

Enio Cesar Sarti

**USO DO LEVAMISOLE COMO
ADJUVANTE NO
TRATAMENTO DE MASTITE
SUBCLÍNICA BOVINA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Minas Gerais,
como requisito parcial para obtenção
do grau de Mestre em Medicina
Veterinária

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Rômulo Cerqueira Leite

Belo Horizonte
Minas Gerais - Escola de Veterinária
1993

S249u Sarti , Enio Cesar, 1960 -

Uso do lavamisole como adjuvante no tratamento da
mastite subclínica bovina / Enio Cesar Sarti. - Belo
Horizonte : UFMG - Escola de Veterinária, 1993.

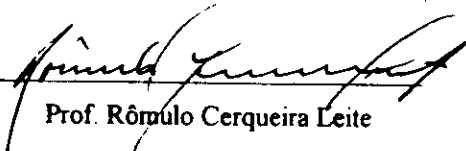
.. p. : il.

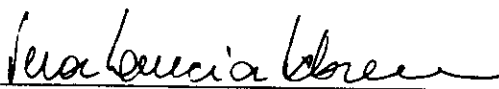
Dissertação (Mestrado)

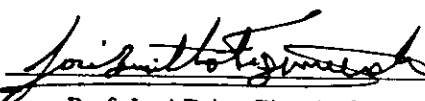
1. Mastite - Tratamento - Teses.I.Titulo.

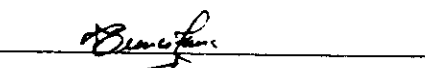
CDD - 636.208 969 2

Dissertação defendida e aprovada em 13/12/93, pela Comissão
Examinadora constituída por:


Prof. Rômulo Cerqueira Leite
Presidente


Prof. Vera Lúcia Viegas de Abreu


Prof. José Britto Figueiredo


Prof. José Eurico de Faria

*À música,
às crianças,
aos amigos e*

*àqueles senhores que acreditam
na Medicina Preventiva como
viga mestra de uma sociedade
"séria".*

Agradecimentos

Aos professores Dr. Rômulo Cerqueira Leite, Dra. Vera Lucia Viegas de Abreu e Dra. Maria Adriana Machado Lobo e Silva, sem os quais, certamente ainda estaria "pincelando" as primeiras páginas deste trabalho.

Não quero cometer nenhum equívoco esquecendo de citar aqui instituições e pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram a realização deste trabalho.

Gostaria, então, de deixar expresso, meus profundos agradecimentos aos funcionários e em particular aos funcionários educadíssimos e extremamente competentes da biblioteca da veterinária, aos professores da pós-graduação e ao carinho recebido durante o convívio, dentro e fora desta Escola de Veterinária, pelos colegas de pós-graduação.

*"Compreensão", "falta de compreensão",
"propriedades ocultas", influências"
e outros termos foram
empregados pelos filósofos
como uma dissimulação
para a verdadeira resposta,
que deveria ser "Eu não sei".*

Galileu Galilei

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	13
RESUMO	15
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. Levamisole como imunoestimulante	18
2.2. Levamisole em mastite bovina	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. Seleção dos quartos	22
3.2. Amostras de leite	22
3.3. Lactoculturas e identificação presuntiva dos agentes etiológicos	23
3.4. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	23
3.5. Inoculação do levamisole	24
4. RESULTADO E DISCUSSÃO	25
5. CONCLUSÕES	30
6. SUMMARY	31
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Frequência de isolamento de agentes bacterianos e identificação sugestiva em amostras de leite positivas ao CMT, em fazenda do município de Alfenas (MG), 1993.....25
TABELA 2	Frequência do <i>Staphylococcus</i> sp em mastites subclínicas, no Brasil, segundo vários autores.....26
TABELA 3	Sensibilidade "in vitro" dos microorganismos de amostras de leite CMT positivo, à alguns antimicrobianos, em fazenda do município de Alfenas (MG), 1993.....27
TABELA 4	Número de vacas tratadas com antibióticos, adjuvados ou não pelo levamisole e respectivos resultados do CMT após tratamentos, em fazenda do município de Alfenas (MG), 1993.....28
TABELA 5	Número de tetos tratados com antibióticos, adjuvados ou não pelo levamisole e respectivos resultados do CMT após tratamentos, em fazenda no município de Alfenas (MG), 1993.....28
TABELA 6	Análise estatística, pelo Qui-quadrado, e respectivos resultados de tratamentos com antibióticos, adjuvados ou não pelo levamisole, em fazendas no município de Alfenas(MG), 1993.....29

RESUMO

Foi estudado a utilização do levamisole como adjuvante terapêutico em mastites subclínicas de 30 bovinos pertencentes a propriedade produtora de leite no município de Alfenas (MG). Foram utilizados o CMT ("California Mastitis Test") e cultivos bacteriológicos para avaliar eficácia do produto estudado. Os animais com mastites foram tratados em dois grupos distintos, no terço inicial da lactação, com levamisole mais antibióticos ou somente com antibioticoterapia mais solução fisiológica. Não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo tratado e o controle, apesar de aparente melhora do grupo tratado.

