

T636.089 69

R375c

2000

Sônia Rolim Reis

**CONTROLE DA MAMITE SUBCLÍNICA DE VACAS EM
LACTAÇÃO ATRAVÉS DA ANTIBIOTICOTERAPIA**

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

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Nivaldo da Silva

Belo Horizonte
UFMG-Escola de Veterinária
2000

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

05112100

2174800-04

0301-74360

R375c Reis, Sônia Rolim, 1962-
2000 Controle da mamite subclínica de vacas em lactação
através da antibioticoterapia / Sônia Rolim Reis. -Belo
Horizonte: UFMG - Escola de Veterinária, 2000.
44 p.:il
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas
Gerais, Escola de Veterinária
1. Bovino - Doenças - Teses. 2. Mastite - Controle -
Teses. 3. Mastite - Tratamento - Teses. I. Título.
CDD - 636.208 96

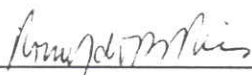
Dissertação defendida e aprovada em 21/06/00, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Nivaldo da Silva
Orientador



Prof. Francisco Carlos Faria Lobato



Prof. Ronaldo Braga Reis



Prof. José Brito Figueiredo

À Deus

Ao meu marido e minha filha.

Aos meus pais e minhas irmãs.

À minha prima Mirtes

Aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Nivaldo da Silva, pela sua dedicação.

Ao Marcus Brécia pela grande colaboração na digitação de dados.

Ao Nelson Éder Martins pela grande presteza.

À Júnia Pacheco.

Aos estagiários do Laboratório de Controle de Mamite da Escola de Veterinária – UFMG (Poliana, Daniela e Amanda)

Aos colegas e funcionários da Escola de Veterinária – UFMG.

À Nádia Maria da Silva pela colaboração na área de Informática.

Ao Laboratório Novartis S. A.

Às fazendas Experiência da Jaguará, Floresta e Camponesa.

À CAPES

“Eis, com efeito, em que consiste o proceder corretamente nos caminhos do amor ou por outro se deixar conduzir: em começar do que aqui é belo e, em vista daquele belo, subir sempre, como que se servindo de degrau, de um só para dois e de dois para todos os belos corpos, e dos belos corpos para os belos ofícios, e dos ofícios para as belas ciências até que das ciências acabe naquela ciência, que de nada mais é senão daquele próprio belo, e conheça enfim o que em si é belo.

PLATÃO
c. 428/7 – 348/7 a.C.
O BANQUETE

SUMÁRIO

		Pág.
	RESUMO	9
	ABSTRACT	9
1.	INTRODUÇÃO	11
2.	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 -	Caracterização da doença.....	11
2.2 -	Prejuízos econômicos decorrentes da mamite.....	12
2.3 -	Microrganismos mais envolvidos com as infecções da glândula mamária.....	13
2.4 -	Microrganismos envolvidos com a ocorrência de mamite subclínica no Brasil.....	18
2.5 -	Controle das mamites.....	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1-	Animais trabalhados.....	22
3.2-	Diagnóstico de mamite subclínica.....	22
3.3-	Susceptibilidade <i>in vitro</i> dos microrganismos isolados frente aos antimicrobianos.....	23
3.4-	Tratamento das mamites subclínicas.....	23
3.5-	Análise Estatística.....	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1-	Etiologia das mamites subclínicas.....	24
4.2-	Susceptibilidade dos microrganismos frente aos antimicrobianos.....	26
4.3-	Tratamento de mamite subclínica.....	27
4.4-	Efeito do tratamento sobre o isolamento de microrganismos.....	27
4.5-	Efeito do tratamento das mamites subclínicas sobre o conteúdo de células somáticas.....	28
5	CONCLUSÕES	29
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Prevalência estimada de infecção e perdas em produção leiteira associadas à contagens elevadas de células somáticas no tanque de leite.....	31
Tabela 2 -	Diferenças estimadas em rendimento leiteiro associadas ao aumento no escore de contagem de células somáticas.....	31
Tabela 3 -	Total de microrganismos isolados em casos de mamites subclínicas, nos grupos tratado e controle, nas três propriedades, antes e após tratamentos com antibióticos intramamários - MG- 1999.....	31
Tabela 4 -	Susceptibilidade a seis antimicrobianos apresentada por microrganismos isolados em casos de mamite subclínica, em três rebanhos bovinos leiteiros localizados nos municípios de Matozinhos, Confins e Betim, MG- 1999.....	32
Tabela 5-	Microrganismos isolados entre os grupos de animais tratados e controle, distribuídos segundo a fase de lactação (15 a 100 dias) e o número de dias após o tratamento.....	33
Tabela 6 -	Microrganismos isolados entre os grupos de animais tratados e controle, distribuídos segundo o período de lactação (101 a 200 dias) e o número de dias após o tratamento	33
Tabela 7 -	Efeito dos tratamentos intramamários das infecções subclínicas sobre o número de microrganismos isolados nos grupos de animais tratados nas três propriedades produtoras de leite envolvidas no experimento- MG, 1999.....	33
Tabela 8 -	Efeito dos tratamentos intramamários das infecções subclínicas sobre o número de microrganismos isolados nos grupos de animais tratados no período de lactação entre 15-100 dias, nas três propriedades produtoras de leite envolvidas no experimento- MG, 1999.	34
Tabela 9 -	Efeito dos tratamentos intramamários das infecções subclínicas sobre o número de microrganismos isolados nos grupos de animais tratados, no período de lactação entre 101- 200 dias, nas três propriedades produtoras de leite envolvidas no experimento- MG, 1999.....	34

Tabela 10 - Resultados das reações ao California Mastitis Test realizados em animais dos diferentes grupos submetidos a tratamentos de mamite subclínica, antes e após 14, 25 e 40 dias da aplicação intramamária de Cefacetil Sódico, na propriedade A - MG- 1999.....	35
Tabela 11 - Resultados das reações ao California Mastitis Test realizados em animais dos diferentes grupos submetidos a tratamentos de mamite subclínica, antes e após 14, 25 e 40 dias da aplicação intramamária de Cefacetil Sódico, na propriedade B - MG- 1999.....	35
Tabela 12 - Resultados das reações ao California Mastitis Test realizados em animais dos diferentes grupos submetidos a tratamentos de mamite subclínica, antes e após 14, 25 e 40 dias da aplicação intramamária de Cefacetil Sódico, na propriedade C - MG- 1999.....	36
Tabela 13 - Efeito dos tratamentos de mamite subclínica sobre a produção média de leite com base em registros intercalados de 10 dias.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Contagens de células somáticas em animais com mamite subclínicas antes e após tratamentos intramamários no grupo tratado, distribuídos segundo a fase de lactação – MG – 1999.....	37
Figura 2 - Contagens de células somáticas em animais com mamite subclínicas antes e após tratamentos intramamários no grupo controle, distribuídos segundo a fase de lactação – MG – 1999.....	37
Figura 3 - Interpretação das reações ao California Mastitis Test (C.M.T.)	38
Figura 4 - Distribuição dos grupos de animais com mamite subclínica a serem tratados nos rebanhos A, B e C.....	38
Figura 5 - Distribuição dos grupos de tratamentos por animais e tetos, com mamite subclínica, dentro dos três rebanhos no experimento.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

BGN: Bacilo Gram negativo
BHI: Infusão de cérebro-coração
CCS: Contagem de células Somáticas
CMT: "California Mastitis Test"
DHIA: "Dairy Herd Improvement Association"
EUA: Estados Unidos da América
IgG: Imunoglobulina G
IMI: Infecção intramamária
Kg: kilograma
MG: Minas Gerais
Ml: mililitros
NMC: "National Mastitis Council"(EUA)
PV: Peso vivo
SCCS: "Somatic Cell Count Score"
SCN: *Staphylococcus* Coagulase-Negativo
UI: Unidade Internacional
WMT: "Wisconsin Mastitis Test"

RESUMO

Neste trabalho foi avaliada a eficiência da antibioticoterapia como estratégia para o controle de mamite subclínica em vacas em lactação. Foram tratados 86 tetos infectados de 39 animais em três propriedades leiteiras, divididos em fases de lactação de 15 a 100 dias e 101 a 200 dias. Foram aplicadas, duas ou três doses de 250 mg de cefacetil sódico (cefalotina) por via intramamária. A droga permaneceu 24 horas dentro dos quartos de úbere dos animais tratados. Vinte e oito tetos de 14 animais infectados foram mantidos como controle sem tratamento. Os grupos de animais tratados e controle foram avaliados nos dias 0, 14, 25 e 40 após o tratamento através das provas de California Mastitis Test (CMT), contagem de células somáticas (CCS), isolamento e identificação de patógenos e produção leiteira. Entre os patógenos encontrados, o *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* Coagulase-Negativo, foram os microrganismos mais isolados (43,14%), seguidos por *Bacillus* spp, *Corynebacterium bovis*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*. Após 14 dias do tratamento houve uma redução de 61,4% das infecções intramamárias, assim como uma acentuada diminuição da CCS e reações positivas ao CMT, nos grupos tratados, nos dois períodos de lactação. Entre os dias 25 e 40 após tratamento, estas diferenças não foram significativas ($p > 0,05$). Ocorreram recidivas ou reinfecções entre os tetos tratados. Em relação a produção de leite não houve ganhos efetivos entre os animais tratados ($p > 0,05$). Pode-se concluir que a antibioticoterapia durante a lactação não foi efetiva para o controle das mamites subclínicas, mesmo em animais que apresentaram altas contagens de células somáticas.

Palavras-Chave: mamite bovina, subclínica, controle, tratamento, CCS, CMT, etiologia.

ABSTRACT

Thirty nine cows with 86 udder quarters with subclinical mastitis from three dairy herds were treated with 250 mg of cephalothin in a two or three intramammary doses. Group 1 consisted of 16 cows in lactation, 15 to 100 days in milk and group 2 consisted of 23 cows in lactation, 101 to 200 days. Therapeutic success was controlled with bacteriological examinations, somatic cells count (SCC), California Mastitis Test (CMT) and milk production on days 0, 14, 25 and 40 of treatment. Fourteen cows with 28 udder infected quarters were maintained as a control. *Staphylococcus aureus* and Coagulase-negative Staphylococci were the most prevalent among bacterial isolates. Other pathogens as *Bacillus* spp, *Corynebacterium bovis*, *Streptococcus uberis* and *Escherichia coli* were present. Concerning bacteriological healing the intramammary therapy had an even success with a 61,4% elimination rate of pathogenic bacteria at 14 days after treatment. SCC and CMT reaction were decreased too. Fourty days however these differences were not satisfying ($p > 0,05$). There were no differences among treated groups before and after intramammary treatment ($p > 0,05$) on milk production. Antibiotic therapy of lactating cows with subclinical mastitis was not efficient for controlling the udder infections.

Key-words: bovine mastitis, subclinical, control, treatment, SCC, CMT, etiology.

1. INTRODUÇÃO

A mamite é definida como inflamação da glândula mamária que ocorre, principalmente, devido à contaminação por bactérias patogênicas, vírus, fungos e algas. Agentes químicos, físicos, traumas mecânicos, térmicos e problemas metabólicos podem também estar envolvidos.

Segundo Tyler *et al.* (1992) animais com mamite ocasionam perdas diretas ao produtor em razão da desclassificação e descarte do leite, gastos com antibióticos, serviços veterinários e até perdas por morte de animais. A longo prazo, ocorre queda na produtividade, maiores gastos com reposição de animais e perda de material genético pelo descarte involuntário das fêmeas. Mudanças na composição do leite causadas pela infecção afetam sua qualidade e interferem com os processos industriais. As alterações incluem o aumento de células somáticas, concentração de proteínas originárias do sangue, do teor de cloretos e sódio, e do pH do leite; e ainda a presença de resíduos de antibióticos. Há redução nos teores de gordura, lactose, cálcio, fósforo e caseína.

A mamite é doença de difícil controle e erradicação. Philpot (1984) relata que 40 a 50% das vacas nos Estados Unidos da América apresentam pelo menos um quarto do úbere comprometido. Segundo estimativas de Tyler *et al.* (1992) calcula-se a perda de dois bilhões de dólares por ano devido à mamite bovina. No Canadá estas perdas representam mais de 200 milhões de dólares por ano. No Brasil não se conhece devidamente os prejuízos provocados pela doença, entretanto, pode-se estimar que ela causa consideráveis perdas para a pecuária leiteira. Costa *et al.* (1995) encontraram 73% de animais infectados por mamite subclínica em um estudo realizado nos Estados de São Paulo e Minas Gerais.

Os "danos" provocados pela mamite bovina, principalmente em animais em lactação, e a dificuldade de imunizar estes animais contra os diversos patógenos que infectam a glândula mamária, justificam a necessidade de se estabelecer programas de controle visando diminuir a prevalência da doença. Estes programas de controle devem aumentar o retorno econômico, serem altamente efetivos e aplicáveis

a vários rebanhos, reduzirem novas infecções, encurtarem a duração das infecções existentes e promoverem evidências concretas da redução de mamite clínica (Philpot, 1994). Uma das medidas recomendadas é o tratamento com antimicrobianos, tanto de casos clínicos como de casos subclínicos, visando a "cura" ou evitar mortes dos animais como consequência das infecções agudas, retornar à composição e produção normal do leite, eliminar fontes de infecção e prevenir novas infecções, inclusive no período seco (Cullor, 1993).

Vários estudos mostram resultados controversos em relação à eficiência dos tratamentos com antibióticos para o controle da mamite subclínica. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da antibioticoterapia durante a lactação visando o controle da mamite subclínica, com base na redução das taxas de infecção e do número de células somáticas, aumento da produção de leite.

2. LITERATURA CONSULTADA:

2.1 - Caracterização da doença- Diagnóstico:

Segundo as formas de manifestação clínica as mamicas podem ser superagudas, com os animais afetados apresentando febre, alterações na glândula, depressão, anorexia; agudas (similar à superagudas, porém os sinais clínicos são menos severos); subagudas (não há reações sistêmicas e alterações na glândula são pequenos); crônicas (não há sinais clínicos e poucos sinais externos na glândula mas há secreção anormal do leite que ocorre intermitentemente); subclínica (infecção detectável por isolamento e identificação de microrganismos ou contagem de células somáticas (Quinn *et al.*, 1994; Silva, 1999).

