos da vaca	1	5
Material de secagem:			
Papel	Secagem dos tetos com papel	19	95
Toalha	Secagem dos tetos com toalha	0	0
Outro	Outro material de secagem de tetos	0	0
Não seca	Não seca os tetos	1	5
Pré-dipping:	Desinfecção antes de colocar as tetinas		
Sim		17	65
Não		3	35
Princípio activo pré-dipping:			
Iodo		9	45
Cloro		2	10
Chlorhexidina		3	15
Ac. lácticos		6	30

Tabela 18 (continuação) – Rotina de ordenha.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Pós-dipping:			
	Desinfecção após retirar as tetinas		
Sim		20	100
Não		0	0
Princípio ativo pós-dipping:			
Iodo		18	90
Cloro		0	0
Chlorhexidina		0	0
Ac. lácticos		2	10
Alimentação disponível após a ordenha:			
	O animal tem comida disponível no final da ordenha		
Sim		20	100
Não		0	0

3.6.1.8) Tratamento dos animais com mastite

No que concerne ao tratamento dos animais com mastite, verificou-se que 15% das explorações da amostra, não fazem qualquer tipo de separação das vacas infetadas e estas eram ordenhadas com as restantes. Nas explorações onde ocorria separação das vacas doentes e saudáveis, uma delas optava por ordenhar as vacas com mastite numa unidade separada.

Na amostra em estudo, 80% da mesma procedia regularmente a registo dos animais que se encontram em tratamento, inclusivamente, com anotação dos fármacos utilizados (tabela 19).

Tabela 19 – Tratamento dos animais com mastite.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Segregação de Animais			
Em último na ordenha	Vacas ordenhadas em último lugar	16	80
Unidades separadas	Vacas ordenhadas em unidades distintas	1	5
Sem separação	Vacas com mastite ordenhadas em conjunto com as outras	3	15
Registos dos animais em tratamento			
Sim	Existe um registo contínuo e atualizado	16	80
Não	Não existe qualquer sistema de registo	4	20

3.6.1.9) Secagem dos animais

Na secagem dos animais verificou-se que 85% das explorações utilizavam selante e 90% delas utilizavam antibiótico. Quanto à secagem seletiva, esta era praticada em 30% das explorações da região (tabela 20).

Tabela 20 – Secagem dos animais.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Utilização de selante			
Sim		17	85
Não		3	15
Utilização de antibiótico			
Sim		18	90
Não		2	10
Secagem seletiva			
Sim		6	30
Não		14	70

3.6.10) Alterações na taxa de refugo em 2016

Nas explorações inquiridas, 70% dos produtores admitiram aumentar a sua taxa de refugo em 2016, 10% afirmaram diminuir o número de vacas de refugo e 20% conseguiram manter a sua taxa de refugo habitual (tabela 21).

Tabela 21 – Alterações na taxa de refugo.

Variável	Descrição	Fa	Fr (%)
Taxa de refugo			
Aumento	O produtor refugou mais vacas do que esperava	14	70
Diminuição	O produtor refugou menos vacas do que esperava	2	10
Manutenção	O produtor manteve a taxa de refugo	4	20

3.6.2) Classificação das explorações e associação com índices epidemiológicos

As explorações foram classificadas em duas categorias:

- Tamanho do efetivo:
 - Grande: nº de animais é > 100;
 - Pequena: nº de animais é < 100.
- Processo da ordenha:
 - Completa: todos os procedimentos de rotina são efetuados;
 - Incompleta: nem todos os procedimentos de rotina são efetuados.

Os índices epidemiológicos a confrontar com as explorações, foram escolhidos de acordo com as médias anuais, sendo aqueles que se afastaram mais do objetivo, as vacas saudáveis (%), risco de NI (%) e taxa de cura (%).

Na tabela 22 e 23, estão representados os resultados do índice de vacas saudáveis e a sua relação com o tamanho do efetivo e com o processo de ordenha, respetivamente. Pela análise da tabela 22, verificou-se que 13 das 20 explorações da amostra, obtiveram uma percentagem de vacas saudáveis acima dos 75% e que, a maioria delas eram consideradas explorações grandes. As restantes sete explorações, não atingiram o objetivo proposto para o índice em causa e cinco delas, eram também explorações com um efetivo grande. Relativamente ao processo de ordenha, das 12 das explorações com vacas saudáveis acima dos 75%, dez praticavam uma ordenha completa. Apenas quatro das explorações da amostra, praticavam uma ordenha incompleta (tabela 23).

Tabela 22 – Tabela de contingência para as vacas saudáveis e tamanho do efetivo.

	Vacas saudáveis > 75%	Vacas saudáveis < 75%	Total
Exploração grande	10	5	15
Exploração pequena	3	2	5
Total	13	7	20

$p = 0,786$ (não é significativo para $p < 0,05$).

Tabela 23 – Tabela de contingência para as vacas saudáveis e processo da ordenha.

	Vacas saudáveis > 75%	Vacas saudáveis < 75%	Total
Ordenha completa	10	6	16
Ordenha incompleta	2	2	4
Total	12	8	20

$p = 0,648$ (não é significativo para $p < 0,05$).

As relações entre o risco de NI e o tamanho do efetivo e daquele índice com o processo de ordenha, estão representadas na tabela 24 e 25 respectivamente. Pela análise da tabela 24, observou-se que 11 explorações possuíram um risco de NI superior ao desejado e que nove, cumpriram o objetivo proposto. Das 11 explorações que tiveram um risco superior a 8%, nove eram grandes. Analisando a tabela 23, constatou-se que das quatro explorações que praticavam uma ordenha incompleta, apenas uma cumpriu o objetivo definido para o risco de NI. Dez das 16 explorações consideradas como tendo uma ordenha completa, obtiveram um risco de NI acima dos 8%. As restantes seis, possuem um risco de NI mais baixo e representam a maioria das explorações que efetivamente obtiveram bons resultados para este índice.

Tabela 24 – Tabela de contingência para o risco de NI e tamanho do efetivo.

	Risco de NI > 8%	Risco de NI < 8%	Total
Exploração grande	9	6	15
Exploração pequena	2	3	5
Total	11	9	20

$p = 0,438$ (não é significativo para $p < 0,05$).

Tabela 25 – Tabela de contingência para o risco de NI e processo da ordenha.

	Risco de NI > 8%	Risco de NI < 8%	Total
Ordenha completa	10	6	16
Ordenha incompleta	3	1	4
Total	13	7	20

$p = 0,639$ (não é significativo para $p < 0,05$).

A taxa de cura foi relacionada com o tamanho do efetivo e com o processo de ordenha e os resultados estão representadas nas tabelas 26 e 27. Pela análise da tabela 26, verificou-se que na maioria das explorações grandes, a taxa de cura foi inferior a 50% e que apenas uma exploração pequena, a taxa de cura cumpriu o objetivo definido. Relativamente ao processo de ordenha, nenhuma exploração com ordenha incompleta obteve uma taxa de cura superior a 50%. Das 15 explorações com uma taxa de cura abaixo dos 50%, 11 delas praticavam uma ordenha completa (tabela 27).

Tabela 26 – Tabela de contingência para a taxa de cura e tamanho de efetivo.

	Taxa de cura > 50%	Taxa de cura < 50 %	Total
Exploração grande	4	11	15
Exploração pequena	1	4	5
Total	5	16	20

$p = 0,766$ (não é significativo para $p < 0,05$).

Tabela 27 – Tabela de contingência para a taxa de cura e processo de ordenha.

	Taxa de cura > 50%	Taxa de cura < 50 %	Total
Ordenha completa	5	11	16
Ordenha incompleta	0	4	4
Total	5	15	20

$p = 0,197$ (não é significativo para $p < 0,05$).

4. Discussão

4.1) Análise do contraste leiteiro

Perante os resultados obtidos destacou-se um período crítico, com as alterações mais significativas na epidemiologia das mastites, nos indicadores da exploração e nos índices epidemiológicos de mastites: o último trimestre de 2016. Contudo, também se constatarem outras variações sazonais relevantes em determinados índices, discutidas de seguida.

Quanto aos objetivos propostos para estes índices, parte deles foram cumpridos e os que não se concretizaram, têm potencial para melhorar.

Na distribuição empírica de dados, as assimetrias verificadas não são discrepantes ou problemáticas, apenas os *outliers* foram tidos em consideração pois podem afetar de forma desfavorável as decisões a serem tomadas, a partir da análise dos dados, se não forem devidamente considerados.

No controlo pós-parto, surgiu um resultado interessante relativo às vacas primíparas e confirmou-se que o número de lactações efetivamente influencia a ocorrência de mastites no pós-parto.

No que concerne ao PS, a taxa de cura e a proporção de vacas infetadas serão analisadas com maior pormenor, uma vez que foi estabelecida uma relação entre ambas.

4.1.1) Indicadores da exploração

Relativamente aos indicadores da exploração em estudo, animais em ordenha e produção leiteira, existiu uma correlação entre eles. Desde o início de 2016 e sensivelmente

até metade deste mesmo ano, o número de animais em ordenha foi sofrendo uma descida até ao último trimestre do ano, subindo depois substancialmente. Este resultado pode ser explicado através da influência que os contratos de produção de leite tiveram no maneio das explorações por parte dos seus proprietários. Nos primeiros meses de 2016, os produtores para adaptar a sua produção às limitações do contrato, procederam a um maior refugo de animais. Aliás, todo o ajuste aos contratos foi feito de forma contínua ao longo do ano, mas houve uma maior abertura por parte das entidades recolhedoras de leite, para a produção no final do mesmo, logo a taxa de refugo no final do ano foi substancialmente menor. Isto resultou num número máximo de animais em ordenha para que os produtores tivessem mais leite para entrega. Por sua vez, este acontecimento influenciou a produção de leite. Como aconteceu com os animais em ordenha, a partir de outubro até ao final do ano, houve um aumento da produção de leite. Com um maior número de animais a serem ordenhados, é esperada uma maior quantidade de leite produzida. A quantidade de leite produzida na primeira metade de 2016 foi superior à segunda metade do ano. A segunda metade do ano compreende os meses mais quentes (junho a setembro) e naturalmente no verão, devido aos períodos prolongados de temperaturas mais elevadas (juntamente com uma humidade relativa mais alta), há comprometimento da capacidade da vaca em dissipar o excesso do calor corporal. Consecutivamente apresentam uma menor ingestão de matéria seca e produção de leite (West, 2003). Não obstante, a CCS influencia a quantidade de leite produzido (Halasa *et al*, 2009).