PALAVRAS-CHAVE: Mastite, tratamento, levamisole.

1 INTRODUÇÃO

O controle da mastite bovina é essencial para a viabilidade econômica da indústria leiteira. As maiores perdas são resultantes da diminuição da produção, do leite descartado, do custo das drogas para o tratamento, do aumento de mão de obra especializada e do descarte prematuro de animais (DOBBINS, 1977).

Desde a exploração econômica da pecuária leiteira, a mastite tem despertado o interesse dos pesquisadores em descobrir os fatores predisponentes, e, também medidas de controle (POUTREL & RAINARD, 1981; OLIVERS & SMITH, 1982; GROOTHUIS & GROTENHUIS, 1987).

Um dos fatores predisponentes ao aparecimento da mastite bovina constitui-se na queda de resistência orgânica na gestação e durante a lactação, predispondo ao aparecimento de casos clínicos (DOBBINS, 1977). Diferentes alternativas de controle e tratamentos tem sido desenvolvidos. Os imunoestimulantes inespecíficos, como o levamisole, composto imidazólico, isômero do tetramidazol, utilizado como anti-helmíntico desde 1960, tem demonstrado capacidade de aumentar a proliferação dos linfócitos, com incremento de linfocina; elevação da fagocitose macrofágica e intensificação da resposta quimiotática dos neutrófilos (VANSELOW, 1987).

A utilização deste produto como acelerador do mecanismo de controle de infecção, estudada por RENOUX & RENOUX (1971), demonstrou aumento da resposta contra *Brucella sp* em camundongos. Achados semelhantes foram verificados na diarreia bovina à vírus (SAPERSTEIN et al, 1983), neoplasias (POTTER et al, 1974); artrite reumatóide (DINAI & PRAS, 1975) e estomatites (SYMONEAS & BRUGMANS, 1974).

O objetivo desta pesquisa é avaliar nas condições da propriedade estudada a eficácia do levamisole como adjuvante no tratamento da mastite bovina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LEVAMISOLE COMO IMUNOESTIMULANTE

RENOUX & RENOUX (1971) descobriram a eficácia do levamisole como imunoestimulante, imunizando camundongos contra a infecção por *Brucella abortus*, bem como efeito sobre células imuno-competentes esplênicas formadoras de anticorpos, variando o momento da aplicação do estimulante e a inoculação do antígeno. Ficou evidenciado efeito estimulante da imunidade em relação às células esplênicas produtoras de anticorpos anti-hemácias de carneiro para o camundongo segundo técnica de JERNE & NORDIN (1963).

RENOUX & RENOUX (1972), mostraram a competição antigênica e imunidade inespecífica em relação a infecção por *Rickettsias sp*, em camundongos protegidos com a vacina B-19 mais levamisole e, posteriormente, submetidos ao "challenge test" com *Brucella abortus*. Verificaram também que a droga inibia e, inclusive, curava tumor maligno e metástases pulmonares em camundongos.

VERHAEGEN et al (1973), verificaram que a droga reduzia a frequência, duração e intensidade de lesões em pacientes portadores de estomatite aftosa recorrente, quando administrada na dose diária de 150 mg por três vezes consecutivos, por duas semanas. Os pacientes tratados não apresentaram os sintomas, pelo menos, durante 25 meses.

HIRSHAUT et al (1973) comprovaram a eficácia da droga frente a pacientes com depressão da imunidade celular portadores de neoplasias, através de testes cutâneos de hipersensibilidade tardia e na formação de rosetas pelos linfócitos T. A posologia usada foi de 50 mg, três vezes ao dia, durante três dias, a cada duas semanas, por dois meses, tendo os pacientes sido acompanhados por, pelo menos, um ano. A tendência favorável à droga não chegou, entretanto, a níveis de significância compatíveis com uma afirmativa irrefutável.

ROJAS et al (1974) observaram que bovinos com febre aftosa se recuperaram mais cedo, quando tratados com levamisole.

LIEBERMAN & HSU (1976) avaliaram o potencial do levamisole em seis

pacientes com desordens imunológicas congênitas e adquiridas através da avaliação da inibição de migração de leucócitos. Os achados sugerem que o levamisole pode estimular a produção de mediadores da imunidades celular e ativar a população de linfócitos provavelmente envolvidos.

IRWIN et al (1976) estudaram o efeito do levamisole em bovinos em relação a resposta primária humoral (IgG e IgM) frente a vacinações contra a Rinotraqueite Infecciosa Bovina, eles concluíram que a droga não eleva a resposta humoral primária, em níveis significativos, entre 12 e 55 dias após o tratamento.