A forma crônica também apresenta alterações na composição físico-químicas do leite, na glândula mamária, queda na produção e pode persistir por vários meses. Além disso observam-se áreas de fibroses no tecido mamário (Costa *et al.*, 1998). Na forma subclínica o animal não apresenta alterações visíveis na glândula, porém o leite apresenta alta contagem de células somáticas. Estas infecções além de contribuírem com significativas perdas na produtividade, podem ser consideradas, em função da presença de microrganismos patogênicos, como um problema

sério para a saúde pública (Tyler *et al.*, 1992). O diagnóstico da mamite subclínica é utilizado para indicar formas de tratamento do animal durante a lactação, descarte ou servir de base para administração do tratamento seletivo no período seco (Costa *et al.*, 1995b). Dentre os métodos indiretos de diagnósticos indicados para detecção de mamite subclínica destacam-se: "California Mastitis Test" (CMT), "Wisconsin Mastitis Test" (WMT), Contagem de Células Somáticas (CCS) através da microscópica ou contagem eletrônica e a condutibilidade elétrica. É importante selecionar o método ideal de detecção de mamite subclínica, uma vez que os métodos de escolha podem variar de acordo com a idade da vaca e estágios de lactação (Holdaway *et al.*, 1996).

Em relação à etiologia, as mamicas são classificadas como ambientais e contagiosas. Ela se classifica como mamite ambiental quando os patógenos estão presentes no ambiente e a contaminação ocorre tanto no período entre as ordenhas como durante a ordenha. Dentre os principais agentes causadores de mamite ambiental destacam-se: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus uberis*. A mamite é considerada contagiosa quando a contaminação ocorre de vaca para vaca e é produzida por patógenos que necessitam do animal para sobreviver; eles se multiplicam no interior da glândula mamária do animal infectado, no canal do teto ou sobre o revestimento externo do teto e são transmitidos de um animal a outro. Os principais causadores da mamite contagiosa são: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativo*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Corynebacterium bovis* (McDonald, 1977; Bramley & Dodd, 1984).

2.2 - Prejuízos econômicos decorrentes da mamite

Segundo Ratnakumar *et al.* (1996), a forma subclínica é mais comum e sua prevalência varia de 10 a 50%, sendo responsável pela perda de 10 a 26% da produção de leite por animal, dependendo da patogenicidade do agente infeccioso. De acordo com o National Mastitis Council, nos EUA, o custo destas perdas são estimados em 200 dólares/vaca, incluindo gastos com medicamentos, descarte do leite, reposição de vacas, mão de obra, etc. (Philpot, 1994). Somando-se ao decréscimo na produção,

observa-se perda da qualidade do leite e da função do parênquima glandular, além do úbere se tornar uma reserva de patógenos (Tyler *et al.*, 1992). As perdas na produção de leite devido às infecções da glândula mamária (IMI) alcançam de 10 a 26% do total da produção, de acordo com grau de intensidade do processo inflamatório e o estágio de lactação em ocorre que a infecção (Anderson, 1983). Segundo Harmon (1999), estimativas recentes sugerem que a mamite causa prejuízos anuais de aproximadamente US\$ 1,8 bilhão de dólares nos Estados Unidos. Cerca de 66% destes prejuízos são decorrentes de quebras na produção de leite devido às infecções. A perda de produção em um rebanho com CCS média de 500.000/ml de leite chega a 6% do total produzido; se esta contagem chegar a 1×10^6 cels./ml esta perda pode representar 18% da produção, como está expresso na Tabela 1. A CCS normal, de um úbere não infectado, deve estar abaixo de 200.000 cels./ml de leite. A DHIA (Dairy Herd Improvement Association) adotou nos Estados Unidos, um sistema de escore de CCS que divide as contagens de células de um "pool" de amostras individuais de leite em 10 categorias, estabelecendo escores de 0 a 9, conhecido como "Somatic Cell Count Score" (SCCS). Os programas da DHIA avaliam mensalmente o escore de cada vaca em lactação. Na Tabela 2 verifica-se a relação entre CCS, o escore e a estimativa de perda na produção. O escore médio de CCS para toda a lactação é a medida que reflete mais fielmente o rendimento leiteiro. A vantagem deste sistema é que existe uma correlação linear entre o valor do mesmo e as perdas de produção, uma vez que o aumento de um ponto corresponde ao dobro da contagem de células somáticas no leite. Cada aumento de um ponto no escore acima de 50.000 cels/ml (ou escore 2) resulta em perda de cerca de 200kg de leite para a lactação. Por exemplo, um aumento de 4 para 5 (corresponde a um aumento na CCS de 200.000 para 400.000 cels/ml) resulta em perda adicional de 200 kg de leite, caindo a produção de 600 para 400 kg/vaca naquela lactação. Por outro lado, a redução da CCS média em 50% aumenta a produção estimada de leite em 200 kg/vaca na lactação (Philpot, 1994; Harmon, 1999).

Em 1970, nos Estados Unidos, sete fazendas de diversas categorias foram submetidas a um questionário à respeito de custos com mamite e constatou-se que as perdas se verificam da

seguinte maneira: redução na produção de leite US\$ 81.32; descarte do leite US\$12.88; custo com veterinário US\$ 1.97; custo com medicamentos US\$ 3.86; gastos com laboratório US\$ 2.28; perda no valor comercial do animal US\$ 5.72; gastos com substituição do animal US\$ 9.32, perfazendo um total de US\$125.37/animal (Miles *et al.*, 1992).

2.3 - Microrganismos mais envolvidos com as infecções da glândula mamária

A mamite, processo inflamatório da glândula mamária, tem como causa principal as infecções bacterianas. As bactérias que estão mais comumente envolvidas no processo são: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* que produzem em média entre 90 a 95% de todas as infecções dos rebanhos leiteiros; coliformes, como a *Escherichia coli*, também são importantes para os processos infecciosos do úbere (Miles *et al.*, 1992).

Microrganismos como os bacilos Gram positivos, especialmente aqueles pertencentes ao gênero *Bacillus spp.*, estão amplamente distribuídos no ar, solo, água, fezes e ambientes de ordenha e são encontrados como contaminantes no leite; a maioria são saprofitas. *B. cereus* e *B. subtilis* podem ser isolados em culturas puras ou associados a outros agentes patogênicos como causadores de mamite (Schalm *et al.*, 1971; Miller *et al.*, 1993).

2.3.1 - *Staphylococcus aureus*

Além de ser o principal patógeno envolvido em mamites, *S. aureus* produz infecções de difícil tratamento através da antibioticoterapia. O descarte de vacas infectadas é considerado o meio mais efetivo de reduzir o nível de infecção de mamites por *S. aureus* em um rebanho. Esta opção, no entanto, não é prontamente aceita por alguns produtores e, assim, o tratamento com antimicrobianos continua sendo utilizado como principal estratégia para o controle. A pobre resposta das mamites por *S. aureus* à antibioticoterapia tem sido foco de uma grande variedade de estudos no esforço de determinar quais são os fatores responsáveis por falhas na terapia, de modo que os tratamentos sejam mais efetivos no futuro. Uma série de interações entre o patógeno e o hospedeiro têm sido identificados como fatores que influenciam negativamente no

sucesso das terapias contra as mamites estafilocólicas. Dentre eles podemos incluir, a localização intracelular da bactéria, inclusive em leucócitos (Craven & Anderson, 1984), inatividade metabólica da bactéria (Eng *et al.*, 1991), atividade reduzida do antibiótico no leite (Louhi *et al.*, 1992), resistência bacteriana frente aos antibióticos (Myllys *et al.*, 1992), além da baixa penetração da droga no tecido infectado (Owens *et al.*, 1993).

Costa *et al.* (1985) estudaram a sensibilidade *in vitro* a antimicrobianos de 951 amostras de bactérias do gênero e obtiveram os seguintes resultados: 75 a 90% de sensibilidade foram observados frente à cefalosporina, nitrofurantoína, vancomicina e novobiocina. Observaram 100% de resistência à fosfomicina, polimixina B, sulfato de colistina e rifamicina.

A mamite subclínica causada por *S. aureus* é um problema sério e de caráter multifatorial para o manejo do gado leiteiro. A infecção eleva o número de células somáticas tanto a nível individual como no tanque, o que requer o emprego de estratégias como a desinfecção de tetos, bom manejo da ordenha mecânica e separação de animais infectados para a redução dos índices de infecção intramamária. Animais portadores de infecções subclínicas por *S. aureus* constituem-se em permanentes fontes de risco de infecção para outros animais e podem potencializar a prevalência das IMI dentro dos rebanhos (Lam *et al.*, 1996). Assim, encurtar a duração da IMI é um importante componente dos programas de controle de mamites, o que pode ser feito através de tratamentos das mamites subclínicas durante a lactação, onde o nível de "cura" de mamite subclínica causadas por *S. aureus* varia entre 3,6 a 92% (Bramley & Dodd, 1984, Owens *et al.*, 1993; Sol *et al.*, 1997).

2.3.2 - *Staphylococcus* Coagulase-Negativo

Os *Staphylococcus* Coagulase-Negativo (SCN) são patógenos comuns em rebanhos leiteiros e estão principalmente associados aos casos subclínicos de mamite e às fortes reações ao teste do C.M.T. (Holmberg, 1973; Pearson & Greer, 1974).

Segundo Harmon & Langois (1989) estes microrganismos estão mais prevalentes em propriedades de gado leiteiro que reduziram o número de infecções produzidas por patógenos de maior importância, sendo mais frequentes em

animais de primeira lactação. A partir da segunda lactação ocorre uma diminuição do número de casos, entretanto, ainda não se sabe se este decréscimo seria causado por alguma estratégia de controle de mamite subclínica, como por exemplo, a terapia dos animais no período seco, ao final da primeira lactação. As células somáticas respondem com uma baixa magnitude em relação aos agentes infecciosos mais patogênicos; o número de células somáticas nas IMI causadas por SCN é maior em animais de primeira lactação e diminui com o avanço da idade. A contagem de células também tende a ser maior nos primeiros quinze dias de lactação. Harmon & Langlois (1989) sugerem, ainda, que *Staphylococcus* spp exceto o *S. aureus* podem ser classificados como patógenos oportunistas e não contagiosos ou até mesmo como patógenos ambientais por fazerem parte da flora normal da pele do teto.

Considerados menos patogênicos que o *S. aureus*, as IMI por SCN tem sido associadas com a perda de até 831 kg de leite por lactação. Estas infecções tendem a persistir durante todo período de produção. Apesar disso as infecções causadas por SCN usualmente não são tratadas durante a lactação. Resistências antimicrobianas a penicilina, ampicilina, meticilina, oxacilina e cefalosporina são comuns; foi observado maior resistência dos SCN aos antimicrobianos em comparação aos *S. aureus* isolados em casos de mamite (Tyler *et al.*, 1992).

Boddie *et al.* (1987), Trinidad *et al.* (1990) e Hallberg *et al.* (1995) evidenciaram histologicamente alterações no tecido secretor e estimaram as perdas na produção de leite em 10,3% nas infecções persistentes por CNS (Pardo *et al.*, 1998).

Pardo *et al.* (1998) analisaram 664 amostras de leite de 83 vacas primíparas da raça Holandesa de 12 propriedades da Região Norte do Paraná. As amostras foram colhidas no primeiro e sétimo dia pós parto. Das 664 amostras analisadas, 488 (73,50%) foram bacteriologicamente negativas e 176 (26,50%) positivas para microrganismos aeróbicos. Foi observado um alto índice de mamite clínica (20,48%). Os agentes isolados com maior frequência foram os *Staphylococcus* spp Coagulase-Negativo (64,20%). Resultados próximos a estes foram encontrados por Myllys (1995).

2.3.3 - *Streptococcus* spp

As mamicas causadas por *Streptococcus* spp causam grandes prejuízos, devido a queda na produção, as alterações nas características do leite e a perda da qualidade do leite (Quinn *et al.*, 1994). *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* são os estreptococos mais isolados de infecções da glândula mamária bovina.

A contaminação da glândula mamária por *Streptococcus* spp pode ser através da ordenha mecânica ou pela mão do ordenhador. A partir daí o microrganismo entra através do canal do teto, se estabelece na glândula e multiplica. A habilidade de invadir a glândula e a capacidade de aderir ao epitélio mamário são importantes para a patogenicidade destes agentes e variam de acordo com o fator de virulência de cada microrganismo. Apesar destes aspectos relacionados à patogenicidade eles geralmente causam pequenas alterações nas células secretoras (Quinn *et al.*, 1994).

Segundo Costa *et al.* (1985), num estudo de 590 amostras, os antimicrobianos mais efetivos contra os *Streptococcus* spp foram: cloranfenicol, novobiocina e vancomicina (sensibilidade de 72 a 77%). Altos índices de resistência foram encontrados (90 a 100%) frente à rifamicina, estreptomina, sulfato de colistina, sulfametoxazol, fosfomicina e polimixina B.

Streptococcus agalactiae

O *Streptococcus agalactiae* é patógeno obrigatório da glândula mamária, altamente contagioso e que geralmente, causa baixo grau de persistência de infecção. Apesar de ser sensível ao tratamento com uma variedade de antibióticos, os índices de "cura" espontânea são considerados baixos. Animais infectados e que não são identificados funcionam como reservatório da infecção e assim, quando o rebanho é positivo para *S. agalactiae* tradicionalmente ele permanece com um alto índice de prevalência.

O *S. agalactiae* multiplica no leite e na superfície dos canais do leite mas não invade os tecidos. Há uma rápida multiplicação bacteriana com a expansão dos neutrófilos e obstrução dos dutos causando involução dos ácinos e afetando os lóbulos. Ocorre fibrose interalveolar do tecido e perda da função secretória alterando, assim, a quantidade de leite produzida pelo animal (Quinn *et al.*, 1994). Esta bactéria tem a habilidade de

aderir ao tecido mamário das vacas e é necessário um micro ambiente específico no úbere bovino para o crescimento do microrganismo. A patogenicidade das diferentes amostras varia com a capacidade de aderir ao epitélio mamário (Keefe, 1997). Ainda segundo este autor, as infecções intramamárias por *S. agalactiae* estão associadas com elevada quantidade de células somáticas e diminuição da quantidade e qualidade do leite. O isolamento do *S. agalactiae* em leite coletado em tanques tem baixa sensibilidade para identificar as IMI produzidas por este microrganismo a nível de rebanho.