É sempre do interesse do produtor, para obter um maior retorno económico, que as perdas de produção sejam nulas e esse foi o objetivo proposto. Contudo, as mastites subclínicas provocam quebras na produção de leite e fazem com que o leite seja descartado (devido aos tratamentos e cumprimento dos intervalos de segurança dos fármacos) (Petrovsky *et al*, 2006). As mastites subclínicas, para além de perdas de produção, levam a NI (Lam *et al*, 2009).

Confrontada com a bibliografia atual, existe alguma divergência na interpretação da relação de CCS com as perdas de produção, uma vez que aquela pode estar na origem de maiores perdas, sobretudo se se tratar de um caso de mastite subclínica (Halasa *et al*, 2009), precisamente o tipo de mastites em destaque no presente estudo. Segundo o NMC (1996), não se verificam perdas de produção até às 200 000 céls/ml e a média de CCS na amostra em estudo, foi de 185 500 céls/ml. Outros autores demonstraram que até às 50 000 céls/ml as perdas são desprezíveis, mas sempre que a CCS duplica (acima do valor considerado), as perdas produtivas são de 0,4 kg/dia numa vaca primípara e 0,6 kg/dia, numa vaca múltipara (em média, resumem-se a perdas de 80kg ou 1,3% e 120 kg ou 1,7% por lactação, respetivamente) (Hortet e Seegers, 1998). Halasa *et al* (2009),concluíram que as vacas primíparas perdem cerca de 0,3 kg/dia com uma CCS de 200 000 céls/ml e as vacas múltiparas têm perdas de aproximadamente 0,54 kg/dia. Sumariamente, o efeito do CCS sobre o rendimento produtivo individual das vacas, pode ser tomado como uma diminuição de 0,5kg/dia por cada vez que duplica o valor de 50 000 céls/ml (Seegers e Fourichon, 2003).

4.1.2) Objetivos propostos

No total contabilizaram-se 1,8 % em perdas de produção que se traduziram em média, em 50 kg/dia perdidos por vaca, por exploração. Com isto, considerando o valor de 200 000 céls/ml, perderam-se cerca de 60kg/dia por vaca. Se o mesmo cálculo for efetuado para as 185 500 céls/ml as perdas produtivas são de 55,7 kg/dia por vaca, ainda assim um pouco acima da média obtida pela análise do CL. Apesar de não se verificar que as perdas de produção tanto percentuais como em litros de leite fossem zero, estes valores acabam por não ser preocupantes, pois crê-se que com uma maior e criteriosa prevenção e pela implementação de um programa que vise a saúde do úbere, possa atingir os padrões ideais.

A média anual de 185 500 céls/ml apesar de ser abaixo das 200 000 céls/ml, excedeu o objetivo definido de 150 000 céls/ml. Esta CCS foi tomada como objetivo, porque independentemente de ser o limiar ideal para minimizar o erro de diagnóstico, recentemente Ruegg (2015) sugeriu que todas as vacas com CCS de 200 000 céls/ml, são consideradas como tendo pelo menos um quarto afetado com mastite subclínica. Contudo, não deixa de ser um resultado favorável e com perspectivas para melhorar. De salientar que foram obtidos valores mínimos sempre entre as 50 000 céls/ml e as 80 000 céls/ml, o que significa, todavia, que estiveram presentes as boas práticas e existiram tentativas de minimizar as perdas de produção.

Em relação às NI ou incidência de IIM verificadas nas explorações em estudo, o objetivo definido não foi cumprido, embora apenas tenha excedido em 0,5% o valor proposto de 8%. Este facto não se torna muito preocupante pois é a partir dos 10%, que se considera o problema grave e requer uma atenção urgente para a exploração e para os casos clínicos existentes. Se o valor exceder os 5%, é necessária uma monitorização da CCS e uma análise constante dos registos de mastites (Bradley e Green, 2005).

Com um risco de NI de 12% em 2016, este índice ficou acima do que seria o objetivo. É imperativo que este índice seja de conhecimento fundamental nos efetivos bovinos leiteiros, pois é crucial para o controlo de mastite e uma estimativa do mesmo. Este índice fornece ainda, uma análise crítica sobre o impacto da qualidade do leite e que esforços devem ser feitos para uma melhoria da saúde individual, de rebanho e com um maior aprofundamento, a nível regional ou nacional (Lukas *et al*, 2005).

Com uma média anual de 8,4%, as vacas crónicas ficaram abaixo dos 10%, o que respeita o objetivo proposto. Não obstante, neste caso visto que mais de 8% da amostra demonstrou ter vacas cronicamente infetadas, sugere-se criar uma lista dos animais nessa situação e enviar o seu leite para cultura em laboratório, para identificação do agente (Almelo e Tikofsky, 2008). Seria importante que os produtores aderissem a esta prática, pois o *Staph. aureus* por exemplo, causa predominantemente mastites subclínicas resultantes de infeção crónica, que podem persistir durante grande parte da vida do animal e este agente é responsável por cerca de 80% dos gastos relativos às mastites (Carrillo-Casas e Miranda-Morales, 2012).

As vacas saudáveis, de uma maneira geral, tiveram resultados aceitáveis. Com uma média anual de 76%, a proporção de vacas saudáveis superou o objetivo definido, embora pela margem mínima de 1%.

O índice de vacas curadas, cumpriu com o objetivo estabelecido com uma média anual abaixo dos 10%, o que desde logo se tornou um resultado positivo. Este valor deve ser o mais baixo possível e directamente relacionado com as NI.

A taxa de cura aproximou-se do valor proposto como objetivo (> 50%), com 46%. As taxas de cura são dificilmente avaliadas quantitativamente, na prática diária. Como a informação relativa às taxas de cura oferece a possibilidade de julgar realmente o sucesso do tratamento num rebanho, o uso destes dados pelos profissionais deve ser defendido (Lam *et al*, 2009). Se a taxa de cura for baixa, os casos de MSC não devem ser tratados durante a lactação, sendo o tratamento adiado até surgirem sinais clínicos ou até ao PS, quando os antibióticos são utilizados rotineiramente e aplicados nos quartos do úbere, de todas as vacas (Deluyker *et al*, 2005).

4.1.3) Sazonalidade dos índices epidemiológicos de mastites

O índice de maior interesse a analisar foi sem dúvida o da CCS, uma vez que é a base para o cálculo de todos os índices epidemiológicos, acabando obviamente por influenciar a sua dinâmica. Os valores mais elevados deste índice foram entre abril e julho e também no último trimestre do ano. Na primavera e verão, a CCS é facilmente justificada porque as temperaturas e humidade nesta altura do ano são as ótimas para a proliferação e crescimento bacteriano. Para além disso, as explorações da região são muito fechadas, com falta de ventilação e com estábulos bastante húmidos. Quanto à CCS, no último trimestre do ano, esta torna-se evidente pela subida acentuada dos valores máximos. Avaliando a subida acentuada dos valores máximos de CCS no último trimestre e conferindo este evento com os anteriores, referentes ao aumento dos animais em ordenha e à produção leiteira, concluiu-se que esta é fundamentada pela política dos contratos de produção de leite. Tal como já referido e relacionando o mesmo com a CCS, a taxa de refugo ao ter substancialmente diminuído no final do ano, fez com que todo o leite fosse utilizado pelos produtores para colmatar as falhas decorrentes das restrições no começo de 2016. Como os contratos estabelecidos entre os produtores e a empresa que recolhe o leite, permitiram que no final do ano houvesse uma maior liberdade para a produção de leite, a taxa de refugo foi menor e as até as vacas crónicas acabaram por ficar nas explorações e inclusivamente o seu leite, acabou por ser aproveitado. A grande parte dos produtores de leite da região, perante uma vaca cronicamente infetada, acaba por secar permanentemente um quarto afetado (caso se verifique) ou refuga a vaca, sendo a última opção a mais adequada para minimizar o risco de contágio de nova IIM ao restante rebanho. Neste caso, tal não se verificou, pelo menos de forma tão intensa. Em termos gerais, foi no final do ano, a partir de setembro que se constatou um maior número de vacas com mastite crónica nas explorações. No entanto, as vacas cronicamente infetadas também podem ser

definidas por estarem acima do limiar de CCS, mas de forma intermitente (Bradley, 2007), o que pode explicar os valores mais elevados em 2016 e os picos observados.

A explicação para as variações sazonais na taxa de NI, carecem de informação em estudos já publicados (Cook *et al*, 2002). Porém, estes resultados não podem ser interpretados de forma isolada, uma vez que a CCS está relacionada com as NI. Logo a CCS pode ser um dos motivos para tal e um registo onde se poderá retirar informação útil. Ao comparar os dois gráficos que caracterizam a sazonalidade destes dois índices, concluiu-se que ambos são bastante semelhantes. Quando ocorreu um aumento na CCS, por sua vez aumentaram as NI e vice-versa, o que reforça a associação entre estes índices. As NI podem então ser estimadas utilizando o limiar de CCS (do CL), uma vez que é um sistema prontamente disponível nas explorações, sendo válido para avaliar as dinâmicas de infeção no rebanho (Cook *et al*. 2002)

Ao analisar o gráfico respeitante à sazonalidade do risco de NI, chega-se à conclusão que é idêntico ao das NI e que o seu comportamento ao longo do ano foi similar. Para o risco de NI ser discutido, há que ter em consideração todos os fatores que contribuem para o mesmo. Os principais fatores de risco foram avaliados nas explorações em estudo, através de inquéritos que após discussão, permitirão retirar conclusões mais precisas relativamente a este índice.