SANDOVAL et al (1978) verificaram a ação imuno-estimulante do levamisole em cobaios vacinados contra a brucelose e submetidos, posteriormente, a desafio com amostra patogênica de *Brucella abortus* n.2308. Os cobaios vacinados e tratados com o levamisole mostraram, no teste de desafio, maior proteção, isto é, 75% ou mais em relação aos lotes somente vacinados, evidenciando nítida ação imuno-estimulante do produto ensaiado.

CORTES et al (1978) não constataram diferenças significativas entre os títulos de proteção em cobaios vacinados contra a Febre aftosa e tratados ou não com a droga. Foi observado porém um efeito favorável do levamisole quando a vacina foi empregada em diluição menos concentrada.

MARTINS & PETZHOLD (1980) aferiram a imunogenicidade de vacinas contra a Febre Aftosa em cobaios que, simultaneamente, foram tratados com levamisole. Não observaram diferenças estatísticas, significativas, na proteção contra a Febre Aftosa entre os animais vacinados que receberam, ou não, tratamentos com a droga.

JAYAPPA & LOKEN (1983) verificaram o efeito do Levamisole em bovinos, através de observações em testes de quimiotaxia, fagocitose, migração fagocitária e destruição intracelular de *Escherichia coli*. Os resultados indicam que o levamisole aumenta a resposta quimiotática dos polimorfonucleares (PMN). Células fagocitárias foram colhidas de bovinos 90 minutos após injeção IM de levamisole e, também, foi encontrado aumento da migração e quimiotaxia celular. Não foi observado o efeito da fagocitose ou destruição intracelular da *E.coli* pelos polimorfonucleares dos bovinos.

AMER et al (1991) trataram 40 humanos com papilomatose, recebendo cada 5 mg/kg/PV de levamisole por três dias consecutivos, repetindo o

tratamento a cada duas semanas, durante um período de cinco meses. O grupo tratado respondeu com 70% de cura, enquanto o grupo controle somente 5% apareceram curados. Verrugas planas não responderam ao tratamento.

2.2 LEVAMISOLE EM MASTITE BOVINA

OVADIA et al (1978) trabalharam com 31 vacas em lactação, subdivididas em dois grupos. O primeiro com 15 recebeu 15 ml de levamisole (10%) IM, em intervalos semanais. O segundo de 16 não recebeu nenhum tratamento. O tratamento foi feito 60 dias antes do parto. Através de cultivos bacteriológicos ficou constatado efeito favorável ao grupo tratado.

ONODERA et al (1980) relataram a eficácia do levamisole por via oral em 42 vacas com mastites crônicas, com 48 quartos positivos avaliados ao CMT e cultivo bacteriológico, na dose de 7,5 mg/kg/PV, em grupos que receberam tratamento em dias consecutivos, por cinco (grupo A), três (grupo C) e um dia (grupo D). Outras 13 vacas com 19 quartos positivos, foram tratadas, com 7,5 mg/kg/PV, com levamisole por cinco dias consecutivos mais antibioticoterapia durante os três primeiros dias (grupo B). A eficácia dos tratamentos de mastites foram 70% (grupo A), 68,45 (grupo B), 70% (grupo C) e 77,8% (grupo D).

ZIV & SARAN (1981) observaram em 300 vacas pertencentes a seis rebanhos leiteiros efeito não significativo frente ao controle de mastite clínica e subclínica, estudadas durante as primeiras 10 semanas após o parto. O levamisole foi administrada por via intramuscular, na dose de 2,0 mg/kg/PV, quatro vezes em intervalos semanais, iniciando o tratamento no primeiro dia do período "seco", juntamente com antibioticoterapia intramamário. Como metodologia para avaliação das mastites clínicas, avaliadas antes e após ao tratamento, utilizaram exames clínicos do úbere e linfonodos da região mamária, aparência do leite, apetite, termometria, etc. Para avaliação das mastites subclínicas cultivos bacteriológicos, realizados no primeiro dia do período "seco" e 10-14 dias após o tratamento.

ISHIKAWA et al (1982) observaram diferenças significantes nas concentrações de imunoglobulinas no soro do leite de vacas com mastites subclínicas, tratadas com levamisole oralmente, na dose de 7,5 mg/kg/PV. Foi observado também aumento relativo de imunoglobulinas no quarto não afetado. Também foi observado efeito favorável na pesquisa bacteriológica

dos quartos com mastites subclínicas, tratadas com levamisole.

FLESH et al (1982) observaram a eficácia do levamisole em 3105 animais com mastites. O índice significativo de 9,6% das positivas foi para 3,7% após o tratamento. Neste mesmo trabalho, os autores observaram quedas significativas de índice de morte fetal (24,8% para 4,8%) e dos índices de endometrites (24,3% para 6,4%). Ficou sugerido no trabalho efeito favorável do levamisole como imunopotenciador ativo.