A prevalência das infecções produzidas por *S. agalactiae* varia entre 40% e 47%, em rebanhos leiteiros nos EUA e Canadá, conforme trabalhos realizados por diferentes autores, naqueles países, entre os anos de 1976 e 1991, conforme revisão publicada por Keefe (1997). Ainda segundo este autor, o programa de erradicação do agente patogênico do rebanho é prático pois a bactéria é um parasita obrigatório da glândula mamária bovina e é sensível a vários produtos comerciais existentes no mercado como: Eritromicina, penicilina, cloxacilina e cefalosporina. Vacas secas ou em lactação respondem com mais de 90% de "cura". Gentamicina, neomicina, nitrofurazona e polimixina B tem baixa atividade contra *S. agalactiae* e tem sido ineficazes. A diferença da sensibilidade serve para enfatizar a importância de se identificar o agente causador da infecção antes do início dos tratamentos.

A terapia, com antimicrobianos, de todos os animais infectados no rebanho, "blitz" terapia, tem sido preconizada como uma alternativa prática, particularmente, em situações onde é alta a prevalência de *S. agalactiae* (Erskine & Eberhart, 1990). Este procedimento resulta em descarte de leite, entretanto, estes custos são compensados por diminuição de mão-de-obra e gastos com diagnósticos laboratoriais. Terapias não específicas e baseadas na contagem de células somáticas têm sido defendidas, entretanto, animais infectados e que apresentam altas contagens de células somáticas no leite são mais resistentes às terapias intramamárias. Desta maneira a identificação dos casos iniciais, tratamentos de casos clínicos e de vacas secas e o pós-dipping são as medidas mais recomendadas para a redução progressiva da

prevalência de mamite subclínica causada por *S. agalactiae* (Tyler *et al.*, 1992).

Streptococcus dysgalactiae

S. dysgalactiae é um patógeno envolvido com as mamites ambientais e isolado com certa frequência a partir das infecções intramamárias em bovinos de diferentes regiões (Mamo *et al.*, 1987).

No Brasil, em levantamentos epidemiológicos realizados nos Estados do Rio de Janeiro e Pernambuco por Langenegger *et al.* (1970) e Harrop *et al.*, (1975), verificou-se que o *S. dysgalactiae* foi responsável por 17,2% e 18,9% das mamites nas principais bacias leiteiras desses Estados, respectivamente. Langenegger *et al.*, (1970) observaram também nessas mamites a participação do *S. agalactiae* em 24,7% dos casos subclínicos.

Segundo Calvino & Oliver (1998) o *S. dysgalactiae* é isolado frequentemente de infecção intramamária durante a lactação e no período seco. Entretanto, pouco se conhece sobre os fatores que contribuem para a virulência do agente, principalmente em relação à transmissão e patogenicidade da mamite causada por *S. dysgalactiae*. Segundo estes autores, esta bactéria pode interagir com o plasma e proteínas extracelulares do hospedeiro como IgG, albumina, fibrinogênio, colágeno, plasminogênio, sendo esta interação mediada pela superfície proteica da bactéria. Este microrganismo também pode produzir enzimas como a hialuronidase e fibrinolizina e, assim, promover a sua disseminação no tecido do hospedeiro. A bactéria se adere e internaliza dentro das células epiteliais da glândula mamária bovina e sobrevive ali por muito tempo sem perda de sua viabilidade e sem prejuízo às células.

O *S. dysgalactiae* foi isolado primeiramente de glândulas mamárias infectadas e tetos com injúria. Tem sido isolado de reservatórios extramamários como as tonsilas, boca e vagina dos bovinos. A infecção pelo microrganismo durante o período seco ocorre em rebanhos com histórico prévio da presença do agente sugerindo que ele funciona também como patógeno ambiental e se envolve com as entidades relacionadas com a chamada "mamite de verão". Este microrganismo pode ser isolado de moscas, como a *Hydrotaea irritans*, a qual aparece com

um significativo papel para estabelecer e manter contaminação bacteriana nos tetos de animais saudáveis. O *S. dysgalactiae* é considerado o primeiro agente a colonizar o teto bovino e, aparentemente, prover o ambiente favorável para a colonização por outros agentes patogênicos (Calvinho *et al.*, 1998). Além disso as IMI produzidas por este microrganismo se caracterizam pela persistência da infecção e pelos baixos níveis de respostas aos programas convencionais de controle (Almeida & Oliver, 1995).

Streptococcus uberis

S. uberis é considerado um patógeno comum em rebanhos leiteiros sendo responsável por cerca de 20% a 33% dos casos clínicos de mamites em vários países (Bramley & Dodd, 1984; Hill, 1988; Watts, 1988; Hillerton *et al.*, 1993). Entre suas características está a de sobreviver fora da glândula mamária, principalmente, no ambiente de ordenha. Num surto de *S. uberis* pode-se observar o isolamento do agente em grande número das camas e fezes dos animais, assim como do úbere, teto, lábios, parede abdominal, parede torácica, vagina, cauda, leite e narinas dos bovinos (Bramley 1982 e 1984).

As infecções intramamárias com *S. uberis* não são do tipo contagiosa, uma vez que o microrganismo não passa de vaca para vaca durante a ordenha, entretanto, dependendo do grau de contaminação dos tetos, pode haver transmissão do agente entre os animais ou através de material contaminado (King, 1981). Segundo este autor a maior incidência de infecções por este patógeno ocorre em vacas secas. Falhas na desinfecção de tetos para prevenir a infecção em vacas em lactação sugerem a hipótese que a infecção é, primariamente contraída, seguida de contaminação dos tetos para o ambiente entre as ordenhas; a passagem da bactéria de tetos infectados para não infectados é de menor importância, sendo que a falha para a prevenção da infecção por *S. uberis*, principalmente no pós-dipping, é devido à diferente ecologia do microrganismo. Segundo Bramley (1984) a contaminação do teto não é influenciada por este procedimento porque a contaminação ocorre muito tempo após a desinfecção, no intervalo entre as ordenhas.

A mamite clínica por *S. uberis* é mais freqüente nas cinco primeiras semanas de lactação.

Normalmente ela se apresenta sob forma subclínica, podendo também apresentar-se com manifestações clínicas suaves ou agudas, tanto em vacas secas como em lactação; em alguns casos a doença clínica pode ser severa e a pirexia pode estar presente. Na vaca seca a infecção aguda por *S. uberis* pode ser confundida por microrganismos envolvidos na "mamite de verão" (Bramley, 1984).

Robinson *et al.* (1985) observaram em estudos que novas infecções de *S. uberis* foram mais freqüentes no período seco e no pré-parto, sendo esta bactéria encontrada na pele do teto após 21 dias da secagem (Eberhart 1986).

Entre as medidas recomendadas para o controle das mamites produzidas pela maioria dos organismos estão incluídas as medidas higiênicas. Segundo Grant & Finch (1996) estes procedimentos não são eficazes contra as IMI produzidas por *S. uberis*, sendo necessário conhecer as interrelações entre este agente e os mecanismos de defesa da glândula mamária. Os fatores de virulência associados à patogenia das infecções produzidas pelos *S. uberis* não estão bem definidos devendo ser considerada a habilidade do microrganismo para infectar a glândula mamária, habilidade esta que é dependente de sua capacidade de multiplicar no leite e de resistir a fagocitose pelas células leucocitárias (Leigh *et al.*, 1994; Matthews *et al.*, 1994; Thomas *et al.*, 1994). Além disso, esta bactéria tem a capacidade para ligar-se às proteínas plasmáticas do leite (Lincoln & Leigh, 1998) e este poderia ser um dos mecanismos de resistência aos antimicrobianos (King, 1981; Bramley, 1984).

2.3.4 - Coliformes

Bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes*, estão envolvidas nas mamites classificadas como ambientais, sendo de difícil controle através das medidas utilizadas rotineiramente para a prevenção e controle das IMI produzidas por estafilococos e estreptococos (Fang & Pyorala, 1996; Silva *et al.*, 1998). Os quadros clínicos são locais ou sistêmicos e são causadas pela liberação de endotoxinas. Vacas no período inicial de lactação são mais susceptíveis às infecções por coliformes (Cebra *et al.*, 1996).

Os coliformes, segundo Hogan *et al.* (1989), representam a principal causa de mamites subclínicas e clínicas em rebanhos bem manejados que apresentam baixas contagens de células somáticas. Estes microrganismos têm grande habilidade para sobreviverem e multiplicarem em locais fora da glândula mamária, especialmente na cama, favorecendo a contaminação do teto por bactérias do grupo coliforme, principalmente, no intervalo entre ordenhas. Sob certas condições a ordenha mecânica pode induzir a um aumento dos níveis de contaminação do leite por estes patógenos e levar a novas infecções, como por exemplo, através das flutuações irregulares do vácuo durante o processo de ordenha.

Práticas como o pós-dipping e terapias de vacas no período seco não são eficientes para diminuir o nível de infecção no rebanho. A manutenção de níveis baixos de contaminação por coliformes na cama, na ordenhadeira e nos ambientes de ordenha, torna-se, portanto, um efetivo método de controle para estes microrganismos (Bramley & Neave, 1975; Robinson *et al.*, 1985; Jones, 1990). Associando-se a este procedimento, tratamentos com antimicrobianos são também recomendados, embora existam questionamentos quanto à sua eficácia (Fang & Pyorola, 1996; Silva *et al.*, 1998).

2.3.5 - *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa é responsável por menos de 1% das mamites em rebanhos bovinos leiteiros e raramente estas infecções atingem níveis como 3%; surtos, entretanto, tem sido registrados (Packer, 1977). Este microrganismo é considerado um saprofita comum, sendo isolado de ambientes onde existem bovinos, principalmente da água usada para lavagem dos equipamentos de ordenha (Kirk *et al.*, 1984). Por outro lado, esta bactéria pode estar associada a ocorrência de mamites, por contaminação da glândula, como consequência do uso de antibióticos aplicados por via intramamária (Schalm *et al.*, 1967).

A infecção por este agente tem a patogenicidade similar à mamite por coliformes e uma severa toxemia pode ocorrer. A infecção pode, entretanto, resultar em mamite subclínica com o patógeno persistindo na glândula mamária (Kirk *et al.*, 1984; Quinn *et al.*, 1994).

Kirk *et al.* (1984) descreveram um surto de mamite sem manifestação clínica no Estado de Michigan (EUA), onde a prevalência de infecções causadas por *P. aeruginosa*, foi da ordem de 36%, segundo os resultados obtidos através da bacteriologia do leite destes animais. As perdas econômicas foram estimadas em 10,3% da produção de leite. Tratamentos antimicrobianos realizados apresentaram resultados não conclusivos devidos as constantes reinfecções, pela persistente presença da *P. aeruginosa* na água usada para limpeza dos equipamentos e ambientes de ordenha.

2.3.6 - *Corynebacterium bovis*

O *C. bovis* é considerado por alguns autores como patógeno menor, de importância secundária na etiologia da mamite bovina, ou ainda, como comensal do úbere de bovinos, capaz de protegê-lo quando da invasão de outros microrganismos mais específicos (Bramley, 1975; Bramley *et al.* 1976; Lam *et al.*, 1997), como por exemplo de *S. aureus* e *S. agalactiae*.

Honkanen-Buzalki *et al.* (1984) observando a dinâmica da infecção intramamária por *C. bovis* concluíram que este agente não protege o úbere contra invasão de outros patógenos, ao contrário, a infecção pode desaparecer quando patógenos de maior importância invadem a glândula. Em fazendas produtoras de leite onde não é feita a desinfecção dos tetos após ordenha, o *C. bovis* é o microrganismo mais freqüentemente isolado em amostras de leite colhidas assepticamente. Pouco se conhece sobre as respostas às terapias intramamárias utilizadas contra as infecções produzidas por *C. bovis*, procedimento recomendado, principalmente, através da terapia antimicrobiana de vacas no período seco (Bramley *et al.*, 1976). Costa *et al.* (1985) de 550 amostras de *Corynebacterium* sp. isoladas de leite de vacas com mamite encontraram maior sensibilidade à cefalosporina (100%), seguida da eritromicina, cloranfenicol, gentamicina, canamicina, tetraciclina, carbenicilina, e tobramicina (97 a 80%). Não foi observada resistência máxima (100%) aos antimicrobianos nas amostras de *Corynebacterium* sp. estudadas.

Tetos infectados com *C. bovis* possuem elevado número de células somáticas e, desta maneira, devido a média leucocitose produzida na glândula ou a redução da probabilidade da penetração da bactéria no canal do teto, podem ser mais resistentes as novas infecções por outros

patógenos (Honkanen-Buzalki *et al.*, 1984; Ngatia *et al.*, 1991; Lam *et al.*, 1997).

2.4 - Microrganismos envolvidos com a ocorrência de mamite subclínica no Brasil:

Bottino & Hipólito (1973), analisando 500 amostras de *Escherichia coli*, isoladas do leite de animais com mamite clínicas na região do Vale do Paraíba (SP) encontraram uma frequência de 24,2% de amostras de *E. coli* consideradas enteropatogênicas, possivelmente relacionadas com casos de gastroenterite infantil, com predominância do tipo sorológico O119:B14. Estes dados revelam, mais uma vez, o papel relevante do leite como veículo de microrganismos potencialmente patogênicos para o ser humano, sendo um problema sério de Saúde Pública.

Ferreiro *et al.* (1981) de 1007 lactoculturas de quartos com mamite clínica e subclínica, realizadas em 27 municípios da Zona da Mata de Minas Gerais encontraram 77,56% de amostras positivas. Entre as amostras positivas, as bactérias da família *Micrococcaceae* foram as mais frequentes (51,05%), estando o *S. aureus* presente em 30,49%, *S. epidermidis* com 16,09% e o *Micrococcus spp* 4,47%. Os *Streptococcus spp* foram isolados puros em 21,54% das amostras, sendo 11,82% *S. agalactiae*, 5,36% *S. dysgalactiae* e 3,57% *S. uberis*. Foram isolados 1,39% de *Corynebacterium spp*, 1,3% de bactérias Gram negativas. Em relação a Minas Gerais, Ferreiro *et al.* (1981) ressaltam que Figueiredo (1962) já encontrara uma predominância de 57,4% de *S. aureus* no município de Betim.