Focando a questão do aproveitamento de todo o leite por parte dos produtores, mesmo o de proveniente de vacas com mastite (seja por nova infeção ou infeção crónica), este facto possui uma forte importância económica e contribui para um menor rendimento, já que afeta a produção de leite em quantidade e qualidade.

A mastite é responsável por mudanças na composição do leite, essencialmente na redução da atividade de síntese dos seus principais constituintes (gordura, lactose e caseína) e no aumento elementos sanguíneos devido à reação inflamatória (albumina sérica e imunoglobulinas, cloreto e sódio). A nível económico isto é crucial, devido aos preços de leite e sistema de pagamento do mesmo na União Europeia (UE) (Hortet e Seegers, 1998).

A contagem de microrganismos totais e a CCS são dois parâmetros para os quais existe um limite regulamentado (dependendo do país), ao nível do leite do tanque, pois a mastite provoca um aumento em ambos (Halasa *et al*, 2007). Se esse limite for excedido, existem repercussões a nível económico, com penalizações no preço final pago ao produtor. No entanto, também se praticam bonificações e prémios de produção perante um leite que cumpra os requisitos. Na região EDM, a principal entidade de recolha do leite (Agros U.C.R. L®) penaliza a partir das 300 000 céls/ml no leite do tanque, mas o limite aceitável está nas 400 000 céls/ml, que é o praticado na UE (Regulamento CE 852/2004).

No período compreendido entre agosto e outubro, observaram-se os melhores resultados, com níveis máximos de vacas consideradas livres de IIM quase a chegar aos 100%. O mesmo sucedeu em fevereiro e março, no que diz respeito às vacas saudáveis. Se compararmos com o gráfico de CCS, foi precisamente nestes intervalos temporais que esta foi mais baixa, o que obviamente se traduz em mais vacas saudáveis. No último trimestre,

verificou-se um decréscimo nos animais sem IIM, o que advém da subida da CCS no mesmo período.

A percentagem de vacas curadas começou por ser baixa em 2016 e provavelmente isso foi decorrente dos resultados dos outros índices. Conferindo os índices já discutidos, a proporção de vacas curadas parece estar em consonância com a dinâmica da CCS, pois quando os valores de CCS tendem a subir, a proporção de vacas curadas também sobe (embora nos últimos meses do ano, tenha estagnado e não acompanhado a subida de CCS). De salientar que existiram valores mínimos de vacas curadas de 0% nalguns meses do ano, apesar de ficar a dúvida se este valor é referente a um bom maneio e a um tratamento efetivo de IIM, ou apenas diz respeito à ausência de MSC nas explorações, não se aplicando o caso de cura. Este índice está estreitamente relacionado com a taxa de cura.

A taxa de cura no início de 2016 começou por apresentar uma descida, justificando a proporção de vacas curadas baixa, também no mesmo período. A taxa de cura verdadeira compreende não só uma CCS abaixo das 200 000 céls/ml, mas também a cura bacteriológica pela ausência de microrganismos capazes de causar a doença. Contudo, a CCS influencia esta cura bacteriológica (entre outros, como a idade da vaca, a quantidade de quartos afetados, histórico de mastites, estado de lactação, posição do quarto e duração da infeção) (Degen et al, 2015). A cura espontânea também interfere com a taxa de cura e no caso de MSC, esta é muito variável (Hogeveen, 2005). Também se deve ter em conta o facto que após o tratamento ou cura espontânea, a CCS irá gradualmente voltar para valores abaixo das 200 000 céls/ml, mas o tempo necessário para isso, dependerá do agente etiológico (Ruegg e Pantoja, 2013).

Como o modelo de análise, apenas quantificou a taxa de cura relativa à CCS aconselha-se realmente efetuar regularmente culturas bacteriológicas para identificação dos agentes de mastites nas explorações e ter a certeza, se a taxa de cura (e vacas curadas) é verdadeira e não subestimada. Ainda assim, ao longo do ano a taxa de presumível cura teve como valor máximo 100% portanto, demonstra o sucesso nos tratamentos efetuados.

De novo, no final do ano evidenciou-se um decréscimo na taxa de cura, consolidando a premissa que já tem vindo a ser construída sobre o estado atual da produção de leite naquela região e de que forma esta atuou sobre as MSC, na região.

4.1.4) Distribuição dos dados anuais

Os gráficos *box plot* foram vantajosos para avaliar, em primeira instância, a distribuição empírica de dados em 2016 e identificar valores atípicos. É um método de análise simples e rápido para verificar simetria e dispersão de dados.

Em relação aos *outliers* encontrados, são valores aberrantes e inconsistentes, mas que neste caso, não devem ser eliminados da análise pois contribuem para os resultados finais. Estes surgiram em determinados gráficos, não por erros de medição ou execução, mas por

inerências características da amostra. Neste estudo, a amostra foi relativamente pequena e foi possível identificar a fonte desses valores, neste caso, as explorações em causa.

Nos animais em ordenha, foram devido a duas explorações que tinham um efetivo substancialmente superior aos demais e nos restantes índices epidemiológicos foram casos particulares que devem ser analisados com maior pormenor, em contexto com fatores de risco, práticas de manejo e a própria caracterização da exploração.

4.1.5) Controlo pós-parto

Das vacas recém-paridas, 16% foram identificadas como tendo MSC. O resultado não representou gravidade, uma vez que o objetivo delineado era de 15% e há que ter em conta o facto de que após o parto, a CCS tende a ser elevada no primeiro CL (Madouasse *et al*, 2012).

Nestas vacas, há que considerar que a maior parte dos casos de mastites que surgem, foram adquiridos no PS (Henderson *et al*, 2006). A divisão das vacas em grupos (de 1ª lactação; com duas lactações; e com três ou mais lactações) prendeu-se com o facto do aumento do nº de lactações estar relacionado com maior risco de ocorrência de mastite (Dingwell *et al*, 2004; Henderson *et al*, 2016; Penev *et al*, 2014). Considerando este facto, procedeu-se a análise e os resultados obtidos confirmaram, em parte, o que a literatura atual descreve: que à medida que as lactações aumentam, aumenta o risco de mastite (Breen *et al*, 2009; Penev *et al*, 2004). Nenhum dos grupos etários cumpriu o objetivo definido (<10%): as vacas com uma lactação representaram 16% do total das vacas recém-paridas, as vacas com duas lactações 11% e por sua vez, as com três ou mais lactações, 19%. De facto, comprovou-se que as vacas com três ou mais lactações com MSC, estiveram em maior proporção relativamente aos outros grupos. No entanto, no grupo de vacas com duas lactações, verificou-se uma média de vacas com MSC de 11%, inferior às de 1ª lactação (16%). Foi também no grupo das vacas de 1º lactação, que se verificou uma maior variabilidade dos dados.

A explicação para este acontecimento pode ser o manejo das vacas primíparas no pré-parto. Sabe-se que a incidência de mastite é superior nestas vacas nos primeiros dias pós-parto, do que nas múltíparas devido às diferenças fisiológicas, pois as primíparas estão a iniciar a lactação pela primeira vez e ainda não atingiram o crescimento máximo. As diferenças específicas no sistema imunitário e também na suscetibilidade a determinados agentes de mastites (maior para *Strep. uberis* e menor para *Staph. aureus*, nas vacas primíparas), podem explicar as diferenças de incidência de mastites em diferentes grupos etários (De Vliegher *et al*, 2012). Os produtores da região devem estar consciencializados que o manejo das vacas que irão parir pela primeira vez, tem de ser criteriosamente planeado para os animais disporem das condições ótimas para a sua vida produtiva. Estes animais são os mais valiosos da exploração, não só garantindo o futuro do efetivo, mas também devido ao elevado investimento económico feito para o seu crescimento e desenvolvimento.

Claro que, não se pode descartar o manejo correto das vacas mais velhas no PS, mas de facto o melhor resultado foi o do grupo de duas lactações, ainda que com um *outlier* de

44%, valor esse muito elevado e que tem de ser tido em consideração para decisões futuras, na exploração da amostra em que ocorreu.

4.1.6) Período seco

No período seco, quatro dos índices epidemiológicos não corresponderam ao que se pretendia: 65% de vacas saudáveis (menos 25%), 17% de vacas curadas (menos 43%), 11% de vacas infetadas (mais 1%) e o risco de NI (mais 5%). Nos restantes parâmetros, as vacas com mastite crónica ficaram abaixo dos 20% (7%) e a taxa de cura foi superior a 60% (76%).

O que ressalta nestes resultados foi que a taxa de cura no PS obteve um valor elevado, mas por sua vez, a proporção de vacas curadas no PS foi baixa. O cálculo destes índices foi baseado em duas amostras de CCS do CL, uma do mês anterior à secagem e outra, no mês seguinte ao parto, ou seja, na lactação seguinte. Entre os contrastes, algumas vacas infetadas podem ter-se curado da IIM, mas voltaram a infetar-se novamente. Na realidade, a cura foi aparente, uma vez que em alguns animais houve reinfeção. Ou seja, este fenómeno explica o facto de existirem poucas vacas curadas, mas a taxa de cura foi considerada alta (o programa contabilizou as vacas aparentemente curadas para calcular a taxa de cura). Isto é plausível, pois as curas são mais prováveis de acontecer no início do PS após ter sido administrada a terapia de secagem e uma nova IIM poderia ter surgido à medida que a eficácia do tratamento antibiótico desaparecia, durante a colostrogénese e durante a fase inicial da lactação, quando a glândula mamária se torna mais sensível a uma IIM novamente (Madouasse *et al*, 2012). Certamente, isto acontece nalguns animais, mas determinar a quantidade exata dos mesmos, é difícil a partir dos dados e métodos utilizados neste estudo.