Também afirmaram que a droga não possui efeito em casos de mastites agudas e deverá ser utilizada somente como adjuvante preventivo.

ISHIKAWA & SHIMIZU (1983) observaram aumento na proporção de linfócitos-B no leite após administração oral do levamisole a 7,5 mg/kg/PV. Foram utilizadas 16 vacas, sendo que oito com mastite induzidas pela inoculação intramamária de 10 mcg de endotoxina de *E.coli* (055:B5). O grupo controle, também com oito animais inoculados pela mesma via, com solução salina. Salientam que este incremento celular pode aumentar atividade do sistema imune da glândula mamária dos bovinos e pode ter valor no controle da mastite bovina.

BUDLE & PULFORD (1985) avaliaram o efeito do levamisole no controle da mastite bovina por *Staphylococcus aureus*. A droga foi usada a 7 mg/kg/PV, via subcutânea, uma vez por semana, durante seis semanas consecutivas sendo a última dose quatro semanas antes do parto. Mastites clínicas foram tratadas com antibióticos. Contagem globais de células somáticas (CGCS) elevadas era indicativa de leite anormal. Os autores concluíram pela ineficácia do levamisole no controle da mastite estafilocócica subclínica, porém levados a acreditar que os efeitos severos da mastite clínica possam ser reduzidos com o uso da droga.

LEITE (1993) relatou efeitos positivos do uso do levamisole, por via intramuscular, na dose de 7,5 mg/kg/PV, no tratamento da mastite bovina como também na recuperação de pododermatites. Observou ainda, a diminuição do aparecimento dos casos de mastites quando aplicado o levamisole antes ou no dia do parto.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas 30 vacas mestiças, holandês X zebu, do total de 60, de rebanho com infecção crônica com alta prevalência de mastites subclínicas, causadas por estafilococos e estreptococos, com idades variando entre dois a 10 anos, pertencentes a propriedade no município de Alfenas (MG).

A ordenha era manual, com limpeza prévia do úbere com jatos de água corrente, realizada em curral aberto, em estábulos com manejo e cuidados higiênicos precários, ocorrendo duas vezes por dia, pela manhã e à tarde, sempre estimulada pela presença do bezerro, que realizava sucções prévias em uma ou mais tetas. O rebanho era mantido no pasto durante o dia, sendo recolhido na hora da ordenha e à noite.

A produção média de leite situava-se em torno de sete litros, com grande variação de animal para animal.

3.1 SELEÇÃO DOS QUARTOS

Foram utilizadas vacas em terço inicial de lactação, que apresentaram um ou mais quartos positivos, baseado no diagnóstico presuntivo do "California Mastitis Test" (CMT ¹) (SCHALM & NOORLANDER, 1957). Após lavagem do úbere com água limpa, secagem com toalha de papel descartável e após, a descida do leite, eram ordenhados os primeiros dois a três ml de leite em cada copo da bandeja plástica especial. Foram seguidas, sem modificações, a técnica de manuseio e interpretação originais. Foram trabalhados animais com escores duas cruzes (positivos) e três cruzes (fortemente positivos).

3.2 AMOSTRAS DE LEITE

Foram colhidas amostras de leite dos animais CMT positivos, variando de um a quatro o número de amostras por animal. A colheita sempre na

¹ Reagente do CMT feito e adquirido na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (Belo Horizonte-MG).

ordenha vespertina, foi precedida por limpeza da pele das tetas e da limpeza do meato galactóforo externo com álcool a 70% e secagem com toalha de papel individual. Após a realização do CMT, eram colhidos cerca de 10 ml de leite em frascos, tipo penicilina, com rolhas de borracha, esterilizados.

3.3 LACTOCULTURAS E IDENTIFICAÇÃO DOS AGENTES ETIOLÓGICOS

As amostras do leite foram transportadas dentro de caixa de isopor com gelo, até o laboratório onde 0,01 ml era semeado em caldo cérebro coração de bezerro (BHI²) e incubadas a 37°C por 24 horas. Não ocorrendo turvação do meio semeado era reincubada por mais 24 horas, a 37°C. Após o crescimento, a amostra positiva era transferida para placa de Petri com meio de ágar-sangue-base (MERCK³) adicionado 8% de sangue desfibrinado de ovelha. Para semeadura neste meio, com auxílio de alça de platina, adotou-se o método "streaking". Essas placas eram incubadas, a 37°C por até 72 horas, a 37°C. Observa-se a hemólise, morfologia das colônias, e, a seguir, preparavam-se esfregaços coradas pelo método de Gram, para verificação das características tinturiais e bacterioscópicas.

Após obtenção da cultura pura, a identificação sugestiva dos gêneros estafilococos e estreptococos era realizada através das provas de catalase, coagulase, com técnicas sugeridas por KRIEG & HOLT (1984) e CARTER (1986).