Silva *et al.* (1983) encontraram uma frequência de infecções por *S. aureus* e *S. uberis*, de 83,6% e 13,9% respectivamente, em Florestal - Minas Gerais.

Nader Filho *et al.* (1984) na região de Jaboticabal, São Paulo encontraram a seguinte frequência de microrganismos: 56% da família *Micrococcaceae* em culturas mistas ou puras sendo o *S. aureus* em 38%, *S. epidermidis* em 18%. *Streptococcus spp* foram isolados em 34 % dos cultivos, enquanto que a *E. coli* e o *Corynebacterium pyogenes* foram isolados em 12 e 6% dos casos de mamite subclínica, respectivamente.

Langoni *et al.* (1991) no período de 1986-1988 examinaram 702 amostras de leite bovino com

mamite subclínica e encontraram os seguintes resultados: isolaram 802 microrganismos em cultura pura e em associação, como se segue: *S. aureus* 35,5%; *S. epidermidis* 23,2%; *C. bovis* 9,2%; *C. pyogenes* 4,5%; *S. uberis* 4,4%; *S. dysgalactiae* 3,4%; *Candida albicans* 3,4%; *S. agalactiae* 3,2%; *E. coli* 2,9%; *Pseudomonas aeruginosa* 2,4%; *Klebsiella sp* 2,1%; *Alcaligenes faecalis* 2,0%; *Proteus mirabilis* 1,4%; *Pasteurella multocida* 1,3%; *Micrococcus sp* 0,4%; *Salmonella sp.* 0,3%; *Acinetobacter calcoaceticus* 0,3%; *Nocardia asteroides* 0,3% e *Enterobacter agglomerans* 0,1%.

Costa *et al.* (1995a) obtiveram de 78% de amostras de leite positivas de animais com mamite no Estado de São Paulo e Minas Gerais os seguintes resultados: 34,0% de *Staphylococcus spp.* 28,0% de *Streptococcus sp.*, e 21,8% de *Corynebacterium spp.* A ocorrência de bactérias dos gêneros da família Enterobacteriaceae foi de 1,8% nas amostras isoladas, sendo o gênero *Klebsiella* o principal causador (0,9%).

Brito *et al.* (1998) registram em 48 rebanhos, na região da Zona da Mata - MG, altos índices de contaminação por *C. bovis* entre animais apresentando reações ao CMT entre 1+ e 3+. Entre os patógenos de maior importância com maior frequência de isolamentos dos quartos infectados destacam *S. aureus*, SCN e *S. agalactiae*.

Langoni *et al.* (1998) em estudo sobre a etiologia das mamicas subclínicas, realizado em 42 propriedades rurais no estado de São Paulo assinalam as seguintes frequências de microrganismos Gram positivos isolados das IMI: *S. aureus* (22,5%), *Staphylococcus spp* incluindo os SCN (32,7%), *Streptococcus spp.* (18,3%), *C. bovis* (16,0%) e a presença de bacilos Gram positivos (1,0%).

2.5 - Controle das mamicas

Os programas de controle de mamite tem como objetivo diminuir a prevalência da doença mantendo-a em níveis aceitáveis, uma vez que sua erradicação não parece ser uma meta atingível (NMC, 1987; Bramley & Dodd, 1984).

Algumas das práticas mais recomendadas em programas de controle de mamite são: higienização dos tetos, através da lavagem e secagem antes das ordenhas, manutenção regular dos equipamentos de ordenha, uso de

desinfetantes antes da ordenha (pré-dipping) e após (pós-dipping), estabelecer linha de ordenha, tratamento apropriado dos casos clínicos e subclínicos, tratamentos das vacas secas e descarte de vacas com mamite crônica (Natzke, 1981; Philpot, 1984).

O pré e o pós-dipping têm a finalidade de reduzir a população bacteriana no revestimento externo do teto antes e após a ordenha, controlar a colonização bacteriana no orifício do teto e prevenir lesões (Pankcy *et al.* 1984; Fox, 1992). Esta prática, entretanto, não tem sido eficaz para o controle de alguns tipos de IMI, principalmente aquelas causadas por coliforme e *S. uberis* (Fang & Pyorola, 1996).

A terapia de mamite com antimicrobianos visa auxiliar as defesas do hospedeiro eliminando os patógenos. O sucesso terapêutico, porém, pode ser melhor avaliado pela redução dos sintomas clínicos da doença do que pela eliminação total do microrganismo, uma vez que vários fatores estão envolvidos com a eficiência da resposta da glândula mamária no processo de eliminação do agente como, por exemplo, a diluição no leite dos fatores de defesa do hospedeiro durante o período de lactação. Estes fatores de defesa endógenos podem ser específicos como as imunoglobulinas produzidas pelos linfócitos B, linfócitos T, fagócitos (leucócitos polimorfonucleares, macrófagos), componentes do sistema de complemento, e não específicos como lactoferrina, lactoperoxidase, lisozimas. Por outro lado, certos fatores de virulência de alguns microrganismos dificultam a ação de resposta de defesa da glândula mamária. Amostras de *S. aureus* formam uma cápsula viscosa de polissacarídeos como proteção. É possível encontrar nas superfícies de estafilococos e estreptococos uma proteção composta de proteínas do hospedeiro, como a caseína, fibrinogênio e imunoglobulinas. Hemolisinas ou hemotoxinas são produzidas pelo *S. aureus*; vários *Streptococcus* produzem substâncias citolíticas que impedem a fagocitose. Os microrganismos podem aderir aos tecidos, protegendo-se do fluxo da saída do leite durante as ordenhas. Os principais fatores de virulência dos microrganismos causadores das mamites estão relacionados à sua sobrevivência e crescimento no interior da glândula mamária (Erskine *et al.*, 1992).

Durante a lactação o medicamento ideal a ser usado por via intramamária deve causar a mínima irritação à glândula, ter baixa concentração inibitória, baixo grau de ligação com o leite e o tecido glandular, quimicamente pouco ionizado, lipossolúvel, de liberação rápida após aplicação e baixa persistência na glândula (Sumano & Ocampo, 1992; Costa *et al.*, 1996). Deve-se salientar, ainda, que a eficácia dos tratamentos depende do tempo de permanência da droga no leite dentro do úbere, para que possa agir de forma eficiente contra os patógenos.

Tratamentos das IMI devem ser precedidos por testes de susceptibilidade a antimicrobianos. No Brasil, Lange *et al.* (1996) testaram 100 amostras de *S. aureus* isolados de mamite bovina em pequenas propriedades no Rio Grande do Sul e encontraram sensibilidade de 100% das amostras à gentamicina, sulfazotrim e tiamulin; já lincomicina, oxacilina, cloranfenicol e novobiocina ficaram na faixa de 99-90%; kanamicina, tetraciclina, cefacetil e neomicina evidenciaram entre 89-80% de sensibilidade das amostras; estreptomomicina 79%; nitrofurantoína 69%; amoxicilina 53%; penicilina e ampicilina 49%. Em outro experimento, Langoni *et al.* (1991) testaram 1.753 amostras de *S. aureus* isolados de mamite, no estado de São Paulo e encontraram as seguintes percentagens de sensibilidade das amostras frente aos antimicrobianos: gentamicina 88,3%; cefalosporina 87,4%; nitrofurantoína 79,8%; cloranfenicol 78,5%; neomicina 74,8%; eritromicina 62,1%; sulfazotrim 58,7%; lincomicina 51,5%; kanamicina 48,3%; ampicilina 39,5%; tetraciclina 35,7%; estreptomomicina 17,3% e penicilina G 12,8%. Em Minas Gerais, Cardoso (1999) encontrou que os antimicrobianos mais efetivos ou seja, aqueles que conseguiram inibir o crescimento de 100% a 95% das amostras de *S. aureus* isoladas de leite foram: cefotaxima (100%), enrofloxacina (98,4%), gentamicina (98,4%) e rifampicina (96,1%), ressaltando-se que nenhuma das amostras apresentou resistência aos três primeiros. Outros antimicrobianos, como a cefalotina (92,1 %), cloranfenicol (90,4 %), cefoperazona (89,6 %), oxacilina (87,4 %), sulfazotrim (86,6 %) e novobiocina (85,8 %), apresentaram bons resultados de sensibilidade das amostras testadas.

Resultados como estes sugerem que os tratamentos das infecções da glândula mamária,

baseados em testes de susceptibilidade, devem seguir alguns critérios. Entre eles pode-se citar que os melhores resultados das terapias das mamites, são obtidos pela infusão intramamária de suspensões contendo drogas específicas, para serem usadas em um determinado período, como no período seco. Outro critério foi apresentado por Davidson (1980) ao NMC, após cinco anos de estudos, para que os tratamentos de mamite, baseados na percentagem de susceptibilidade dos patógenos frente aos antimicrobianos, devem seguir os seguintes padrões: 100-80% de sorotipos susceptíveis, são consideradas sem resistência, 79-45% resistência parcial e de 44-0% resistentes. Por outro lado as possibilidades de combinações entre antimicrobianos, desde que não tenham ações antagonicas e que apresentem diferentes mecanismos de ação, principalmente bactericida, apresentam amplas vantagens (Thornsberry *et al.*, 1997; Watts & Salmon, 1997).

Os custos com diagnósticos, medicamentos, descarte do leite e a taxa de "cura" bacteriológica muitas vezes inferior a 50%, principalmente em infecções por *S. aureus*, fazem com que os tratamentos de mamite subclínica na lactação sejam considerados antieconômicos por muitos pesquisadores. Em alguns casos, entretanto, o uso da chamada "blitz terapia", isto é o mapeamento do rebanho e o tratamento de todas as vacas com mamite subclínica em lactação, demonstrou ser economicamente viável, apresentando relação custo/benefício favorável. Isto é evidenciado em fazendas onde é alta a perda da produção de leite pela maior prevalência da doença ou quando há rejeição total do leite na usina de beneficiamento, por estar fora dos padrões de qualidade, como por exemplo, o elevado número de células somáticas. Paralelamente à eliminação dos casos já estabelecidos através da terapia devem ser incorporadas outras medidas de controle visando reduzir o índice de mamite na propriedade e prevenir a ocorrência de novos casos (Tyler *et al.*, 1992; Sol *et al.*, 1995; Costa *et al.*, 1998).

Sob o aspecto econômico, Wilson *et al.* (1986) consideram que os tratamentos de vacas com mamite subclínica, durante a lactação, só terão impactos econômicos se proporcionarem o rápido retorno destes animais para produzir leite de qualidade. Nesta linha, modelos simulados para tratamentos para o controle de mamites subclínicas, baseados na curva de lactação,

demonstraram os benefícios econômicos de tratar vacas no início ou meio do período de lactação, sendo estes resultados superiores aos observados em vacas tratadas ao final da lactação. Estes modelos simulados são, entretanto, questionados por Tyler *et al.* (1992) uma vez que não levam em consideração o impacto de manter animais infectados, como reservatórios da doença, dentro dos planteis leiteiros.

Tentativas de tratamento das mamites subclínicas apresentam resultados variáveis quanto ao sucesso das terapias. Tratamentos realizados por Ratnakumar *et al.*, 1996, realizados na fase inicial de lactação, em vacas infectadas por *S. aureus*, *E. coli* e *Proteus spp.*, apresentaram índices de recuperação entre 85% e 79%, após tratamentos com cloranfenicol e gentamicina, respectivamente.

McDermontt *et al.* (1983) realizaram estudo sobre análise custo/benefício do tratamento de mamite subclínica durante a lactação tendo como indicação para tratamento a contagem de células somáticas. Um grupo de 103 vacas com CCS acima de 400.000 céls/ml recebeu infusões intramamárias com cefapirin em todos os quartos com (duas aplicações em 24 horas). *S. aureus*, *S. agalactiae*, *Streptococcus spp* e coliformes foram responsáveis pelas mamites subclínicas. Não observaram diferenças quanto a produção de leite dos animais tratados e controle, principalmente em animais que apresentaram altas CCS. Concluíram que a terapia intramamária de vacas em lactação, baseada em CCS, não é recomendada quando o número de células somáticas do leite está abaixo de 400.000 céls/ml. Segundo Beaudeau *et al.* (1998) existe uma associação entre CCS superiores a 400.000/ml e o risco de mamites clínicas.

Bramley (1984) registra uma taxa de "cura" bacteriológica superior a 70% após tratamentos de infecções intramamárias produzidas por *S. uberis*, utilizando produtos à base de cefalosporinas por via intramamária.

Wilson *et al.* (1986) trataram animais com mamite clínica utilizando uma dose de 250 mg de cefoperazona aplicada intramamária e obteve 69% de cura. Segundo estes autores a introdução de uma única dose do medicamento representa um avanço para a terapia da mamite por ser simples e rápido o tratamento. Os animais foram considerados curados quando não houve crescimento bacteriano do patógeno original nas

amostras de leite analisadas 14 dias após o tratamento.

Buragohain & Dutta (1989) trataram 19 casos de mamite subclínica em diferentes estágios de lactação observaram que após o tratamento a média de leite aumentou em 0,89 l/vaca/dia. Considerando que uma lactação tem uma duração média de 305 dias, o tratamento mais bem sucedido foi das vacas com mamite subclínica no início da lactação. Neste grupo de animais foi observado um aumento considerável na produção de leite dos animais no início de lactação.

Seymour *et al.* (1989) também realizaram tratamento de vacas com mamites subclínica, durante a lactação, baseados em altos escores de CCS no leite e também não observaram diferenças significativas quanto ao aumento de produção de leite em vacas tratadas, assim como em relação às CCS ou ao "status" de infecção nas vacas. Relatam, entretanto, que o grupo tratado apresentou 70% de "curas" enquanto que no grupo controle apenas 50% das infecções foram eliminadas.