Está comprovado que as NI podem surgir no PS, tendo um efeito negativo na saúde do úbere e na lactação subsequente. Adicionalmente, isso traz prejuízo económico ao produtor pois tem um efeito negativo na qualidade do leite, leva a um maior uso de antibióticos para tratamento e põe em causa o bem-estar animal (Henderson *et al*, 2016).

No presente estudo, a taxa de cura foi de 76%, em dados de um ano, em 20 explorações. Outros estudos mais complexos, Madouasse *et al* (2010), durante dois anos estudaram mais de 2000 explorações e obtiveram 72% de taxa de cura no PS, enquanto que Cook *et al* (2002) durante um ano, obtiveram uma taxa de cura no PS de 62,9%, em 145 explorações.

Neste estudo, as vacas infetadas apenas excederam o que foi proposto em 1%, não sendo muito grave. Nos estudos já referenciados, Madouasse *et al* (2010), alcançaram o resultado de 17,9% de vacas infetadas no PS e Cook *et al* (2002), constataram que 22,4% das vacas, adquiriram MSC no PS.

Por outro lado, o risco de NI demonstrou que o maneio no PS terá de sofrer alterações para futuras melhorias. Durante o PS, o risco de NI não permanece constante, possuindo picos imediatamente após a secagem e pouco antes do parto. Este risco é influenciado por múltiplos fatores, intrínsecos ao animal, ao agente etiológico e ao meio ambiente (Pieper *et al*, 2013). Reduzir este risco é de grande importância e para esse fim, as condições de higiene no

ambiente das vacas secas, métodos de secagem e outras boas práticas de manejo, devem ser executadas.

As taxas de cura baseadas na CCS devem ser interpretadas em conjunto com a proporção de vacas infetadas no PS, pois valores elevados de cura podem ser indicativos de reinfeção.

Os produtores, em conjunto com os veterinários, devem investir na prevenção de MSC no PS, pois estas têm um maior impacto na lactação seguinte (Pieper *et al*, 2013).

4.2) Prevalência dos agentes causadores de mastite

Esta pequena análise de prevalências dos agentes causadores de mastite na amostra em estudo, não foi feita com auxílio do CL. Não obstante, não deixou de ser um complemento ao trabalho experimental e evidenciou que o conhecimento dos agentes etiológicos de mastite, tem relevância em termos epidemiológicos.

A amostra do estudo, não permite que sejam tiradas conclusões respeitantes às prevalências da região EDM no seu todo, mas de certa forma, demonstra qual a tendência da região e dos agentes causadores da doença. A análise foi igualmente útil para identificar agentes e orientar a tomada de decisão na implementação de programas de saúde do úbere.

Para incluir um programa de controlo de mastites numa exploração, não só se terá de estudar a CCS e os fatores de risco inerentes à doença, mas também a região geográfica e as práticas de produção. A prevalência dos agentes etiológicos, também deve ser averiguada para orientar esse mesmo programa (Carrillo-Casas e Miranda-Morales, 2012).

A cultura bacteriana e a identificação dos agentes isolados são consideradas os melhores métodos para o diagnóstico de mastite, mas acabam por ser demorados e requerem muito trabalho. Nas explorações da amostra quando existe suspeita de mastite, o leite dos quartos de úbere é recolhido e enviado para o laboratório para se proceder à pesquisa de agentes. Também pode ser utilizada uma amostra de leite do tanque de refrigeração. Todas as amostras e os seus resultados são armazenados numa base de dados, construindo um histórico dos agentes de mastites em todas as explorações dos SVA. Os registos datam desde 2009 e a manutenção deste tipo de registos permite avaliar a evolução dos agentes e entender, quais são os mais frequentes e que tipo de mastite prevalece nas explorações.

Para esta breve investigação teve-se em conta que uma das desvantagens das culturas microbiológicas é o aparecimento por vezes, de amostras com culturas negativas, sem crescimento, o que interfere com os resultados.

Os casos de mastite, tanto ambientais como contagiosas, têm vindo a diminuir nas explorações da região, muito provavelmente fruto dos programas para a promoção da qualidade do leite, cada vez mais aplicadas nas mesmas. Sabe-se que a redução na prevalência de mastite, pode ser obtida pela prevenção de NI e a eliminação de infeções existentes, mas as explorações leiteiras são complexas e a implementação de um plano de

saúde do úbere pode ser difícil, a menos que os intervenientes trabalhem em uníssono: produtores, médicos veterinários e outros profissionais (Ruegg, 2012; Zadoks, 2009). Tanto a motivação, bem como a formação técnica são essenciais, para além dos conhecimentos e das boas práticas.

Os resultados referentes aos agentes de mastite mais frequentes confirmam os estudos já publicados no tema. Os agentes ambientais têm prevalecido sobre os contagiosos e os programas de controlo, não têm sido totalmente eficazes (Pyörälä, 2002). As bactérias como *Streptococcus* spp, tornaram-se um desafio (Tenhagen et al, 2006) e o resultado deste estudo é coincidente com esta afirmação, pois a prevalência de *Strep. uberis* foi quase sempre a mais elevada (em 2016, foi *Staph. aureus*). Os agentes predominantes na amostra são os do género *Streptococcus* e *Staphylococcus*, podem ser isolados de casos de mastite subclínica ou crónica (Zadoks, 2009).

Logo, para progredir no controlo dos agentes etiológicos, têm de se reforçar as medidas preventivas e continuar o trabalho que está a ser desenvolvido na redução dos casos de mastite. Não esquecer, que cada exploração tem os seus problemas específicos (com a persistência de um agente em particular) e as soluções para os vencer, devem ser adaptadas às circunstâncias.

4.3) Caracterização das explorações

Não só no que diz respeito às frequências observadas pelas questões dos inquéritos, mas também pelos resultados adquiridos através da construção de tabelas de contingência, para análise entre variáveis, foi permitido caracterizar as explorações. Os inquéritos forneceram informação relativa às principais práticas de manejo das explorações do EDM, embora numa pequena amostra, também foi possível identificar através dessas práticas, fatores de risco para a ocorrência de mastites. Permitiu ainda, que se agrupassem as explorações em categorias de interesse, mediante as frequências observadas, para posterior análise estatística.

Pelas tabelas de contingência, pôde-se fazer uma análise de associação, ainda que simples, entre determinadas características da amostra e os índices epidemiológicos de mastites. Não foi possível realizar uma análise estatística mais complexa, devido ao pequeno tamanho da amostra, mas este facto será tido em conta para uma aplicação futura deste programa de análise de CCS, pelo CL.

4.3.1) Práticas de manejo e fatores de risco

A necessidade de realizar inquéritos aos produtores das explorações na amostra, esteve relacionada com o facto de recolher informação de forma fácil e num curto espaço de tempo, sobre as metodologias aplicadas nas explorações para prevenção de mastites e claro,

para conhecimento do manejo geral, inclusivamente da caracterização do efetivo e também do regime laboral.

Em 65% das explorações da amostra trabalhavam outras pessoas, para além dos familiares dos seus proprietários. Isto é explicado pela necessidade de ter mais trabalhadores para divisão de tarefas, à medida que aumenta a dimensão da exploração. Muitas das explorações da região encontram-se em fase de crescimento e por si só já possuem efetivos significativamente grandes, com mais de 100 animais. Não seria incompreensível, que a equipa de trabalho de determinadas explorações seja futuramente “não familiar”, pelo facto já explicado do aumento dos efetivos e expansão das instalações. Contudo, algumas famílias ainda estão encarregues de explorações leiteiras, sendo estas de dimensão mais pequena (25% das explorações) e que com o estado atual do mercado nacional, ou optarão por crescer ou mesmo por deixar a atividade.

Quanto às instalações, todas as explorações utilizavam cubículos como sistema de alojamento para as vacas, incluindo as vacas secas, separadas das lactantes. Este tipo de alojamento permite o movimento livre das vacas pelo estábulo e pela sua disposição e com a existência de corredores, poupa trabalho aos funcionários e permite a entrada e o funcionamento de máquinas. No entanto, é de lembrar que só é possível tirar partido deste sistema, se este for adequado em dimensão (medidas adequadas ao tamanho da vaca) e disposição (local no estábulo), promovendo o bem-estar animal.

Os materiais predominantemente utilizados para revestimento de camas foram o serrim, o carbonato de cálcio e até a mistura entre ambos. A escolha do material para as camas depende essencialmente do seu preço, disponibilidade, facilidade de utilização e preferência do produtor. Os materiais inorgânicos como a areia, são a melhor opção, mas nenhuma exploração do estudo a utilizava, talvez pelas desvantagens que apresenta em termos ambientais (depósito nas fossas e gestão de efluentes mais rigorosa). A maior parte das camas em tapete (85%) e de material inorgânico, tornam necessária uma maior manutenção e limpeza dos cubículos. Esta, em 90% das explorações era feita diariamente.

Na limpeza dos corredores, apenas em duas explorações a mesma não foi feita mais do que uma vez por dia, muito provavelmente pela falta de sistema automáticos de limpeza (rodo) e pela existência de vigas no pavimento. É sabido que uma maior conspurcação de toda a área envolvente do estábulo sejam as camas dos animais e corredores, contribui para o aparecimento de mastite.

Nem todas as explorações possuíam um programa de controlo de mastites (65%) ou protocolos terapêuticos (15%). No caso dos protocolos terapêuticos, numa das explorações inquiridas, era o proprietário que o definia, mas este deve ser orientado por um médico veterinário.