A identificação sugestiva de *Actinomyces pyogenes* baseou-se na produção de hemólise, prova de catalase, características morfológicas e tintoriais.

3.4 TESTES DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

Das bactérias isoladas foram feitos à antibiograma segundo BAUER et al (1966) seguindo recomendações de ARRY & THORNSBERRY (1985), utilizando-se discos de clorafenicol (30 mcg), nitrofurantoína (300 mcg), tetraciclina (30 mcg), ampicilina (10 mcg), penicilina G (10 UI), gentamicina (10 mcg) e sulfazotrin (25 mcg).

² LABORATÓRIOS DIFICO LTDA. - COD. 0037016
Detroit Michigan 48232, USA

³ MERCK S.A. INDÚSTRIAS QUÍMICAS - Ágar-sangue (base) - lote 009152
São Paulo (SP), Brasil.

3.5 INOCULAÇÃO DO LEVAMISOLE

O rebanho foi separado em grupo teste de 15 animais e grupo controle, também com 15 animais. A divisão dos grupos foi aleatória.

O grupo teste recebeu levamisole⁴ na dosagem de 7,5 mg/kg/PV, por via intramuscular, por sete dias consecutivos, juntamente com antibiótico testado à amostra de leite nos primeiros três dias, por via intramamária. O grupo controle recebeu solução fisiológica durante sete dias com antibioticoterapia nos primeiros três dias.

Os dois grupos foram acompanhados semanalmente por CMT e, diariamente, pelo teste da coadura do leite em caneca telada, antes de cada ordenha, durante todos os seis meses do experimento.

⁴ COOPERSOL - Pitman-Moore do Brasil - São Paulo (SP)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao iniciar este experimento, a frequência de mastite subclínica, avaliada pelo CMT bacteriologia era de 37,5%. A considerada alta frequência de mastite subclínica pode estar relacionada ao manejo e higiene precária da ordenha.

Os dois grupos, tratados ou não com levamisole, constituídos por 30 vacas em terço inicial da lactação, introduzidas gradativamente na linha de ordenha, durante os seis meses do experimento, apresentaram frequência de 39,0% de tetos positivos para mastite subclínica, avaliados por CMT e bacteriologia.

Neste trabalho, conforme mostra TAB. 1, o germe mais freqüente foi o *Staphylococcus sp* (65,38%), seguido pelo *Streptococcus sp* (19,23%). Outros autores como FIGUEIREDO (1962), LANGENEGGER et al (1981), NADER FILHO et al (1985), COSTA et al (1986) e LANGONI et al (1991) também verificaram a predominância do *Staphylococcus sp* na gênese da mastite bovina, cujas frequências são mostradas na TAB. 2.

TABELA 1 Frequência de isolamento de agentes bacterianos e identificação sugestiva em amostras de leite positivas ao CMT, em fazenda do município de Alfenas (MG), 1993.

AGENTES	FREQUÊNCIA	%
<i>Staphylococcus sp</i>	34	69,38
<i>Streptococcus sp</i>	10	20,40
<i>Escherichia coli</i>	2	4,08
<i>Actinomyces pyogenes</i>	1	2,04
Não identificados	2	4,08
TOTAL	49	100,00

TABELA 2 Frequência de *Staphylococcus sp* em matites subclínicas no Brasil, segundo vários autores.

AUTORES	%
FIGUEIREDO (1962)	57,4
FERNANDES et al (1973)	50,0
HARROP et al (1975)	59,2
LANGENEGGER et al (1981)	53,1
NADER FILHO et al (1985)	52,1
COSTA et al (1986)	52,8
LANGONI et al (1991)	63,6

Entre os microorganismos testados pelo antibiograma, maior frequência e sensibilidade, "in vitro", foi verificada para o cloranfenicol 73,46% seguido de gentamicina 40,01% e tetraciclina 14,28%.

Neste trabalho, o maior índice de sensibilidade, "in vitro", para o *Staphylococcus sp* foi verificado para cloranfenicol (86,23%) seguido da gentamicina (41,17%) e tetraciclina (11,76%) conforme apresenta a TAB. 3.

Outros autores em outras regiões e sob condições diferentes de manejo e higiene, revelaram as seguintes sensibilidade "in vitro" para o mesmo germe: cefalosporina (73,0%), tetraciclina (70,3%), sulfazotrin (48,7%), cloranfenicol (62,2%) e ampicilina (48,7%) (NADER et al, 1985).

LANGENEGGER et al (1981) encontraram maior sensibilidade para a gentamicina (100%), penicilina (41,1%) e cefalocetrile (82,35%), também frente a amostras de estafilococos. Essas variações de sensibilidade "in vitro" dos estafilococos podem ser causadas por vários fatores, entre eles amostras diferentes de cada região com mutações bacterianas ligadas, possivelmente, ao uso indiscriminado e prolongado destes antibióticos e metodologias não padronizadas de técnica de antibiogramas entre os diversos autores.