Owens *et al.* (1993) compararam a eficácia de três antimicrobianos para o tratamento de casos subclínicos de mamites. Os tratamentos consistiram do uso da Norfloxacin (10mg/kg/pv) por via sistêmica, Oxitetraciclina de longa ação também por via sistêmica e Cephapirin por via intramamária. Após os tratamentos observaram diminuição das infecções apenas no grupo tratado com Norfloxacin, assim como uma redução nos índices de novas infecções nos dois grupos que receberam antibióticos sistêmicos. O espectro antimicrobiano, as propriedades da distribuição e a meia-vida da Norfloxacin fizeram deste composto um promissor candidato ao tratamento das mamites subclínicas. Segundo o autor este produto, não é correntemente utilizado em animais produtores de leite e sugerem a realização de estudos para documentar a segurança, eficácia e possíveis recomendações para sua utilização.

Owens *et al.* (1994) em experimento realizado em dois rebanhos leiteiros separaram novilhas com infecções intramamárias, entre 6 a 12 semanas antes do parto, dividindo em dois grupos: grupo tratado e grupo controle. Dezoito novilhas, correspondendo a 25 quartos infectados por *S. aureus*, foram tratadas com dose única,

com um produto comercial usado para tratamento de vaca seca, contendo 300 mg de Cephapirin Benzatine. Os dois grupos foram analisados semanalmente até a parição. Vinte quatro dos 25 quartos (96%) infectados por *S. aureus* tiveram a cura. Dos 23 quartos infectados do grupo controle houve uma cura espontânea e ocorreram duas novas infecções. Quatro quartos do grupo tratado com infecções por *Streptococcus spp* também foram curados, entretanto, ocorreram 11 novas infecções por *Streptococcus spp*. Estas 11 novas infecções foram tratadas durante a lactação com um produto comercial (à base de Cephapirin Benzatine) usado para tratamento de vacas em lactação e dez delas foram recuperadas (91%). O grupo controle apresentou quatro tetas com infecção inicial por *Streptococcus spp*. Neste grupo, ocorreram 19 novas infecções em período anterior ao parto. Deste total houve uma cura espontânea e 22 quartos foram tratados durante a lactação, com o mesmo produto comercial, obtendo-se 100% de "curas". Trinta e uma infecções por SCN estavam presentes inicialmente no grupo tratado e, após tratamentos, cerca de 28 (90%) destas infecções foram curadas. No segundo rebanho todos os quartos infectados foram tratados com Cephapirin por via intramamária. Neste grupo só ocorreu uma nova infecção por *S. aureus*, quatro novas infecções por SCN, uma por coliforme e nenhuma nova infecção por *Streptococcus spp*. Segundo os autores, o produto utilizado propiciou proteção para novas infecções, particularmente com respeito aos *Streptococcus spp*. A infusão intramamária com Cephapirin, anteriormente ao parto, resultou em alto nível de "cura" em todas as infecções monitoradas. Mais de 90% de todas as infecções tratadas com este antimicrobiano foram curadas antes do parto e permaneceram assim durante dois meses. Os autores ressaltam a importância deste fato para a recuperação de quartos infectados por *S. aureus*.

Sol *et al.* (1997) assinalam que a "cura" de animais com infecções subclínicas produzidas por *S. aureus* está relacionada com a idade das vacas, CCS e duração do tratamento, presença da infecção nos quartos anteriores e o período de lactação. Salientam a importância da seleção de animais a serem tratados e a importância do tratamento das IMI produzidas por *S. aureus* em rebanhos com problemas de altas CCS. Descrevem, ainda, uma equação para determinar

qual a taxa estimada para a recuperação de mamites subclínicas por *S. aureus* e tratadas durante a lactação. Estes autores consideraram as IMI "curadas" após duas culturas bacteriológicas negativas, realizadas nos dias 16 e 30 após o tratamento. Em alguns casos, após 30 dias, alguns quartos considerados não "curados" voltaram a apresentar IMI por *S. aureus*.

Friton *et al* (1998) realizaram um experimento onde 101 animais, totalizando 197 tetos com mamite subclínica de 23 rebanhos diferentes, foram selecionados para tratamentos com diferentes antimicrobianos. *S. aureus* foi a bactéria predominantemente isolada. No Grupo I consistindo de 27 animais e 50 tetos infectados foram realizados tratamentos por via intramamária com Cefalosporina (250 mg de Cefacetil Sódico). No Grupo II (26 animais/50 quartos) foram tratados por via intramuscular com 10 milhões UI de Penetamathydrojodid e com 5 milhões de UI, respectivamente. O Grupo III foi tratado com a combinação de terapia intramamária e intramuscular de ambos os grupos mencionados. O grupo IV serviu de controle. Vinte e três animais com 36 tetos com mamite subclínica foram tratados intramuscular com dois ml de solução salina estéril (placebo). O sucesso da terapia foi controlado por exames bacteriológicos e CCS dos tetos infectados na 1, 2 e 4 semanas após o fim do tratamento. O grupo III em ambas as terapias (intramamária e intramuscular) obteve 72,9% de eliminação da bactéria patogênica; a terapia intramuscular teve índice de recuperação de 36,7%.

3. MATERIAL E MÉTODOS:

3.1 - Animais trabalhados

Foram utilizados 53 vacas em lactação da raça Holandesa e mestiças em lactação de três rebanhos diferentes, localizados nos municípios de Matozinhos - MG (Rebanho A), Confins - MG (Rebanho C) e Betim - MG (Rebanho B), com média de produção de 6.000kg leite/lactação e período de lactação em torno de 300 dias. Os animais são ordenhados em sala de ordenha através de ordenhadeiras mecânicas com capacidade para 12 animais. São realizadas duas ordenhas ao dia (Rebanhos B e C) e três vezes ao dia (Rebanho A). Em duas propriedades (A e B) os animais são mantidos em regime de estabulação completa e na propriedade C em regime de semi-estabulação. Os animais recebem

alimentação de concentrados no momento da ordenha e volumosos, após ordenha. Em todos os rebanhos existem registros zootécnicos de produção e tem assistência técnica veterinária. Os equipamentos de ordenha, assim como o seu funcionamento, foram monitorados durante a realização deste experimento.

O controle de mamite é feito, regularmente, antes da ordenha através da realização de testes de caneca de fundo escuro, higienização do úbere por meio de lavagem e desinfecção com cloro a 2% . secagem com papel toalha e imersão dos tetos após a ordenha (pós-dipping) em solução à base de solução iodo-glicerina a 1% ou clorhexidine 0,5%. Periodicamente realiza o Califórnia Mastitis Test (CMT) de todas as vacas em lactação. Utiliza-se o tratamento de vacas secas. Os casos clínicos de mamite, quando ocorriam eram tratados, conforme indicações do veterinário responsável.

O histórico de mamites destes rebanhos, conforme registros nas propriedades, apresentaram dados de baixa prevalência de 2 a 5% de mamites clínicas e entre 20 a 30% de mamites subclínicas, conforme resultados dos testes de C.M.T. No rebanho A, existiu o registro de um surto de mamite ambiental por coliformes no ano de 1998.

3.2 - Diagnóstico de mamite subclínica

Os animais após avaliação clínica foram identificados primeiramente através da realização do teste do C.M.T., antes da ordenha, utilizando um reagente comercial (CMT- FATEC - Laboratório FATEC - SP), conforme recomendações de Schalm & Noorlander (1957). Foram considerados positivos os animais que apresentavam reações classificadas entre 1+ e 3+, segundo o quadro I.

As amostras de leite destes animais foram colhidas, assepticamente, em tubos de ensaio com capacidade para 15 ml com tampa de rosca, estéreis, previamente identificados, após desinfecção dos tetos com álcool 70% imediatamente antes da ordenha. O leite colhido foi remetido ao laboratório de Doenças Bacterianas do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG, sob refrigeração.

No laboratório foram retiradas após homogeneização, de forma asséptica, 5 ml de leite de cada tubo para a realização da Contagem

Células Somáticas (CCS), através da microscopia de preparações coradas, segundo Silva (1977).

As amostras de leite foram previamente incubadas em estufa a 37°C durante 12 horas. Após este período foram semeadas com alça de platina, em placas de ágar sangue de ovino desfibrinado a 7,5%, e incubadas em estufa a temperatura de 37°C por um período de 24-48 horas. Nas placas onde houve crescimento, as colônias foram analisadas quanto ao tamanho, produção de hemólise e coloração. Posteriormente foi realizada prova tintorial pelo método de Gram para análise da morfologia e coloração, através de microscopia (aumento de 1000x).

Os microrganismos com características de cocos Gram positivos, hemolíticos ou não, foram submetidos à prova de catalase, segundo Quinn *et al.* (1994). Os cocos classificados como catalase positivo ou catalase negativo foram semeados em tubos contendo o meio líquido BHI (Brain Heart Infusion Broth – Oxoid-EUA) e incubados em estufa a 37°C/24 horas; após este período foram submetidos às provas bioquímicas para identificação.

Após incubação e verificação de crescimento, os cocos com morfologia de cachos e catalase positivos foram submetidos às provas de produção da enzima coagulase; em cocos classificados como Coagulase-positivo realizou-se a prova de acetoina para identificação de *Staphylococcus aureus* (Kloos & Laambe, 1991; Quinn *et al.*, 1994).

Os cocos em cadeia e catalase negativos foram submetidos às seguintes provas bioquímicas para identificação das bactérias do gênero *Streptococcus*: Fermentação de esculina, hidrólise de Hipurato de sódio, utilização de salicina e CAMP Test, seguindo as recomendações de Quinn *et al.* (1994).

As bactérias com morfologia de bastonetes Gram positivos e catalase positivos foram classificadas como pertencentes ao gênero *Bacillus spp*, não sendo identificadas por provas bioquímicas.

Microrganismos classificados como Bacilos Gram Negativos (BGN) foram submetidos à prova de Oxidase e posteriormente identificados através de provas bioquímicas (Quinn *et al.*, 1994).

3.3 - Susceptibilidade *in vitro* dos microrganismos isolados frente a antimicrobianos

A susceptibilidade *in vitro* frente aos antimicrobianos foi realizada pelo método de difusão em disco, conforme técnica descrita por Bauer *et al.* (1966). As amostras previamente identificadas foram semeadas em caldo BHI e incubadas por 24 horas a 37°C. Após a incubação realizou-se a padronização do inoculo, através de diluição da amostra em solução salina estéril a 0,85%, usando a escala bacteriológica de MacFarland, à turbidez de 0,5 (Bier, 1984). Após a padronização foram feitas as semeaduras das amostras em ágar Muller-Hinton (Oxoid-EUA) usando “swabs” estéreis, seguida de pré-incubação a 37°C por 30 minutos. Após a pré-incubação fez-se a deposição dos discos de antimicrobianos (Lab. CECON – SP) das seguintes bases: gentamicina (10 µg), lincomicina (2 µg), neomicina (30 µg), novobiocina (30 µg), cefoperazona (30 µg), cefalotina (30 µg) e oxacilina (5 µg). A leitura foi realizada após 24 horas de incubação em estufa a 37°C. As zonas de inibição foram medidas em milímetros e a amostra classificada como resistente, intermediário ou sensível, conforme tabela descrita pelo laboratório fabricante dos discos. Estas bases de antimicrobianos foram selecionadas por estarem presentes entre os produtos comerciais mais utilizados para tratamentos de mamites.

3.4 - Tratamentos das mamites subclínicas

Após a identificação dos animais com mamites subclínicas, nos três rebanhos, estes foram separados em grupos de acordo com a fase de lactação (Quadro II). Isto foi possível devido ao fato de não se alterar o manejo destes animais ou as práticas de controle de mamites. Foram tratados apenas animais entre 15 e 200 dias de lactação, segundo Tyler *et al.* (1992) com base na bacteriologia positiva e reações ao CMT entre 2+ e 3+, portanto com altas CCS, segundo indicações de Seymour *et al.* (1989).

Nas três propriedades foram tratados 86 tetos infectados de 39 animais através de infusão intramamária de 250 mg de Cefacetil Sódico (cefalotina) Vetimast*. Esta droga foi selecionada entre aquelas que apresentaram

* Lab. NOVARTIS BIOCÊNCIAS S.A. - SP. Brasil

sensibilidade acima de 80%, segundo indicações de Davidson (1980), e pela sua disponibilidade no momento de realização do experimento. As aplicações foram realizadas, logo após as ordenhas, de forma que o produto permaneceu dentro da glândula por um período de 24 horas (Quadro III). No rebanho A, que realiza três ordenhas diárias, os animais receberam três aplicações intervaladas de 8 horas. Nos demais os animais receberam duas aplicações intervaladas de 12 horas. Vinte e oito tetos de 14 animais infectados não foram tratados (grupos III e IV - controle). Recomendou-se o descarte de leite das tetas tratadas por conter resíduos de antibióticos por um prazo de 48 horas. O grupo de animais tratados e não tratados foram testados nos dias 14, 25 e 40, após o início do tratamento, através das provas de CMT, CCS, isolamento e identificação do patógeno. Para avaliar o efeito do tratamento sobre a produção de leite foi realizada a pesagem da produção individual de cada animal, dentro de cada grupo, durante os cinco dias que antecederam ao tratamento e nos dez dias posteriores. Comparou-se a produção de leite de cada animal antes, 10 e 20 dias após os tratamentos das mamites subclínicas.

3.5 - Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através das médias das contagens de células somáticas e das médias de produção de leite, dos grupos tratados e controle, por métodos não paramétricos de Kruskal-Wallis e pelo teste t de Student, segundo Sampaio (1998).

Teste não paramétrico de kruskal-wallis com 4 grupos:

Valor de S2 = 150,4756 Valor de H = 4,4682

Valor da ordenação média por grupo:

Grupo	Ordem média
1	27,46
2	19,25
3	18,91
4	18,29

Valores do Teste t de Student obtidos nas comparações das ordenações médias entre os grupos:

t (1x2)	igual a 1,38
t (1x3)	igual a 1,90
t (1x4)	igual a 1,63
t (2x3)	igual a 0,06
t (2x4)	igual a 0,14
t (3x4)	igual a 0,11

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Etiologia das mamites subclínicas

Considerando-se a natureza infecciosa do processo, foram feitas análises microbiológicas de amostras de leite de vacas pertencentes a três rebanhos bovinos (Rebanhos A, B e C), localizados em três municípios (Matozinhos, Confins e Betim) do estado de Minas Gerais, que apresentaram altas contagens de células somáticas, detectadas através de reações ao CMT. Os resultados destas análises encontram-se na Tabela 3. Entre os patógenos isolados, estafilococos como o *S. aureus* e SCN, foram os microrganismos mais frequentes (43,14%), seguidos por Bacilos Gram positivos, *C. bovis*, *S. uberis* e *E. coli*. Outros microrganismos, como *S. dysgalactiae* e *P. aeruginosa*, apesar de serem considerados como patogênicos, tiveram menor participação nas IMI nestes rebanhos. Estes resultados estão condizentes com os descritos na literatura, onde 90% a 95% das IMI são produzidas por estes organismos (Miles *et al.*, 1992; Hillerton *et al.*, 1993; Costa *et al.*, 1995b).