Na biossegurança verificou-se que só uma das explorações vacinava para prevenir a mastite, muito provavelmente como medida de controlo adicional e prevenção de infeções, em especial por agentes contagiosos (*Staph. aureus*), apesar de esta não ser a única solução para diminuir a prevalência da doença (Ruegg, 2005). A manutenção de um rebanho fechado ou, no

mínimo, aderir a protocolos de biossegurança claramente definidos é fundamental para reduzir o risco de reintrodução de *Streptococcus agalactiae* ou o aparecimento de *Staph. aureus* (Keefe, 2012). Todas as explorações utilizavam a sua recria para repor o seu efetivo, o que representa uma boa medida para controlo de mastites.

As boas práticas de ordenha são cruciais para a prevenção de mastites e no inquérito destacaram-se alguns pontos relativos ao equipamento e rotina da mesma, que são potenciais fatores de risco para o aparecimento da doença. Em primeiro lugar, 10% das explorações possuíam *robot* de ordenha. Este sistema pode ser preferível em determinadas explorações, pois requer menos mão-de-obra e as vacas são ordenhadas mais do que as tradicionais duas vezes ao dia (resultando num maior rendimento na produção e qualidade de leite). No entanto, este sistema pode ser de difícil adaptação para as vacas, uma vez que a ordenha é voluntária e os intervalos de ordenha são mais irregulares. Como não há ordenhador, não há observação direta das alterações do úbere e do próprio leite. A utilização de *robot*, não permite a separação entre quartos infetados e não infetados e os sistemas de lavagem e desinfeção de tetinas, não diferem consoante a higiene da vaca (Klungel *et al*, 2000). Num estudo efetuado por Klungel *et al* (2000), confirmou-se que a utilização de *robot*, diminui a qualidade de leite e embora a CCS não aumente de forma significativa, é maior do que em explorações que utilizam sistemas de ordenha convencionais.

Apenas uma exploração não efetuava a secagem dos tetos, antes de acoplar as tetinas. As restantes que secavam, utilizavam papel de forma individual. Segundo Keefe (2012), o pano é o melhor material para limpar os tetos, desde que se assegure a sua lavagem e desinfeção, de vaca para vaca. A utilização do papel de forma individual, não deixa de ser positiva, mas o material é relativamente caro e um bom custo-benefício, pode justificar o seu uso. O uso de água para lavagem, como aconteceu numa das explorações, não é recomendado devido ao excesso de humidade que aumenta o risco de contaminação e reduz a aderência das tetinas. Por esta razão, também se devem secar os tetos.

Todas as explorações utilizavam o *pós-dipping*, mas nem todas o *pré-dipping* (apenas 65%), sendo este importante para a prevenção de mastites ambientais. A verificação anual e manutenção da máquina de ordenha (praticada em 70% das explorações), o uso de luvas durante a ordenha (em 70% das explorações), o uso de retiradores automáticos (em 35% das explorações) e o uso de *pós-dipping* (na totalidade das explorações), são os fatores que mais influenciam a CCS (Keefe, 2012). Na totalidade das explorações, os animais tinham comida disponível na manjedoura imediatamente após ordenha, o que estimula a sua permanência em estação, evitando a entrada de microrganismos pelo canal do teto.

No tratamento de animais com mastite, 20% dos produtores não tem qualquer sistema de registo dos animais que se encontravam infetados. Apenas com registos confiáveis se podem identificar problemas e planear decisões adequadas. Quanto à ordenha, ainda existiram explorações que não efetuavam separação dos animais doentes e tal representa um fator de risco para o aumento de CCS e incidência de mastite. Ruegg (2015) aconselha a separar as

vacas por lotes de CCS e as que possuem este indicador mais alto, são as últimas a serem ordenhadas.

A terapia da vaca seca com tratamento antibiótico no final da lactação, é usada de forma a prevenir NI e eliminar IIM no PS. Quase todas as explorações (90%) utilizavam antibiótico e selante (85%) na secagem, mas apenas 30% realizavam secagem seletiva. Devido ao uso indiscriminado de antibióticos e ao aumento das resistências bacterianas, tem-se adotado uma terapia seletiva, que consiste na aplicação do tratamento apenas em algumas vacas ou quartos, baseada na cultura bacteriológica e na CCS. A utilização de um produto seletivo para cada vaca está relacionada com uma redução na taxa de NI de 80%, em comparação com vacas não tratadas (Berry e Hillerton, 2002).

Finalmente foi feita uma questão relativa à taxa de refugo. As explorações da amostra tinham cerca de 30% de taxa de refugo estabelecida e não se recorria habitualmente, a alterações deste valor. Porém, devido aos contratos de produção de leite e a todas as mudanças que daí resultaram, para cumprir contratos 70% dos produtores refugaram mais animais do que o devido por limitações de produção exigidas; 10% diminuíram a sua taxa de refugo por não conseguirem efetivamente cumprir as quantidades de leite mensais, exigidas pela entidade recolhedora; e 20% não fizeram qualquer alteração à sua taxa de refugo, por se demonstrar apropriada, mesmo com as implicações dos contratos.

4.3.2) Associação entre variáveis

Apesar da pequena dimensão da amostra, foi testada a hipótese de existirem diferenças significativas entre variáveis. Concluiu-se que não existe associação entre os índices epidemiológicos estudados (vacas saudáveis, risco de NI e taxa de cura) e as explorações, classificadas consoante o tamanho do efetivo (grande ou pequeno) e processo de ordenha (completa ou incompleta).

5. Conclusão

A produção leiteira atual é cada vez mais encarada como uma atividade profissional de grande cariz económico e empresarial. O consumidor final é mais exigente, a preocupação com o bem-estar animal crescente e as limitações súbitas impostas pelas cooperativas leiteiras são uma realidade alarmante, pois obrigam os produtores a mudanças constantes e por vezes inesperadas, no maneo e gestão da sua exploração.

As mastites e a sua prevenção, continuam a representar um dos grandes desafios nas explorações leiteiras modernas, não fossem elas o principal motivo de perdas económicas e, com influência direta na vida produtiva e reprodutiva da vaca. Adotar uma visão focada na Medicina da Produção é um ponto fulcral para ultrapassar as falhas existentes e promover um maior rendimento económico para a exploração.

A produção de leite de alta qualidade é um requisito para sustentar uma indústria leiteira que efetivamente seja lucrativa e os valores de CCS devem ser utilizados por rotina

para identificar as mastites subclínicas e definir padrões de qualidade. Definir um limite de CCS para a exploração, com o menor erro de diagnóstico (200 000 céls/ml como sugere a literatura), é um dos primeiros objetivos a ter em conta.

Cada exploração é única e tem os seus problemas particulares e isso é bem evidente nesta região do país, por isso, devem estabelecer-se objetivos concretos. Neste caso específico, há que criar um ponto de partida para combater as mastites e esse reside no facto de fazer uma análise dos padrões epidemiológicos na exploração. Só assim, o veterinário poderá trabalhar em conjunto com o produtor, que deve estar consciencializado para a temática das mastites e para os problemas que delas advêm.

Com este estudo concluiu-se que o contraste leiteiro, é uma ferramenta com enorme utilidade para análise da epidemiologia das mastites e que com um programa adequado e informativo como o utilizado neste trabalho, a monitorização da CCS torna-se mais fácil. Apesar do contraste leiteiro ser um excelente método de registo, é de lamentar que nem todas as explorações do EDM, optem por este serviço e claro que, este não substitui os registos que o produtor faz diariamente pela observação atenta dos seus animais.

O ano de 2016 foi um ano atípico relativamente à ocorrência de mastites, sobretudo devido aos ajustes realizados na produção leiteira, exigidas pelos contratos das empresas que recolhem o leite na região. Mesmo com as variações sazonais esperadas, o último trimestre do ano destacou-se como um período crítico no que respeita à ocorrência de mastites, o que agravou a problemática da doença na amostra em estudo. Os índices epidemiológicos foram influenciados pela CCS e esta pelos contratos e pelas alterações exigidas ao produtor.

Porém, a amostra em estudo apresenta bons índices epidemiológicos para mastites subclínicas e há margem para melhorias com a intensificação de programas de controlo de mastites e implementação de boas práticas que promovam a saúde do úbere, para uma melhor qualidade do leite.

Crê-se que para minimizar o impacto económico das mastites, a aposta seja a anulação de todos os seus factores de risco inerentes à doença e isso só pode ser possível através de muito trabalho focado na prevenção.

O Médico Veterinário deverá ter um papel cada vez mais ativo na gestão exploração e também na motivação do produtor, num setor cada vez mais competitivo e exigente.

Bibliografia

Akers, R. M. (2002). "Lactation and the Mammary Gland". Iowa: Iowa State Press, 978-0-8138-2992-0, pp. 120.

Akers, R. M. e Nickerson C. S. (2011). "Mastitis and Its Impact on Structure and Function in the Ruminant Mammary Gland." *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16 (4): 275–89.

Anderson, K.L.; Correa M.T.; Allen, A. e Rodriguez R.R. (2010). "Fresh cow mastitis monitoring on day 3 postpartum and its relationship to subsequent milk production". *Journal of Dairy Science*, 93: 5673–5683.

Barkema, H. W.; Deluyker, H. A.; Schukken, Y. H. e Lam, T. J. (1999). "Quarter-milk somatic cell count at calving and at the first six milkings after calving". *Preventive Veterinary Medicine*, 38: 1-9.

Barkema, H. W.; Schukken, Y. H.; Lam, T. J.; Beiboer, M. L.; Wilmink, H.; Benedictus, G. e Brand, A. (1998b). "Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts". *Journal of Dairy Science*, 81(2): 411–419.