TABELA 3 Sensibilidade "in vitro" dos microorganismos isolados de amostras de leite CMT positivas, a alguns antimicrobianos, em fazenda do município de Alfenas (MG), 1993.

AGENTES	N	CLO	GEN	TET	AMP	NIT	SUL	PEN
<i>Staphylococcus</i> sp	34	30	14	4	3	3	3	-
<i>Streptococcus</i> sp	10	4	4	1	3	2	3	1
<i>A. pyogenes</i>	2	1	1	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	1	1	1	1	-	1	-	-
Não Identificados	2	-	-	1	-	-	-	1
TOTAL	49	36	20	7	6	6	6	2

CLO= Clorafenicol

TET= Tetraciclina

PEN= Penicilina

GEN= Gentamicina

AMP= Ampicilina

SUL= Sulfametazina

NIT= Nitrofurazolidona

O levamisole, como adjuvante no tratamento de mastites bovinas foi trabalhado em intervenções profiláticas com aplicações pré-partos (OVADIA et al, 1978; FLESH et al, 1982; BUDLE & PULFORD, 1985), onde obtiveram resultados favoráveis, porém foi necessário estabelecer modelo adequado à realidade deste trabalho, já que para estas aplicações profiláticas obrigaria a movimentação das vacas prenhes em bretes, durante quase 12 meses para atingir o número de amostras capazes de dar confiabilidade aos resultados.

Outro fator de dificuldade da aceitação do modelo pré-partos, uso profilático, foi a indisponibilidade de informações confiáveis com relação aos tratamentos prévios. Foi preferido, então, modelo de tratamento durante a lactação, semelhante ao preconizado por ONODERA et al (1980), em sete doses de 7,5 mg/kg de peso vivo, em dias consecutivos, por via intramuscular, mais a antibioticoterapia indicada, com base na pesquisa da sensibilidade bacteriana.

Conforme TAB. 4 pode ser observado que no grupo tratado com levamisole mais antibióticos, houve melhora aparente onde das 15 vacas com mastites subclínicas, 53,3% se livraram da infecção, avaliadas pelo CMT sete dias após a última intervenção terapêutica. No grupo "solução fisiológica" mais antibiótico, constituído também por 15 vacas. As "curas" observadas, avaliadas pelo mesmo critério, foram de 46,7%. No entanto, se tivesse continuado a avaliação pelo CMT, talvez este resultado fosse melhor, pois o próprio tratamento com antibióticos é irritante e demanda alguns dias para surtir os efeitos.

TABELA 4 Número de vacas tratadas com antibióticos adjuvado ou não pelo levamisole e respectivos resultados do CMT após tratamentos, em fazenda do município de Alfenas (MG), 1993.

RESULTADOS	TIPOS DE TRATAMENTO		
	Levamisole	Solução Fisiológica	
	+ Antibiótico	+ Antibiótico	
DO CMT			
NEGATIVO	8	7	15
POSITIVO	7	8	15
TOTAL	15	15	30

No grupo tratado com levamisole mais antibióticos, 17 (62,96%) dos tetos obtiveram aparente cura, de um total de 27 tetos positivos pré-tratamento. O grupo tratado com solução fisiológica mais antibiótico, apresentou êxito em apenas nove (42,85%) dos 21 tetos positivos pré-tratamento, conforme pode ser observado na TAB. 5.

TABELA 5 Número de tetos tratados com antibióticos adjuvado ou não pelo levamisole e respectivos resultados do CMT após tratamentos, em fazenda do município de Alfenas (MG), 1993.

RESULTADOS	TIPOS DE TRATAMENTO		
	Levamisole	Solução Fisiológica	
	+ Antibiótico	+ Antibiótico	
DO CMT			
NEGATIVO	17	9	26
POSITIVO	10	12	22
TOTAL	27	21	48

O número de vacas trabalhadas, TAB. 4, assim como o de tetos, TAB. 5, não foi significativo estatisticamente, conforme observado na TAB. 6, mas apresentou diferença em favor do tratado com levamisole. Um maior número de animais e a observação em maior tempo, poderá apresentar melhor resultado.

TABELA 6 Análise estatística, pelo Qui-quadrado, e respectivos resultados de tratamento com antibióticos, adjuvados ou não pelo levamisole, em animais em fazenda no município de Alfenas (MG), 1993.

NÚMERO DE	RESULTADO DO QUI-QUADRADO	GRAUS DE LIBERDADE	NÍVEL DESCRITIVO
VACAS-30	0.000	1	1.0000(.)N.S.
TETOS-48	0.9644	1	0.3261(.)N.S.