A importância dos estafilococos é conhecida nas infecções subclínicas da glândula mamária, principalmente os *S. aureus*, que respondem pela maioria dos casos da IMI em bovinos (Owens *et al.*, 1993 e 1994; Lam *et al.*, 1996). Estes agentes estão relacionados às perdas de produção e a problemas de saúde pública uma vez que estas infecções podem ser causadas por amostras enterotoxigênicas (Cardoso, 1999). Além disso, *S. aureus* produz infecções de difícil tratamento, razão pela qual as respostas as terapias com antimicrobianos tem sido objeto de vários estudos (Craven & Anderson, 1984; Eng *et al.*, 1991; Louhi *et al.*, 1992; Myllys *et al.*, 1992; Owens *et al.*, 1993). Neste experimento, os *S. aureus* participaram em 23,10% dos processos infecciosos subclínicos nos três rebanhos trabalhados. Estes resultados estão próximos aos descritos por diferentes pesquisadores, em trabalhos realizados no Brasil nos últimos anos que confirmam a importância destes patógenos nos processos infecciosos da glândula mamária.

Os SCN são descritos como patógenos associados aos casos subclínicos de mamite em rebanhos leiteiros (Holmberg, 1973; Pearson & Greer, 1974; Harmon & Langois, 1989). Estes microrganismos constituíram-se no segundo maior grupo de patógenos relacionados aos casos de IMI nos três rebanhos, com uma frequência de

isolamentos da ordem de 20,04%, resultados semelhantes aos descritos por Brito *et al.* (1998) e Langoni *et al.* (1998). Considerando-se a distribuição das frequências de microrganismos isolados, pode-se verificar que nos rebanhos trabalhados não existe um patógeno que prevaleça de forma preponderante, sobre os demais. Isto sugere que as práticas de manejo utilizadas nas três propriedades controlam de forma consistente as IMI produzidas por patógenos de maior importância como *S. aureus* e *E. coli*, mesmo considerando-se que são rebanhos com bons níveis de produção leiteira. Este controle possivelmente favoreceu a maior presença dos SCN nesses rebanhos, como expressam Harmon & Langois (1989), e podem ser classificados como patógenos oportunistas.

O *C. bovis* é considerado por alguns autores como patógeno secundário na etiologia da mamite bovina (Bramley, 1975; Bramley *et al.* 1976) relacionado aos casos de infecções de canal do teto ou subclínicas da glândula mamária (Bramley, 1975; Bramley *et al.* 1976; Langoni *et al.*, 1998). Neste trabalho, entre os três rebanhos, cerca de 12,82% dos microrganismos isolados em casos de mamite subclínica foram identificados como *C. bovis*. Em outros trabalhos realizados no Brasil a frequência de isolamentos destes microrganismos situou-se entre 1,4% e 22% (Ferreiro *et al.*, 1981; Langoni *et al.*, 1991; Costa *et al.*, 1995; Langoni *et al.*, 1998). A importância do *C. bovis*, como agente etiológico de mamite é questionada, sendo considerado mais como um comensal, capaz de proteger a glândula da invasão por outros patógenos, que propriamente dito um patógeno de importância para a glândula (Lam *et al.*, 1997). Outros autores, entretanto, observando a dinâmica da infecção intramamária por *C. bovis* concluíram que esta proteção não existe e que este patógeno tem importância relativa nos processos infecciosos do úbere, estando relacionado apenas com a elevação do conteúdo de células somáticas (Brooks & Barnum, 1984; Honkanen-Buzalki *et al.*, 1984; Ngatia *et al.*, 1991). Brito *et al.* (1998) assinalaram a importância do *C. bovis* para o monitoramento da eficácia das práticas de higienização durante a ordenha.

Entre os microrganismos isolados 17,15% foram bacilos Gram positivos, pertencentes ao gênero *Bacillus* spp. Estes microrganismos foram isolados em culturas puras e mistas e foi encontrado especialmente em uma propriedade

(Fazenda C), onde se verificou o maior número de isolamentos de *Bacillus* spp.

Microrganismos envolvidos nas mamicas de origem ambiental, como *E. coli* foram responsáveis por 11,55% das infecções subclínicas nos três rebanhos trabalhados. Estes resultados são similares aos estabelecidos para participação desta bactéria nos processos infecciosos da glândula mamária, conforme descrito por diversos pesquisadores no Brasil (Bottino & Hipolito, 1973; Ferreiro *et al.*, 1981; Nader Filho, 1984; Langoni *et al.*, 1998). Segundo Hogan *et al.* (1989), os coliformes são a principal causa de mamicas subclínicas e clínicas em rebanhos bem manejados, que apresentam baixas contagens de células somáticas. Nesses rebanhos a contaminação do teto por bactérias do grupo coliforme ocorre, principalmente, no intervalo entre ordenhas, e é favorecida pela grande presença destes microrganismos na cama e na água utilizada para limpeza dos equipamentos de ordenha (Silva *et al.*, 1998). Estas observações justificam os resultados apresentados, apesar de não se ter analisado os níveis de contaminação ambiental. De acordo com o histórico dos rebanhos, houve no ano anterior a este experimento um surto de mamite ambiental causada por *E. coli*, no rebanho A.

Outros microrganismos Gram negativos, como a *P. aeruginosa* foram isolados (2,89%) em apenas dois rebanhos (Rebanho B e C). Difícil estabelecer-se a origem destas infecções, principalmente porque não se verificou um surto de mamite por *P. aeruginosa*, com uma alta frequência, como encontrado por Kirk *et al.* (1984). A infecção por este agente tem a patogenicidade similar à mamite por coliformes e pode resultar em mamite subclínica com o patógeno persistindo na glândula mamária. Por outro lado, pode estar associada a contaminação da glândula, como consequência do uso de antibióticos aplicados por via intramamária (Schalm *et al.*, 1967; Kirk *et al.*, 1984; Quinn *et al.*, 1994).

Streptococcus envolvidos com as mamicas ambientais, como *S. dysgalactiae* e *S. uberis* foram responsáveis por 0,54% e 11,91% das mamicas subclínicas, respectivamente. Estes resultados são similares aos estudos epidemiológicos sobre a etiologia esta doença realizados em nosso meio (Ferreiro *et al.*, 1981; Silva *et al.*, 1983; Brito *et al.*, 1998; Langoni *et*

al. 1998). Langenegger *et al* (1970) e Harrop *et al.* (1975), em levantamentos epidemiológicos realizados nos Estados do Rio de Janeiro e Pernambuco, encontraram que o *S. dysgalactiae* foi responsável por 17,2% e 18,9% das mamites nas principais bacias leiteiras desses Estados, respectivamente.

Segundo Calvinho & Oliver (1998) o *S. dysgalactiae* é isolado frequentemente de IMI, entretanto, pouco se conhece sobre os fatores que contribuem para a virulência do agente, principalmente em relação à transmissão e patogenicidade. É conhecido, entretanto, que o *S. dysgalactiae* é um patógeno envolvido com as mamites ambientais e que as IMI produzidas por este microrganismo se caracterizam pela persistência da infecção e pelos baixos níveis de respostas aos programas convencionais de controle (Mano *et al.*, 1987; Almeida & Oliver, 1995).

S. uberis é considerado um patógeno comum em rebanhos leiteiros sendo responsável por cerca de 1% a 33% dos casos clínicos e subclínicos de mamites em vários países (Silva *et al.*, 1983; Bramley & Dodd, 1984; Hill, 1988; Watts, 1988; Hillerton *et al.*, 1993; Langoni *et al.*, 1998). Entre suas características está a de sobreviver fora da glândula mamária, e produzir infecções intramamárias não contagiosa. Falhas na desinfecção de tetos para prevenir a infecção em vacas em lactação sugerem a hipótese de contaminação dos tetos pelo ambiente entre as ordenhas (Bramley, 1984). A mamite por *S. uberis* é mais freqüente nas cinco primeiras semanas de lactação, fato também observado neste trabalho, onde animais que estavam entre 15 a 100 dias, tanto no grupo tratado como controle, apresentaram maiores índices de IMI produzidas por este patógeno.

Normalmente o *S. uberis* se apresenta sob forma subclínica, podendo também apresentar-se com manifestações clínicas suaves ou agudas, tanto em vacas secas como em lactação, fato não observado neste trabalho.

4.2 - Susceptibilidade dos microrganismos frente aos antimicrobianos

Entre as práticas utilizadas para o controle de mamite estão incluídas os tratamentos dos casos clínicos e subclínicos e de vacas no período seco (Natzke, 1981; Philpot 1984; Kirk *et al.*, 1994). O sucesso terapêutico depende de alguns fatores,

entre eles a susceptibilidade dos agentes patogênicos frente aos antimicrobianos, uma vez que os processos terapêuticos contra mamite visam auxiliar as defesas do hospedeiro para a eliminação dos patógenos.

Na Tab. 4 encontram-se os resultados dos testes de susceptibilidade apresentados pelos microrganismos isolados nos casos de mamites subclínica, nos três rebanhos trabalhados, frente a sete drogas comerciais, recomendadas para no tratamento de mamites. Entre os antimicrobianos testados dois deles, cefoperazona e cefalotina, apresentaram-se como os mais eficientes contra todas as amostras de microrganismos testadas. Os níveis de susceptibilidade para estas duas drogas variaram entre 80% e 100%, inclusive, por patógenos Gram negativos como *P. aeruginosa*. Antimicrobianos do grupo dos aminoglicosídeos, como a gentamicina, também apresentaram bons resultados de sensibilidade das amostras testadas, em muitos casos acima de 80%, entretanto foram pouco eficientes contra os estreptococos.

Resistências contra gentamicina são apresentadas por bactérias do gênero *Streptococcus* envolvidas em processos infecciosos da glândula mamária (Keefe, 1997). Entre os mecanismos de resistência deste grupo de bactérias frente aos antimicrobianos está sua capacidade para ligar-se às proteínas plasmáticas do leite, mecanismo verificado especialmente com *S. uberis*. Este fato é importante tratando-se desta bactéria, uma vez que a terapia das infecções é uma das medidas recomendadas para a redução das IMI produzidas por ela (King, 1981; Bramley, 1984; Lincoln & Leigh, 1998).

Os testes de susceptibilidade dos microrganismos frente aos antimicrobianos são de essencial importância para o controle terapêutico das mamites. Deve-se salientar que análises de resistência são sempre recomendadas, dado que a susceptibilidade de determinados microrganismos, como por exemplo os *S. aureus*, frente aos antimicrobianos pode ser modificada ao longo do tempo dentro dos rebanhos, seja pela introdução de novos agentes bacterianos ou pelo desenvolvimento de mutantes resistentes. Apesar do contínuo problema das mamites e dos diferentes esquemas para uso de antibióticos, tanto para tratamento como para prevenção das IMI, existe uma similaridade no tocante aos padrões de sensibilidade apresentadas frente aos

antimicrobianos pelas bactérias isoladas neste experimento e em outros realizados no Brasil (Lange *et al.*, 1996; Langoni *et al.*, 1996; Cardoso, 1999).

4.3 - Tratamento de mamite subclínica

Nas três propriedades foram tratados 83 tetos infectados de 39 animais através de infusão intramamária de uma suspensão contendo Cefacetil Sódico (cefalotina) após a ordenha. Esta droga foi selecionada entre aquelas que apresentaram sensibilidade acima de 80%. Seguindo-se os critérios propostos por Davidson (1980), ao NMC dos EUA, os antimicrobianos que inibem o crescimento de mais de 80% das amostras podem ser indicados para tratamento das IMI, principalmente porque existe uma alta correlação entre os resultados dos testes de susceptibilidade e a eficiência dos tratamentos (Cardoso, 1999).

4.4 - Efeito do tratamento sobre o isolamento de microrganismos

Os resultados da antibioticoterapia, como forma de controle das mamites subclínicas durante a lactação, foram avaliados através da redução do número de microrganismos isolados nos tetos tratados. Nas Tabelas 5 e 6 encontram-se os resultados do efeito dos tratamentos intramamários sobre os patógenos associados aos casos de mamites subclínica nos dois períodos de lactação, 15-100 dias e 101-200 dias. Verifica-se pela dinâmica das infecções que efetivamente houve uma modificação em relação ao percentual de microrganismos isolados nos períodos subsequentes ao tratamento. Observa-se mais atentamente, uma redução de 61,4% do número total de isolamentos de patógenos 14 dias após o tratamento (Tab. 7). Entre os dias 25 e 40 esta redução foi menor, verificando-se um aumento no número de isolamentos. Não se verificou a ocorrência de "curas" espontâneas entre os animais do grupo controle.

Entre os microrganismos o tratamento foi mais eficiente contra *C. bovis* e *E. coli*, encontrando-se uma redução de 84,6% e 71,4% das infecções aos 14 dias, respectivamente. O mesmo processo de aumento das IMI ocorreu após 25 e 40 dias do tratamento. Em relação aos estafilococos, a terapia antibiótica também mostrou-se eficiente nos primeiros 14 dias após a aplicação de cefalotina por via intramamária, com redução média de 61,4%. Neste caso os resultados

apresentados podem ser considerados como bons, tendo em vista que o nível de "cura" das mamites subclínicas de origem estafilocócica, durante a lactação, especialmente aquelas causadas por *S. aureus*, está estimado entre 3,6% e 92% (Bramley & Dodd, 1984; Owens *et al.*, 1993; Sol *et al.*, 1997). Muitos aspectos estão relacionados à pobre resposta das mamites por *S. aureus* à antibioticoterapia e tem sido foco de uma larga variedade de estudos no esforço de determinar quais são os fatores responsáveis por falhas na terapia, de modo que os tratamentos sejam mais efetivos no futuro (Craven & Anderson, 1984; Eng *et al.*, 1991; Louhi *et al.*, 1992; Myllys *et al.*, 1992; Owens *et al.*, 1993).