Barkema, H.; W., Schukken, Y. H.; Lam, T. J.; Beiboer, M. L.; Wilmink, H.; Benedictus, G. e Brand, A. (1998a). "Management Practices Associated with Low, Medium, and High Somatic Cell Counts in Bulk Milk". *Journal of Dairy Science*, 81: 1917–1927.

Batra, T. R. (1986). "Relationship of somatic cell concentration with milk yield in dairy cows". *Canadian Journal of Animal Science*. 66: 607 - 614.

Berry E. A. e Hillerton J. E. (2002). "The Effect of Selective Dry Cow Treatment on New Intramammary Infections". *Journal of Dairy Science*, 85: 112–121.

Bexiga, R.; Cavaco, L.M. e Vilela, C.L. (2005). "Mastites Subclínicas Bovinas na zona do Ribatejo-Oeste". *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100: 39–44.

Blowey, R. e Edmonson, P. (2010). *Mastitis Control in Dairy Herds* (2nd edition). Wallingford, UK: CAB international, pp. 37, pp. 62-65, pp.126, pp.155.

Bogni, C.; Odierno, L.; Raspanti, C.; Giraud, J.; Larriestra, A.; Reinoso, E.; Lasagno, M.; Ferrari, M.; Ducrós, E.; Frigerio, C.; Bettera, S.; Pellegrino, M.; Frola, I.; Dieser, S. e Vissio, C. (2010). "War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens" *in* Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances, Mendez-Vilas, pp. 483 - 494.

Bradley, A. J. (2002). "Bovine Mastitis: An Evolving Disease." *The Veterinary Journal*, 163: 1-13.

Bradley, A. J.; Breen, J.; e Green, M. (2007). "Mastitis pattern analysis - a fresh look at the analysis of bovine mastitis: Part I - somatic cell count data" *in* UK Vet Livestock 12 (7): 1-5.

Bradley, A. J. e Green M. (2005)." Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows". *Farm Animal Practice*, 27: 310-315.

Breen, J. (2016). "Contagious mastitis part 2: control. UK Vet Livestock 21(5): 278-283.

Breen, J. E.; Green, M. J. e Bradley, A. J. (2009). "Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom". *Journal of Dairy Science*, 92: 2551-2561.

Busato, A.; Trachsel, P.; Schällibaum, M. e Blum, J. W. (2000). "Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland". *Preventive Veterinary Medicine*, 44: 205-220.

Carrillo-Casas E.M. e Miranda-Morales R. S. (2012). "Bovine Mastitis Pathogens: Prevalence and Effects on Somatic Cell Count" em *Milk Production - An Up-to-Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health*, 17: 359 -373.

Coentrão, C.M.; Souza, G.M.; Brito, J.R.F.; Paiva e Brito, M.A.V. e Lilenbaum, W. (2008). "Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras". *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(2): 283-288.

Contreras G. A e Rodríguez J. M (2011). "Mastitis: Comparative Etiology and Epidemiology". *Journal of the Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16: 339–356.

Cook, N.B.; Bennett, T.B.; Emery K.M. e Nordlund, K.V. (2002). "Monitoring Nonlactating Cow Intramammary Infection: Dynamics Using DHI Somatic Cell Count Data." *Journal of Dairy Science*, 85 (5): 1119–1126.

Costa, E.O (1998). Importância da mastite na produção leiteira do país. Revista de Educação Continuada do CRMV-SP(São Paulo).,Capítulo I, Volume I, pp 3-9.

De Vliegher, S., Fox L. K., Piepers S., McDougall S. e Barkema H. W. (2012). " Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control". Journal of Dairy Science, 95: 1025–1040.

Deluyker, H. A, Van Oye S.N e Boucher J.F. "Factors Affecting Cure and Somatic Cell Count After Pirlimycin Treatment of Subclinical Mastitis in Lactating Cows". Journal of Dairy Science, 88: 604–614.

Dingwell, R. T.; Leslie, K. E.; Schukken, Y. H.; Sargeant, J. M.; Timms, L. L. e Duffield, T. F. (2004). "Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period". Preventive Veterinary Medicine, 63: 75–89.

Degen, S.; Paduch, J.; Hoedemaker, M. e Krömker, V. (2015). "Factors affecting the probability of bacteriological cure of bovine mastitis". Tierärztliche Praxis Großtiere, 43(9): 1–5.

Dairy Herd Improvement Association (n.d). "SCC user Guide". in http://www.agromedia.ca/ADM_Articles, acedido em 24 de julho de 2017.

Dohoo I. R. e Leslie K.E. (1991). "Evaluation of changes in somatic cell counts as indicator of new intramammary infections". Preventive Veterinary Medicine, 10: 225-237.

Down, P.M.; Bradley, A.J.; Breen, J.E.; Hudson, C.D. e Green M.J. (2016). "Current management practices and interventions prioritised as part of a nationwide mastitis control plan". Veterinary Record, doi: 10.1136/vr.103203.

Elbers, A. R.; Miltenburg, J. D.; De Lange, D.; Crauwels, A. P.; Barkema, H. W. e Schukken, Y. H. (1998). "Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of The Netherlands". Journal of Dairy Science, 81(2): 420–426.

Fetrow, J.; Anderson, K. e Sexton, S. (1987). "Herd Composite Somatic Cell Counts: Average Linear Score and Weighted Average Somatic Cell Count Score and Milk Production". Journal of Dairy Science, 71: 257-260.

Fox. L. (2013). "Can Milk Somatic Cell Count get too low? A question to be revisited." in National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, pp 55-63.

Green, M. J.; Bradley, A. J.; Medley, G. F. e Browne, W. J. (2007). "Cow, farm, and management factors during the dry period that determine the rate of clinical mastitis after calving". *Journal of Dairy Science*, 90: 3764-3776.

Green, M.J.; Green, L.E; Medley, G. F.; Schukken, Y. H. e Bradley. A.J. (2002). " Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows". *Journal of Dairy Science*, 85: 2589–2599.

Halasa, T.; Huijps, K.; Osterås, O. e Hogeveen, H. (2007). "Economic Effects of Bovine Mastitis and Mastitis Management: A Review." *Veterinary Quarterly*, 29 (1): 18-31.

Halasa, T.; Nielen, M.; De Roos, A.P.W.; Van Hoorne, R.; de Jong, G.; Lam, T. J. G. M.; van Werven, T. e Hogeveen, H. (2009). "Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model". *Journal of Dairy Science*, 92: 599–606.

Harmon, R J. (1994). "Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts." *Journal of Dairy Science*, 77 (7): 2103–12.

Henderson, A.C.; Hudson, C.D.; Bradley, A. J.; Sherwin, V.E. e Green M. J, (2016). "Prediction of intramammary infection status across the dry period from lifetime cow records". *Journal of Dairy Science*, 99: 1–10.

Hogan J. e Smith K.L. (2012). "Managing Environmental Mastitis". *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 28: 217–224.

Hogeveen H. (2005). "Mastitis is an Economic Problem" *in* Proceedings of the British Mastitis Conference, Stoneleigh, pp. 1-13.

Hortet P. e Seegers H. (1998). "Calculated milk production losses associated with elevated somatic cell counts in dairy cows: review and critical discussion". *Veterinary Research, BioMed Central*, 29(6): 497-510.

International Dairy Federation (1987). "Machine milking factors affecting mastitis - a literature review" em *International Dairy Federation Bulletin* 215, Machine Milking and Mastitis, pp. 2-32.

Instituto Nacional de Estatística (2016). "Estatísticas da Produção e Consumo de Leite, 2015". Lisboa.

Keefe, G. (2012). "Update on Control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for Management of Mastitis". *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 28(2): 203–216.

Krawczel, P. e Grant, R. (2009). "Effects of cow comfort on milk quality, productivity and behavior" *in* the National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, pp 15-24.

Lam, T.J.G.M.; Riekerink, Olde R.G.M.; Sampimon, O.C e Smith, H. (2009). "Mastitis diagnostics and performance monitoring: a practical approach". *Irish Veterinary Journal*, 62: 34-39.

Lukas, J. M.; Hawkins, D.M.; Kinsel, M. L. e Reneau, J.K. (2005). "Bulk Tank Somatic Cell Counts Analyzed by Statistical Process Control Tools to Identify and Monitor Subclinical Mastitis Incidence". *Journal of Dairy Science*, 88: 3944–3952.

Lundberg, A. (2015). "Mastitis in dairy cows. Genotypes, Spread, and Infection Outcome of 3hree Important Udder Pathogens". Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, pp. 12-22.

Madouasse, A. (2009). "An Evaluation of Milk Recording, Somatic Cell Counts and Reproductive Performance in a Large Cohort of Dairy Herds in England and Wales". Doctoral Thesis. The University of Nottingham, pp. 11-14.

Madouasse, A.; Browne, W. J.; Huxley, J. N.; Toni, F.; Bradley, A. J. e Green, M. J (2012). "Risk factors for a high somatic cell count at the first milk recording in a large sample of UK dairy herds". *Journal of Dairy Science*, 95 :1873–1884.

Mein, G. A. (2012). "The Role of the Milking Machine in Mastitis Control". *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 28: 307–320.

Mein, G. A.; Reinemann, D.; Schuring, N. e Ohnstad, I. (2004). "Milking Machines And Mastitis Risk: A Storm In A Teatcup" *in* National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, pp 176-188.

Mellenberger, R. (2001). "California Mastitis Test (CMT): An Invaluable Tool for Managing Mastitis Department of Animal Sciences". Michigan State University, pp. 9.

National Mastitis Council (2007a). "A Practical Look at Contagious Mastitis and Dry Cow Therapy" Schering-Plough Animal Health Corporation, USA, pp. 2-12.

National Mastitis Council (1996). "Current Concepts of Bovine Mastitis" *in* <http://www.nmconline.org/glossary.html>, acessado em 6 de junho de 2017.