N.S. = não significativo

(.) = com correção de Yates

5 CONCLUSÕES

- O levamisole, como adjuvante, é importante ajuda no tratamento da mastite subclínica bovina, estimulando a imunidade inespecífica e diminuindo o período de recuperação.
- A metodologia empregada foi adequada porém, devido ao reduzido número de animais da amostragem e o tempo de observação, os resultados não foram estatisticamente significantes, apesar de aparente melhora do grupo tratado.

6 SUMMARY

Levamisole was injected into 30 cows like adjuvant for the treatment of subclinical mastitis from dairy farm (Alfenas-MG). The efficacy was examined using the California Mastitis Test and suggestive identification of the etiologic agent. The cows with mastitis were treatment into two groups, in the lactating period, with levamisole and antibiotic or antibiotic and physiological salt solution. These findings were not significant between treated group and control group, although the treated group has been apparent improvement.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMER, M., TOSSON, Z., SOLIMAN, A., et al. Verrucae Treated by levamisole. **Pharmacology and Therapeutic**, v.30, n.10, p.738-740, 1991.
- ARRY, A.L., THORNSBERRY, C. Susceptibility tests diffusion test procedures. In: LENNETE, E.H., BALLOW, A., HAUSLER JR., W.J. ete al. **Manual f Clinical Microbiology**, ed., ashington, D C ; American Society for Microbiology, p.978-987, 1985.
- BAUER, A.W., KIRBY, M.M., SCHERRIS, N.C. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Clinical Pathology**, v.36, n.9, p.493-496, 1966.
- BUDDLE, B.M., PULFORD, H.D. Evaluation of levamisole for use in control of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. **New Zealand Veterinary Journal** v.10, n.33, p.177-180, 1985.
- CARTER, G.R. **Essential of veterinary bacteriology and mycology**. 3th.ed., Philadelphia, 1986, 261p.
- CORTES, J.A.M GUERREIRO, J.,ROSSI, M. Efeito do levamisole sobre a resposta imunitária de cobaios tratados com vacina antiaftosa inativada. **Revista da Faculdade de Medicina e Zootecnia da Universidade São Paulo**, v.1, n.15, p.87-92, 1978.
- COSTA, E.O., FERREIRO, J., ROSSI, M. Etiologia bacteriana da mastite bovina no Estado de São Paulo. **Revista de Microbiologia**, v.17,n.33,p.107-112, 1986.
- DINAI, Y. PRAS, M. Immunostimulant therapy for rheumatoid arthristis. **Lancet**, v.2, n.11, p.556, 1975.
- DOBBINS, J.S. Mastitis problem herds. **Journal the American Veterinary Medical Association**, v.170, n.6, p.1239-1243, 1977.
- FERNANDES, J.C., MOOJEN, V., FERREIRO, L. Agentes etiológicos das mastites bovinas na bacia leiteira de Porto Alegre-RS, Brasil.

Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, v.1, n.1, p.41-46, 1973.

FIGUEIREDO, J.B. Estudo sobre a mamite bovina no município de Betim/MG. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, n.14, p.257-295, 1962.

FLESH, J., HAREL, W., NELKE, D. Immunopotentiating effect of levamisole in the prevention of bovine mastitis, fetal death and endometritis. **Veterinary Record**, n.11, p.56-57, 1982.

GROOTHUI, D.C., GROTENHUIS, G. Effect of intramammary vaccination on experimental staphylococcal infection in cows. **Journal of Dairy Science**, v.64, p.832-837, 1987.

HARROP, M.H.V., PEREIRA, L.J.G., BRITO, J.R.F. et al. Incidência de mastite bovina na bacia leiteira da zona do Agreste Meridional de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.5, n.10, p.65-67, 1975.

HIRSHAUT, Y., JAMES, S., SHOUNY, T. Effects of levamisole on delayed hypersensitivity reactions in cancer patients. **Proc. Am. Assoc. Cancer Res.**, v.6, n.14, p.105, 1973.

IRWIN, M.R., HOLMBERG, A., KNIGHT, D. et al. Effects of vaccination against Infectious Bovine Rhinotracheitis and simultaneous administration of levamisole on primary humoral responses in calves. **American Journal Veterinary Research**, v.37, n.2, p.223-226, 1976.

ISHIKAWA, H., SHIMIZU, T. Depression of B-Lymphocytes by Mastitis and treatment with levamisole. **Journal of Veterinary Dairy Science**, v.66, n.3, p.556-561, 1983.

ISHIKAWA, E.M., SHIMIZU, T., HIRANO, H. et al. Protein composition of whey from subclinical mastitis and effect of treatment with levamisole. **Journal Dairy Science**, v.65, n.10, p.653-658, 1982.

JAYAPPA, H.G., LOKEN, K.I. Enhancement of the chemotactic response of bovine polymorphonuclear leukocytes by levamisole. **American Journal Veterinary Research**, v.43, n.12, p.2138-2142, 1983.