Considerados menos patogênicos que o *S. aureus* as IMI por SCN tendem a persistir durante todo período de produção. Segundo Tyler *et al.* (1992) foi observado maior resistência dos SCN aos antimicrobianos em comparação aos *S. aureus* isolados em casos de mamite. Esta mesma observação pode ser feita neste trabalho, especialmente ao se analisar a Tabela 8, quando no grupo de animais tratados no período de lactação entre 15-100 dias, o número de IMI causadas pelos SCN foi superior às produzidas pelos *S. aureus*. Após 40 dias do tratamento, estes animais voltaram a apresentar o mesmo número de tetos infectados. Não existem estudos que assinalam que a "cura" de infecções subclínicas por SCN esteja relacionada com o período de lactação, entretanto, pode-se suspeitar que tal fato ocorra, principalmente porque no caso infecções subclínicas produzidas por *S. aureus* existe esta relação (Sol *et al.*, 1997). No período de lactação entre 101-200 dias verificou-se justamente o contrário ou seja, uma maior redução das IMI produzidas por SCN que por *S. aureus* (Tab. 9). Quanto aos outros patógenos envolvidos nos casos de mamites subclínicas, dentro dos rebanhos trabalhados, observa-se que não existem diferenças tão acentuadas em relação ao período de lactação. Observa-se que o maior número de infecções produzidas por *E. coli* foram detectadas no início de lactação, período de maior susceptibilidade às infecções por coliformes (Cebra *et al.*, 1996; Silva *et al.*, 1998). Neste período os índices de redução das IMI por *E. coli* foram inferiores aos verificados no grupo de animais com mais de 100 dias de lactação.

Existem dois critérios bacteriológicos propostos para avaliar o nível de "cura" das infecções da

glândula mamária após tratamentos com antimicrobianos. Wilson (1986) considera que uma cultura bacteriológica negativa após 14 dias é suficiente para avaliar a recuperação da glândula, entretanto, Sol *et al.* (1997) sugerem duas culturas negativas entre os dias 14 e 30. Estes autores, inclusive, observaram reinfecções após 30 dias do tratamento em infecções produzidas por *S. aureus*. Considerando-se os aspectos de imunidade e o tempo de permanência dos antibióticos dentro da glândula (efeito residual de aproximadamente 48 horas é difícil manter-se o teto livre de infecções por períodos muito longos. Analisando os resultados obtidos neste experimento observa-se que em alguns tipos de infecções do úbere, dependendo do organismo e das condições da ordenha, recidivas podem ocorrer, principalmente para IMI produzidas por bactérias que podem ter localização extramamária. Um dos efeitos dos tratamentos das mamites subclínicas é reduzir o número de tetos infectados e conseqüentemente o número de novas infecções dentro do rebanho. Neste aspecto vale salientar que em duas das propriedades (Rebanhos A e C) não ocorreram novas IMI dentro do prazo de 30 dias, período de avaliação da eficiência dos tratamentos. No caso de se tomar como base, o critério de uma cultura bacteriológica negativa feita aos 14 dias após tratamento, os resultados obtidos neste experimento são similares aos publicados por alguns autores (Wilson, 1986; Seymour *et al.*, 1989; Owens *et al.*, 1994; Ratnakumar *et al.*, 1996) ou até mesmo superiores (Tyler *et al.*, 1992; Friton *et al.*, 1998).

Esquemas terapêuticos utilizados para tratamento de mamites clínicas ou subclínicas recomendam entre uma a três aplicações medicamentosas, via intramamária. Melhores resultados ocorrem com maior número de aplicações (Buragohain & Dutta, 1989; Tyler *et al.*, 1992; Friton *et al.*, 1998) ou com uma terapia associada por via parenteral (Owens *et al.*, 1993 e 1994). Outros autores recomendam a chamada terapia total ("blitz" therapy) como forma de controlar as IMI produzidas por estafilococos e estreptococos (Tyler *et al.*, 1992; Erskine *et al.*, 1993; Sol *et al.*, 1995). Para o tratamento das mamites subclínicas, entretanto, devem ser levados em consideração outros aspectos dos tratamentos, como o custo e tempo de eliminação dos antibióticos, perda de leite por descarte, entre outros. Os programas de controle devem

aumentar o retorno econômico para serem altamente efetivos e aplicáveis a vários rebanhos (Philpot, 1994). Assim é recomendado o menor número de aplicações visando a "cura" dos animais e retorno rápido à produção normal do leite (Wilson, 1986; Cullor, 1993). razão pela qual neste trabalho os animais foram tratados por um período de 24 horas, como recomendado por McDermontt *et al.* (1983), e os resultados obtidos compatíveis com outros descritos por pesquisadores que utilizaram um maior número de aplicações (Buragohain & Dutta, 1989; Tyler *et al.*, 1992; Sol *et al.*, 1995; Friton *et al.*, 1998).

4.5 - Efeito dos tratamentos das mamites subclínicas sobre o conteúdo de células somáticas

Animais portadores de mamites subclínicas não apresentam alterações visíveis na glândula, porém o leite apresenta alta contagem de células somáticas, sendo este um dos critérios utilizados para o seu diagnóstico, como também para avaliar a qualidade do leite e as perdas de produção decorrentes das IMI (Eberhart *et al.*, 1983; Philpot, 1994; Bramley *et al.*, 1996; Harmon, 1999; Holdaway *et al.*, 1996; Silva, 1999).

Nos Gráficos 1 e 2 encontram-se os resultados das contagens de células somáticas no leite de animais submetidos ao tratamento de mamite subclínica. Quatorze dias após a aplicação do Cefacetil Sódico ficou evidente uma diminuição da CCS no grupo tratado em comparação com a situação anterior ao tratamento e em relação ao grupo controle. Mesma situação pode ser observada nas Tabelas 10, 11 e 12 que refletem os resultados das reações ao CMT realizadas nos mesmos períodos, nas três propriedades trabalhadas. Fica evidente que o tratamento foi efetivo nas primeiras duas semanas, fato comprovado pela maior redução do número de isolamentos de microrganismos no mesmo período (Tab. 7). Estendendo-se o período de observação para 25 e 40 dias verifica-se um aumento do conteúdo de CCS e maior percentual de reações positivas ao CMT, sendo as diferenças entre os grupos tratados e entre grupos tratado e controle não significativas ($P > 0,05$). Neste período houveram recidivas das infecções tratadas em alguns animais, principalmente após os 25 dias do tratamento, o que justificaria o aumento do CCS e conseqüentemente das reações ao CMT (Tabs. 10, 11 e 12).

Em relação a fase de lactação não foram significativas as diferenças entre os grupos ($P > 0,05$), após 14, 25 e 40 dias após o tratamento. É conhecido que o conteúdo de células somáticas é influenciado pela fase de lactação, entretanto, não foi este o objeto deste trabalho, que visou analisar o efeito do tratamento sobre a qualidade do leite de vacas "curadas" de mamite subclínica. Nos primeiros 14 dias pode-se constatar que entre os grupos tratados, a diminuição do número de células foi diretamente relacionada à redução da taxa de IMI, verificada pelo maior percentual de redução de microrganismos isolados (Tab. 8). Estas observações contradizem determinados modelos simulados para tratamentos de mamite subclínicas que sugerem ser a fase inicial de lactação, a mais propícia para tratar este tipo de infecção, não só pelos aspectos econômicos como pela maior capacidade de recuperação da glândula (Tyler *et al.*, 1992). Pode-se deduzir que a eficiência dos tratamentos está relacionada com a susceptibilidade dos agentes patogênicos frente aos antimicrobianos e a manutenção da droga no leite dentro do úbere pelo menos por 24 horas.

McDermontt *et al.* (1983) e Seymour *et al.* (1989) não observaram diferenças significativas em vacas tratadas em relação às CCS ou ao "status" de infecção, em nenhum período, durante a realização de seus experimentos. Estes autores, entretanto, tomaram como base de estudos as contagens celulares. Reconhecem que em muitos casos, CCS altas ou reações CMT positivas podem ocorrer por causas outras que infecções da glândula. Desta maneira aconselham que os tratamentos baseados apenas em CCS só devam ser realizados em animais que apresentem contagens acima 10^6 céls/ml. Neste trabalho apenas tetos com altas CCS e bacteriologia positiva é que receberam algum tipo de tratamento intramamário.

O efeito do tratamento de animais com mamite subclínica sobre a produção de leite está expressa na Tabela 13. A média de produção de leite dos animais dos grupos tratados e controle foi comparada antes e após tratamento. Não houve diferenças significativas entre os grupos tratados e o grupo controle ($P > 0,05$). Estes resultados são similares aos descritos por McDermontt *et al.* (1983) e Seymour *et al.* (1989), que também não observaram diferenças significativas quanto ao aumento de produção após tratamento de vacas

com mamite subclínica durante a lactação. Estes autores questionam quanto a validade deste esquema de controle em relação ao custo/benefício. Apesar de não proporcionar aumento de produção, os tratamentos intramamários de IMI subclínicas podem ser considerados como válidos. Apenas Ratnakumar *et al.* (1996) relatam ganhos de produção após tratamento. Nos rebanhos trabalhados houve uma redução da carga microbiana infectante dentro do rebanho, o que proporcionou uma redução de novas infecções da glândula e, conseqüentemente, a ocorrência de mmites clínicas dentro dos planteis, uma vez que durante a realização do experimento não foram registrados casos clínicos da doença. Não se pode apenas avaliar a eficiência desta metodologia usada para o controle de mamite tendo como base apenas os parâmetros de produção. Devem ser incluídos, também, os aspectos de melhor qualidade do leite e a redução da carga microbiana patogênica, fato observado nos primeiros 14 dias após tratamento.

5. CONCLUSÕES

- 1 - A antibioticoterapia com 250 mg de cefalotina, aplicada por via intramamária, por 24 horas, não foi efetiva para o controle das mmites subclínicas.
- 2 - O tratamento é efetivo para reduzir o número de infecções intramamárias até 14 dias pós tratamento, entretanto não impede a ocorrência de recidivas ou reinfecções após este período.
- 3 - Não houve ganhos efetivos de produção em animais com mamite subclínica tratados durante a lactação.

Tabela 1. Prevalência estimada de infecção e perdas¹ em produção de leite associadas a contagens de células somáticas no tanque de coleta de leite.

Nº células somáticas	% quartos infectados	% Perda de Produção
200.000	6,0	0,0
500.000	12,0	6,0
1 000 000	32,0	18,0
1.500.000	48,0	29,0

¹Perdas de produção calculadas em porcentagem da produção estimada com contagens de 200.000 células/ml.

Tabela 2. Diferenças estimadas em rendimento leiteiro associadas ao aumento no escore médio da CCS de animais em lactação.

(SCCS)	CCS (x 10 ³ céls/ml)	Diferença em Rendimento Leiteiro (kg/305 dias)	
		Lactação 1	Lactação ≥ 2
0	12,5	-	-
1	25	-	-
2	50	-	-
3	100	-100	-200
4	200	-200	-400
5	400	-300	-600
6	800	-400	-800
7	1600	-500	-1000

Tabela 3. Total de microrganismos isolados em amostras de leite de animais com mamites subclínicas, nos grupos tratado e controle, antes e após tratamentos com antibióticos intramamários em três propriedades do estado de Minas Gerais.

Microrganismos	Número de Isolamentos	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	128	23,10
<i>Staphylococcus</i> Coagulase-negativo	111	20,04
<i>Streptococcus uberis</i>	66	11,91
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	03	0,54
<i>Bacillus</i> spp	95	17,15
<i>Corynebacterium bovis</i>	71	12,82
<i>Escherichia coli</i>	64	11,55
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	2,89
Total	554	100

Tabela 4. Susceptibilidade a seis antimicrobianos apresentada por microrganismos isolados em casos de manite subclínica, em três rebanhos bovinos leiteiros localizados nos municípios de Matozinhos, Confins e Betim, MG- 1999.

Microrganismos	Nº	% de Susceptibilidade dos microrganismos isolados aos antimicrobianos testados																							
		Rebanho A												Rebanho B						Rebanho C					
		NV	LIN	GE	OX	CPZ	NE	CF	NV	LIN	GE	OX	CPZ	NE	CF	NV	LIN	GE	OX	CPZ	NE	CF			
<i>S. aureus</i>	40	60,0	72,2	94,4	38,8	94,4	44,4	94,4	63,3	68,2	87,8	33,3	88,9	0	84,4	61,5	69,2	92,3	76,9	85,3	76,9	81,0			
SCN	17	67,0	75,0	82,5	75,0	100	37,5	85,0	60,0	70,0	80,0	20,0	80,0	20,0	80,0	62,0	0	100	33,3	100	100	86,7			
<i>S. ubersis</i>	07	65,0	75,0	65,0	75,0	100	37,5	85,0	60,0	70,0	60,0	85,0	80,0	20,0	80,0	33,3	70,0	100	83,3	100	100	87,2			
<i>S. dysgalactiae</i>	01	-	-	-	-	-	-	-	65,0	75,0	65,0	85,0	80,0	20,0	80,0	-	-	-	-	-	-	-			
<i>C. bovis</i>	11	80,0	75,0	90,0	88,0	100	40,0	90,0	80,0	80,0	88,0	86,0	95,0	40,0	90,0	75,0	80,0	96,0	88,0	100	100	100			
<i>Bacillus spp</i>	08	62,0	75,0	100	75,0	100	25,0	85,0	70,0	60,0	80,0	80,0	100	89,0	100	72,0	65,0	82,0	85,0	100	86,0	87,5			
<i>E. coli</i>	05	60,0	40,0	95,0	35,0	91,0	75,0	86,0	80,0	40,0	96,0	37,0	94,0	80,0	90,0	58,0	42,0	96,0	36,0	92,0	80,0	88,0			
<i>P. aeruginosa</i>	01	45,0	40,0	90,0	30,0	85,0	70,0	84,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			

NV- novobiocina
 LIN- lincomicina
 GE- gentamicina
 OX- oxacilina
 CPZ- cefoperazona
 NE- neomicina
 CF- cefalotina

Tabela 5. Número de microrganismos isolados entre os grupos de animais tratados e controle, distribuídos segundo o período de lactação (15 a 100 dias) e o número de dias após o tratamento.