National Mastitis Council (2007b). "Ten point Mastitis Control Program" *in* <http://www.nmconline.org/glossary.html>, acessado em 6 de junho de 2017.

Nielsen, Christel. (2009). "Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows". Doctoral Thesis. Swedish University of Agriculture Sciences, pp. 13-15.

O'Rourke D. (2009). "Nutrition and udder health in dairy cows: a review". Irish Veterinary Journal, 62: 15-20.

Østerås, O. (2006). "Mastitis Epidemiology: practical approaches and applications" *in* World Buiatrics Congress, Nice, France.

Pantoja, J. C.; Hlland. C. e Ruegg, P. L. (2009). "Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation". Journal of Dairy Science, 92: 139-148.

Peeler, E. J.; Green, M. J.; Fitzpatrick, J. L.; Morgan, K. L. e Green, L. E. (2000). "Risk Factors associated with Clinical Mastitis in Low Somatic Cell Count British Dairy Herds". Journal of Dairy Science, 83: 2464–2472.

Penev, T.; Gergovska, Z; Marinov, I.; Kirov, V.; Stankov, K.; Mitev, Y. e Miteva, C. (2014). "Effect of season, lactation period and number of lactation on mastitis incidence and milk yields in dairy cows". Agricultural Science and Technology, 6(2): 231 - 238.

Petrovski, K. R.; Trajcev, M. e Buneski, G. (2006). "A Review of the Factors Affecting the Costs of Bovine Mastitis." Journal of the South African Veterinary Association, 77 (2): 52–60.

Pfeiffer, D.U. (2009). "Introduction to Veterinary Epidemiology". University of London, UK, pp. 33-37.

Pieper, J.; Hoedemaker, M. e Krömker, V. (2013). "Significance of the dry period for the development and prevention of new infections of the bovine mammary gland". *Tierarztl Prax Ausg Grosstiere Nutztiere*, 41(5): 315-24.

Plozza, K. J. J.; Lievaart, G. P. e Barkema, H. W. (2011). "Subclinical Mastitis and Associated Risk Factors on Dairy Farms in New South Wales." *Australian Veterinary Journal*, 89 (1–2): 41–46.

Portaria nº1066/91 de 22 de outubro. Diário da República nº243/1991 –Série1-B. Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação. Lisboa.

Pyörälä, S. (2003). "Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis". *Veterinary Research*, 34(5): 565–578.

Pyörälä, S. (2008). "Mastitis in Post-Partum Dairy Cows." *Reproduction in Domestic Animals*. 43: 252–59.

Pyörälä, S. (2002). "New strategies to prevent mastitis". *Reproduction in Domestic Animals*, 37(4): 211–216.

Querengãsser, J.; Geishauser, T. K.; Querengãsser, K.; Fehlings, K. e Bruckmaier, R. (2002). "Investigations of Milk Quality from Teats with Milk Flow Disorders". *Journal of Dairy Science* 85: 2582–2588.

Radostits, O.M; Gay, C.C; Hinchcliff, K.W e Constable, P.D (2007). *Veterinary medicine, a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. (10th edition), Saunders Elsevier, EUA, ISBN – 13: 978-0702027772.

Rasmussen, M. D. e Reinemann, D. J. (2010). "Milk Management" *in* <http://milkquality.wisc.edu/> acessado em 21 de julho de 2017.

Reneau, J. (1986). "Effective Use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in Mastitis Control". *Journal of Dairy Science*, 69: 1708-1720.

Riekerink O. R.G.M.; Barkema, H.W. e Stryhn, W. (2007). "The Effect of Season on Somatic Cell Count and the Incidence of Clinical Mastitis". *Journal of Dairy Science*, 90: 1704–1715.

Ruegg P L. (2005). "Evaluating the Effectiveness of Mastitis Vaccines". *Resources Milk Money* 3: 21-28.

Ruegg, P.L. (2003). "Investigation of mastitis problems on farms". *The Veterinary Clinics Food Animal Practice*, 19: 47-73.

Ruegg P L. (n.d). "Managing the Dry Period for Milk Quality". University of Wisconsin-Madison *in* <http://milkquality.wisc.edu/> acedido em 27 de maio de 2017.

Ruegg P L. (2002). "Milk Quality and Mastitis Tests". University of Wisconsin-Madison *in* <http://milkquality.wisc.edu/> acedido em 27 de maio de 2017.

Ruegg P L. (2014). "Monitoring Milk Quality, Milking Management and Udder Health". University of Wisconsin-Madison *in* <http://milkquality.wisc.edu/> acedido em 27 de maio de 2017.

Ruegg P L. (2012). "New Perspectives in Udder Health Management". *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 28:149–163.

Ruegg, P. L., Rasmussen, M. D. e Reinemann, D. J. (2005). "The Seven Habits of Highly Successful Milking Routines". *Resources Milk Money*, 3: 61-69.

Ruegg, P. L e Pantoja, J.C.F. (2013). "Understanding and Using Somatic Cell Counts to Improve Milk Quality." *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 52(2): 101–117.

Regulamento (CE) nº 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*, L139, Anexo I.

Santman-Berends, I.G.M.A.; Swinkels, J.M.; Lam, T.G.J.M; Keurentjes, J. e Schaik, van G. (2015). "Evaluation of udder health parameters and risk factors for clinical mastitis in Dutch dairy herds in the context of a restricted antimicrobial usage policy". *Journal of Dairy Science*. 99: 2930–2939.

Sawa, A.; Bogucki, M. e Neja, W. (2012). "Dry period length and performance of cows in the subsequent production cycle". *Archive Tierzucht*, 55 (2) 140-147.

Schreiner, D.A e Ruegg, P.L (2003). "Relationship Between Udder and Leg Hygiene Scores and Subclinical Mastitis". *Journal of Dairy Science* 86: 3460–3465.

Schroeder, J.W (2012). "Mastitis Control Programs: Bovine Mastitis and Milk Management". North Dakota State University *in* <https://www.ag.ndsu.edu/> acedido em 20 de julho de 2017.

Schukken, Y.; Wilson, D.; Welcome, F.; Garrison-Tikofsky, L. e Gonzalez, R. (2003). "Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts". *Veterinary Research*, BioMed Central, 34 (5): 579-596.

Schukken, Y. H., Grommers, F. J.; van de Geer, D.; Erb, H. N. e Brand, A. (1990). "Risk Factors for Clinical Mastitis In Herds with a Low Bulk Milk Somatic cell Count. 1. Data and Risk Factors for All Cases". *Journal of Dairy Science* ,73: 3461-3471

Schukken, Y. H.; Grommers, F. J.; van de Geer, D.; Erb, H. N. e Brand, A. (1990). "Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*". *Journal of Dairy Science*, 74: 826-832.

Seegers, H. e Fourichon, C, (2003). "Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds". *Veterinary Journal*, 34(1): 475–491.

Sharma, N.; Singh, N.K.; e Bhadwal. M.S. (2011). "Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview". *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 24(3): 429 - 438.

Serrenho, R. T. (2015). "Caracterização da qualidade de leite e comparação do impacto económico das mastites em três bacias leiteiras em Portugal- Ilha de São Miguel, Açores, Entre-Douro-e-Minho e região Centro". Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, pp. 74.

Sordillo, L. M. (2009). "Current Concepts on Immunity and Mastitis." *WCDS Advances in Dairy Technology*, 21: 111–119.

Stevenson, M. (2008). "An Introduction to Veterinary Epidemiology". Doctoral Thesis. Massey University, pp. 12-15.

Sutra, L. e Poutrel, B. (1994). Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology*. Volume 40: 79-89.

Tenhagen, B. A.; Ko" ster ,G.; Wallmann, J. e Heuwieser W. (2006). "Prevalence of Mastitis Pathogens and their Resistance Against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Brandenburg, Germany". *Journal of Dairy Science*, 89: 2542–2551.

Thrusfield, M. (2007). "Veterinary Epidemiology" (3rd edition). Blackwell Science, Cambridge, UK. 978-1-4051-5627-1, pp. 21.

Timms, L.L. (2004). "Milk quality programs for transition cows and heifers". *Advances in Dairy Technology, Western Canadian Dairy Symposium*, 16: 77.

Van Almelo, J. V. e Tikofsky, L. (2008). "Chronic mastitis: Use all tools for a healthier herd". *Northeast Dairy Business*, pp. 5-6.

Watts, J. (1988). "Etiological Agents of Bovine Mastitis". *Veterinary Microbiology*, 16: 41-66.

West, J. K. (2003). "Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle". *Journal of Dairy Science* 86: 2131–2144.

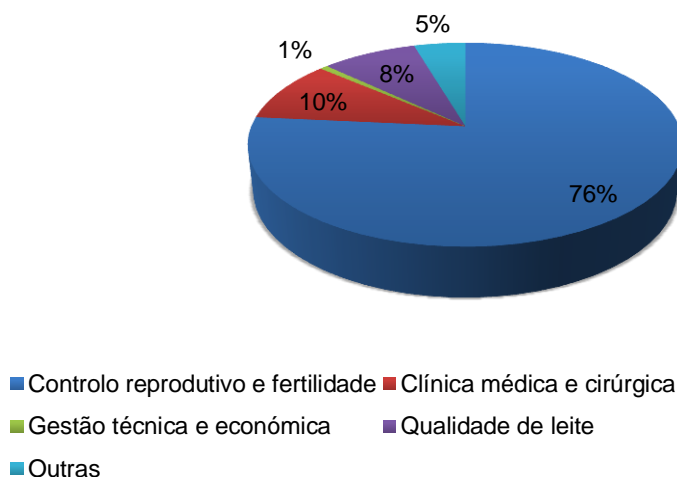
Zadoks, R. (2009). "Changing trends in mastitis". *Irish Veterinary Journal* 62: 59-70.