JERNE, N.K.M., NORDIN, A.A. Plaque formation in agar by simple antibody producing cells. **Science** v.6, n.140, p.405, 1963.

- KRIEG, N.R., HOLT, J.G. **Bergey's manual of determinate bacteriology**. 9th.ed., Baltimore, Willian&Wilj\kin, 1984.
- LANGENEGGER, J., VIANI, M.C.DE., BAHIA, M.G. Efeito do agente etiológico da mastite bovina subclínica sobre a produção de leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.1, n.2, p.47-52, 1981.
- LANGONI, H., PINTO, M.P., DOMINGUES, P.F. et al. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.43, n.6, p.507-515, 1991.
- LEITE, R.C. - Comunicação pessoal, 1993 (Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Belo Horizonte-MG).
- LIEBERMAN, R., HSU, M. Levamisole-Mediated restorations of cellular immunity peripheral blood lymphocytes of patients wirh immunodeficiency diseases. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v.6, n.5, p.142-146, 1976.
- MARTINS, R.M., PETZOLD, S.A. Efeitos de cloridrato de tetramisole na imunogenicidade da vacina anti-aftosa. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias "Desidério Finamor"** v.1, n.80, p.19-26, 1980.
- NADER FILHO, A., SCHOCHEN-ITURRINOM R.P., ROSSI JUNIOR, O.D. Mastite subclínica em rebanhos produtores de leite gordura 3,2. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.5, n.35, p.621-630, 1983.
- NADER FILHO, A. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.2, n.5, p.53-56, 1985.
- OLIVERS, S.P., SMITH, K.L. Nonantibiotic approach in control of bovine mastitis during dry period. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.6, p.2119-2124, 1982.
- ONODERA, T. T SUKAMOTO, T., KUBE, T. Efficacy of levamisole treatment of bovine chronic mastitis. **Journal Japan Veterinary Medical Association**, v,33, n.7, p.375, 1980.

- OVADIA, H., FLESH, J., NELKEN, D. Prevention of bovine mastitis by treatment with levamisole. **Isrsih Journal Veterinary Medical Science.**, v.7, n.14, p.394-396, 1978.
- POTTER, C.W., CARR, I., RICHARDSON, V.M. Levamisole inactive in treatment of four animal tumours. **Nature**, v.249, n.10, p.567-569, 1974.
- POUTREL, B., RAINARD, D. California Mastitis Test guide selective dry cow therapy. **Journal of Dairy Science.**, v.64, p.241-248, 1981.
- RENOUX, G., RENOUX, M. Effect immunostimulant d'Imidothiazole dans l'immunization des souris contre l'infection por **Brucella abortus**. **Seances Academie Science**, v.6, n.2, p.349-350, 1971.
- RENOUX, G., RENOUX, M. Antigenic competition and nonspecific immunity after a Rickettsial infection in mice: restoration antibacterial immunity by phenyl-imidothiazole treatment. **Journal Immunology**, v.9, n.101, p.761-765, 1972.
- RENOUX, G., RENOUX, M. Levamisole inhibits and cures a solid malignant tumor and its pulmonary metastases in mice. **Nature New Biology**, v.12, n.240, p.217, 1972.
- ROJAS, A., COSTA, M., TORRES, B.C. Levamisole: accion en fiebre aftosa. **Revista de Medicina Veterinária**, Buenos Aires, v.3, n.5, p.263, 1974.
- SANDOVAL, L.A., GIORGI, W., AMARAL, L.B.S. et al. Ação imunoestimulante do levamisole na imunização de cobaios vacinados contra a brucelose. **Arquivos Instituto Biológico de São Paulo**, v.4, n.4, p.313-318, 1978.
- SAPERSTEIN, G., MOHANTY, S.B., ROCKERMANN, B.S. Effect os levamisole on induced bovine viral diarrhea. **Journal the American Veterinary Medicine Association.**, v.183, n.4, p.425-427, 1983.
- SCHALM, O.W., NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. **Journal the American Veterinary Medicine Association**, v.130, n.5, p.199-204, 1957.
- SYMONEAS, J. & BRUGMANS, J. Treatment of recurrent aphthous

stomatitis and herpes with levamisole. **Bristh Medicine Journal**, v.23, n.4, p.592, 1974.

VANSELOW, B.A. The application of adjuvants to veterinary medicine. **Veterinay Bulletin**, v.57, n.12, p.881-896, 1987.

VERHAEGEN, H., DE CREE, J., BRUGMANS, J. Treatment of aphtous stomatitis. **Lancet**, v.6, n.11, p.842, 1973.

ZIV, G.M.S., SARAN, A. The effect of levamisole therapy during the dry period on clinical and subclinical bovine mastitis. **Refuah Vet**, v.3, n.3, p.108-113, 1981.