Zadoks, R.; Allore, H. G.; Barkema, H. W., Sampimon, O. C.; Wellenberg, G. J.; Grohn, Y. T.; e Schukken, Y. H. (2001). "Cow- and Quarter-Level Risk Factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* Mastitis". *Journal of Dairy Science*, 84: 2649–2663.

Anexo I – Casuística durante o estágio curricular

O número total de atividades realizadas nas diferentes áreas durante os quatro meses de estágio, foi de 2876 e encontra-se representado em forma de gráfico. Os dados são apresentados em frequência relativa (Fr), sob a forma de valores percentuais.

Casuística por áreas de intervenção



Representação gráfica da casuística, por áreas de intervenção (Fr, n=2876).

Destaca-se, através do gráfico, que o trabalho desenvolvido durante o estágio foi maioritariamente no âmbito do controlo reprodutivo e fertilidade. Este facto acaba por não ser surpreendente, uma vez que na medicina de bovinos leiteiros, com vista a obter uma melhor eficiência reprodutiva, esta área é fulcral e um constante desafio para a viabilidade das explorações. Como tal, o acompanhamento constante das explorações, feito pelo médico veterinário neste tipo de serviço, permite não só identificar os problemas que afetam o desempenho reprodutivo dos animais, mas também minimizar os seus efeitos e encontrar soluções que os previnam.

Casos clínicos durante o período de estágio, em frequência absoluta (Fa) e em frequência relativa (Fr).

Sistema reprodutivo		
Caso clínico	Fa	Fr
Aborto	2	0,71%
Cesariana	1	0,35%
Laceração vulvar pós-parto (vulvoplastia)	2	0,71%
Metrite puerperal	42	14,89%
Parto distócico	13	4,61%
Prolapso uterino	1	0,35%
Retenção de membranas fetais	5	1,77%
Torção uterina	16	5,67%
Total reprodutivo	82	29%
Sistema digestivo		
Caso clínico	Fa	Fr
Clostridiose	4	1%
DAD com torção (omentopexia paralombar direita)	2	1%
DAE (omentopexia paralombar direita)	61	22%
Diarreia neonatal	4	1%
Enterite	3	1%
Indigestão vaginal	3	1%
Indigestão com atonia ruminal	24	9%
Úlcera abomasal em vitelo	2	1%
Total digestivo	103	37%
Sistema metabólico		
Caso clínico	Fa	Fr
Cetose	27	10%
Hipocalcemia	6	2%
Total metabólico	33	12%
Sistema respiratório e cardiovascular		
Caso Clínico	Fa	Fr
Pneumonia em vitelo	2	1%
Pneumonia em vacas adultas	38	13%
Reticulopericardite traumática	6	2%
Total respiratório e cardiovascular	46	16%

Glândula mamária		
Caso Clínico	Fa	Fr
Desobstrução do canal do teto	4	1%
Mastite clínica	4	1%
Total glândula mamária	8	3%
Sistema locomotor		
Caso clínico	Fa	Fr
Fratura do carpo em vitela	1	0,35%
Fratura do metatarso	1	0,35%
Fratura na secção lombar da coluna vertebral	1	0,35%
Luxação coxofemoral	1	0,35%
Luxação interfalângica proximal em vitela	1	0,35%
Total locomotor	5	1,77%
Outros casos		
Caso clínico	Fa	Fr
Actinobacilose	1	0,35%
Laparotomia exploratória com laparoscópio experimental	1	0,35%
Peritonite	3	1,06%
Sinusite do seio frontal	1	0,35%
Total outros casos	6	2,13%
Total	283	100%

Anexo II – Inquérito base realizado aos produtores



UNIVERSIDADE
DE ÉVORA

Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária
Universidade de Évora – Escola de Ciências e Tecnologia

A utilização do contraste leiteiro como ferramenta de análise de mastites subclínicas em explorações Entre Douro e Minho

Exploração:	Data:
Localização:	Contacto:

1. Tipo de exploração e equipa de trabalho

1.1) Familiar ____	Familiar com funcionários ____	Não Familiar ____
1.2) Número de Funcionários ____	1.3) Divisão de Tarefas Sim ____ Não ____	

2. Caracterização do efectivo

2.1) Nº animais ____	2.2) Raça: _____
2.1.1) Lactação ____	Secas ____

3. Instalações

3.1) Tipo: Coleiras (Tie stall) ____ Pastoreio ____	Cubículos ____ Parque de exercício ____ (Piso ____)	Estabulação livre ____
3.2) Vacas secas: (tipo: _____)	Com as vacas em ordenha ____	Separadas ____
3.3) Cubículos: 3.3.1) Piso: Cimento ____ Tapetes ____ Outro ____	3.3.2) Manutenção/Limpeza: Diária ____ Semanal ____ >1x/semana ____ Superior a 1 semana ____	3.3.3) Material das camas: Serrim ____ Palha ____ Areia ____ Carbonato de cálcio ____ Nenhum ____ Outro ____
3.4) Limpeza dos corredores: <1x/dia ____ 1x/dia ____ >1x/dia ____		
3.5) Separação de populações (estábulos diferentes): Vitelos ____ Novilhas ____ Vacas em lactação ____ Vacas secas ____ Enfermaria ____ Maternidade ____ Sem separação ____		

4. Assistência veterinária

4.1) Programa de controlo de mastites Sim___ Não___

4.2) Protocolos Terapêuticos Sim___ Definidos pelo veterinário___ Definidos pelo proprietário___
Não___

5. Biossegurança

5.1) Vacinação contra mastites Sim___ Não___

5.2) Compra de animais para reposição Sim___ Não___

5.2.1) Tipo de reposição Vacas___ Novilhas___

5.2.2) Origem da reposição Nacional___ Estrangeiro___

5.2.3) Análise quanto à saúde do úbere Sim___ Não___

6. Equipamento e rotina de ordenha

6.1) Tipo de ordenha

6.1.1) Simples___ Dupla___

6.1.2) Swing___ Tandem___ Espinha___ Circular___ Paralela___ Robot___

6.2) Número de unidades___ 6.3) Retiradores Automáticos Sim___ Não___

6.4) Desinfecção da máquina de ordenha Manual___ Automática___ 6.5) Manutenção da máquina de ordenha Anual___ Bianual___ Superior a 1 ano___

6.6) Divisão de tarefas Sim___ Não___ 6.7) Desperdício dos primeiros jactos Sim___ Não___

6.8) Uso de luvas Sim___ Não___ 6.9) Desinfecção das unidade de ordenha Sim___ Não___

6.10) Lavagem com água Sim___ Não___ Tetos___ Úbere___

6.11) Secagem de tetos: Individual___ Colectiva___ 6.12) Material de secagem Papel___ Toalha___ Outro___ Não seca___

6.13) *Pre-dipping* Sim___ Não___ 6.13.1) Princípio activo *pre-dipping* Iodo___ Cloro___
Chlorhexidina___ Ac.Lácticos___ Outro___

6.14) *Pos-dipping* Sim___ Não___ 6.14.1) Princípio activo *pos-dipping* Iodo___ Cloro___
Chlorhexidina___ Ac.Lácticos___ Outro___

6.15) Alimentação disponível após a ordenha Sim___ Não___

7. Tratamento dos animais com mastite

7.1) Segregação de Animais Sim___ Em último na ordenha___ Em unidades separadas___
Não___

7.2) Registos dos animais em tratamento Sim___ Não___

8. Secagem dos animais

8.1) Utilização de selante Sim____ Não____

8.2) Utilização de antibiótico Sim____ Não____

8.3) Secagem selectiva Sim____ Não____

9. Ao longo do ano de 2016, ocorreram alterações no que diz respeito à sua taxa de refugo anual? Sim____ Não____

9.1) Aumento ____ Diminuição____

Grata pela sua colaboração.

Anexo III – Programa (Microsoft Excel® 2016) de análise de CCS a partir do contraste leiteiro

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
1	INDÍCES	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Total	Objectivo		
2	ANIMAIS EM ORDENHA																
3	PRIMÍPARAS																
4	% PRIMÍPARAS																
5	DEL																
6	PRODUÇÃO(kg/vaca lactante)																
7	% PERDAS DE PRODUÇÃO	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	0%		
8	L PERDAS DE PRODUÇÃO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
9	ANÁLISE CONTRASTE LEITEIRO																
10	CCS CONTRASTE														<150		
11	LS														<4		
12	% VACAS >200														<20%		
13	%VACAS SAUDÁVEIS														>75%		
14	% NOVAS INFECCÇÕES														<8%		
15	% CURADAS														<10%		
16	% CRÓNICAS														<10%		
17	% RISCO NOVAS INFECCÇÕES														<10%		
18	% RISCO DE CURA														>50%		
19	% ANIMAIS <200														>80%		
20	% ANIMAIS 201-400																
21	% ANIMAIS 401-800																
22	% ANIMAIS >800														<5%		
23	1º CONTROLO POS-PARTO																



o Windows
Aceda a Definições de

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
1	INDÍCES	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Total	Objectivo		
23	1º CONTROLO POS-PARTO																
24	% 1º CONTROLO >200																
25																	
26	% 1º LACT >200														<10%		
27	NUM VACAS																
28	>200																
29	% 2º LACT >200														<10%		
30	NUM VACAS																
31	>200																
32	% ≥3º LACT >200														<10%		
33	NUM VACAS																
34	>200																
35	PERÍODO SECO																
36	VACAS SECAS																
37	VACAS<200 SECAS																
38	% VACAS <200 na Secagem														>50%		
39	NÚMERO DE PARTOS																
40	SAUDÁVEIS														>90%		
41	NOVAS INFECCÇÕES														<10%		
42	CURADAS														>60%		
43	CRÓNICAS														<20%		
44	% N.I. NO PS																
45	% CUR. NO PS																
46																	
47																	