Dias \ Microrganismos	Tratadas				Controle			
	0	14	25	40	0	14	25	40
<i>S. aureus</i>	9	3	2	5	9	9	9	9
SCN	9	5	7	9	7	6	6	6
<i>S. uberis</i>	4	2	2	2	5	5	5	5
<i>Bacillus spp</i>	8	4	4	8	3	3	3	4
<i>C. bovis</i>	5	0	3	7	3	3	3	3
<i>E. coli</i>	9	3	3	4	7	5	5	5
<i>P. aeruginosa</i>	1	1	1	1	0	0	0	0
Total	45	18	22	36	34	31	31	32

Tabela 6. Número de microrganismos isolados entre os grupos de animais tratados e controle, distribuídos segundo o período de lactação (101 a 200 dias) e o número de dias após o tratamento.

Dias \ Microrganismos	Tratadas				Controle			
	0	14	25	40	0	14	25	40
<i>S. aureus</i>	19	9	12	13	5	5	5	5
SCN	16	4	8	8	5	5	5	5
<i>S. uberis</i>	5	4	4	6	4	4	4	4
<i>S. dysgalactiae</i>	1	1	1	0	0	0	0	0
<i>Bacillus spp</i>	11	3	3	10	8	6	8	9
<i>C. bovis</i>	10	2	2	6	7	9	4	6
<i>E. coli</i>	5	1	1	3	4	3	3	3
<i>P. aeruginosa</i>	2	2	2	2	0	0	0	0
Total	69	26	33	48	33	32	29	32

Tabela 7. Efeito dos tratamentos intramamários das infecções subclínicas sobre o número de microrganismos isolados nos grupos de animais tratados.

Dias \ Microorganismos	0		14 dias		25 dias		40 dias	
	Nº	Nº	% de redução	Nº	% de redução	Nº	% de redução	
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	12	57,0	14	50,0	18	35,7	
SCN	25	09	64,0	15	40,0	17	32,0	
<i>Streptococcus uberis</i>	09	06	33,3	06	33,7	08	11,0	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	01	01	0	01	0	0	100	
<i>Bacillus spp</i>	19	07	63,0	07	63,0	18	5,0	
<i>Corynebacterium bovis</i>	15	02	84,6	05	61,5	13	0	
<i>Escherichia coli</i>	14	04	71,4	04	71,4	07	50,0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	03	03	0	03	0	03	0	
Total	114	44	61,4	55	52,0	84	26,3	

Tabela 8. Efeito dos tratamentos intramamários das infecções subclínicas sobre o número de microrganismos isolados nos grupos de animais tratados no período de lactação entre 15-100 dias.

Dias \ Microrganismos	0			14 dias		25 dias		40 dias	
	Nº	Nº	% de redução	Nº	% de redução	Nº	% de redução	Nº	% de redução
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	3	66,7	2	77,8	5	45,5		
SCN	9	5	45,5	7	22,2	9	0		
<i>Streptococcus uberis</i>	4	2	50,0	2	50,0	2	50,0		
<i>Bacillus spp</i>	8	4	50,0	4	50,0	8	0		
<i>Corynebacterium bovis</i>	5	0	100	3	40,0	7	0		
<i>Escherichia coli</i>	9	3	66,7	3	66,7	4	55,6		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	0	1	0	1	0		
Total	45	18	60,0	22	48,9	36	20,0		

Tabela 9. Efeito dos tratamentos intramamários das infecções subclínicas sobre o número de microrganismos isolados nos grupos de animais tratados, no período de lactação entre 101- 200 dias.

Dias \ Microrganismos	0			14 dias		25 dias		40 dias	
	Nº	Nº	% de redução	Nº	% de redução	Nº	% de redução	Nº	% de redução
<i>S. aureus</i>	19	9	52,6	12	36,8	13	31,6		
SCN	16	4	75,0	8	50,0	8	50,0		
<i>S. uberis</i>	5	4	20	4	20,0	6	0		
<i>S. dysgalactiae</i>	1	1	0	1	0	0	100		
<i>Bacillus spp</i>	11	3	72,7	3	72,7	10	11,0		
<i>Corynebacterium bovis</i>	10	2	80,0	2	80,0	6	40,0		
<i>Escherichia coli</i>	5	1	80,0	1	80,0	3	40,0		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2	0	2	0	2	0		
Total	69	26	62,3	33	52,2	48	30,4		

Tabela 10. Resultados das reações ao California Mastitis Test realizados em animais dos grupos tratados (I e II) e grupo controle (III e IV) antes e após 14, 25 e 40 dias da aplicação intramamária de Cefacetil Sódico, na propriedade A.

Grupos	Nº de Tetos	Reações ao California Mastitis Test																															
		Dia 0			Dia 14			Dia 25			Dia 40																						
		1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+														
I	40	4	10	12	30	6	15	18	45	3	8	1	3	0	0	36	90	3	8	6	15	0	0	31	78	4	10	3	8	6	15	27	68
II	40	1	3	16	40	5	13	18	45	4	10	3	8	2	5	31	78	7	18	5	13	2	5	28	70	2	5	4	10	4	10	29	73
III	12	0	0	5	42	0	0	7	58	2	17	1	8	0	0	9	75	0	0	2	17	0	0	10	83	0	0	2	17	0	0	10	83
IV	12	0	0	6	50	2	17	4	33	3	25	1	8	0	0	8	67	2	17	2	17	0	0	8	67	2	17	2	17	0	0	8	67

Tabela 11. Resultados das reações ao California Mastitis Test realizados em animais dos grupos tratados (I e II) e controle (III e IV) antes e após 14, 25 e 40 dias da aplicação intramamária de Cefacetil Sódico, na propriedade B.

Grupos	Nº de Tetos	Reações ao California Mastitis Test																															
		Dia 0			Dia 14			Dia 25			Dia 40																						
		1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+	1+	2+	3+														
I	16	1	6	2	13	3	19	10	63	0	0	3	19	1	6	12	75	5	31	0	0	4	25	7	44	1	6	2	13	3	19	10	63
II	40	4	10	5	13	3	8	6	15	3	8	2	5	0	0	13	33	0	0	4	10	6	15	8	20	3	8	3	8	6	15	6	15
III	16	0	0	2	13	3	19	11	69	1	6	3	19	1	6	12	75	3	19	2	13	2	13	9	56	2	13	1	6	4	25	9	56
IV	12	1	8	2	17	2	17	2	17	1	8	2	17	0	0	4	33	0	0	1	8	2	17	4	33	0	0	4	33	0	0	3	25

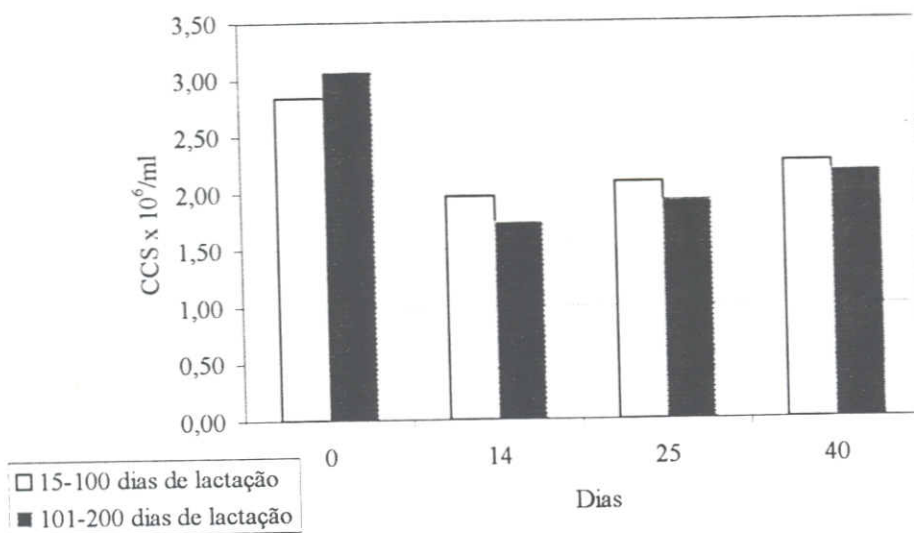
Tabela 12. Resultados das reações ao California Mastitis Test realizadas em animais dos grupos tratados (I e II) e controle (III e IV) antes e após 14, 25 e 40 dias da aplicação intramamária de Cefacetil Sódico, na propriedade C.

Grupos	Nº de Tetos	Reações ao California Mastitis Test																															
		Dia 0						Dia 14						Dia 25						Dia 40													
		1+	%	2+	%	3+	%	1+	%	2+	%	3+	%	1+	%	2+	%	3+	%	1+	%	2+	%	3+	%								
I	8	0	0	5	63	1	13	2	25	0	0	0	0	2	25	6	75	1	13	2	25	1	13	4	50	2	25	2	25	3	38	1	13
II	32	0	0	14	44	11	34	7	22	3	9	3	9	9	28	17	53	5	16	3	9	8	25	16	50	1	3	9	28	5	16	17	53
III	2	0	0	2	10	0	0	0	0	0	0	2	100	0	0	0	0	0	0	1	50	1	50	0	0	0	0	1	50	1	50	0	0
IV	8	0	0	4	50	0	0	4	50	0	0	1	13	1	13	6	75	1	13	1	13	1	13	5	63	0	0	4	50	1	13	3	38

Tabela 13. Produção média de leite dos animais antes e após tratamento da mamite subclínica com base em registros intercalados de 10 dias

Período de Lactação	Produção média de leite (kg)/dias após tratamento					
	Tratados			Controle		
	Dia 0	Dia 10	Dia 20	Dia 0	Dia 10	Dia 20
15-100	66,67	67,83	55,19	68,72	68,66	67,52
101-200	57,08	55,92	52,44	66,57	66,88	62,72

Figura 1. Contagens de células somáticas em animais com mamite subclínicas antes e após tratamentos intramamários, distribuídos segundo a fase de lactação - MG - 1999.



ESCOLA DE VETERINARIA
BIBLIOTECA
DA UFMS

Figura 2. Contagens de células somáticas em animais com mamite subclínicas (grupo controle) distribuídos segundo a fase de lactação - MG - 1999.

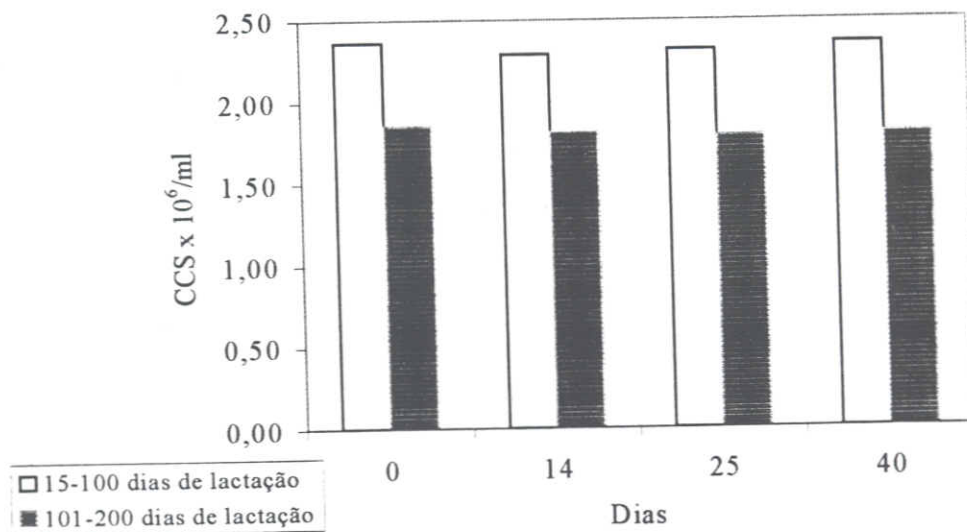


Figura 3. Interpretação das reações do California Mastitis Test (C.M.T.).

Resultado	Reação	Interpretação
-	Negativo	0-200.000 cels/ml
T	Traço	150.000-500.000 cels/ml
1 +	Fraca	400.000 – 1.500.000 cels/ml
2 +	Distintamente positiva	800.000 – 5.000.000 cels/ml
3 +	Fortemente positiva	Número de células acima de 5.000.000/ml
+	Leite alcalino pH 7,0 ou acima	Reflete depressão da atividade secretora. Pode ocorrer devido à inflamação da glândula ou final de lactação.
Y	Leite ácido pH até 5,2	Distintamente o leite ácido no úbere é raro. Quando encontrado indica fermentação da lactose por ação bacteriana dentro da glândula

Fonte: Schalm *et al.* (1971).

Figura 4. Distribuição dos animais com mamite subclínica a serem tratados nos rebanhos A, B e C de acordo com a fase de lactação.

Grupos*	Nº Animais	Nº Tetos Trabalhados	Período de Lactação
I	16	32	15 a 100 dias
II	23	54	101 a 200 dias
III	07	10	15 a 100 dias
IV	07	14	101 a 200 dias
Total	53	110	

*Os 14 animais dos grupos III e IV, todos portadores de mamite subclínica, não foram submetidos a qualquer tratamento com antibióticos, permanecendo um total de 28 tetos como controle dentro dos rebanhos.

Figura 5. Distribuição dos grupos de tratamentos por animais e tetos, com mamite subclínica, dentro dos três rebanhos trabalhados no experimento.

Grupos de Tratamentos	Rebanhos Trabalhados			Total
	A	B	C	
Tetos tratados	38	13	35	86
Tetos controle	13	08	03	24
Total de Tetos	51	21	38	110
Animais tratados	20	09	10	39
Animais controle	06	06	02	14
Total de Animais	26	15	12	53

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, R.A., OLIVER, S.P. Invasion of Bovine Mammary Epithelial Cells by *Streptococcus dysgalactiae*. **J. Dairy Sci.**, v.78, p. 1310-17, 1995.
- ANDERSON, J.C. Veterinary aspects of staphylococci. In: EASMON, C.S.F., ADLAM, C. (eds) **Staphylococci and staphylococcal infections**. London : Academic Press, 1983. p.193-241.
- BAUER, A.W., KIRB, W.M.M., SHERRIS, J.C. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 45, p. 493-96, 1966.
- BIER, O. **Microbiologia e Imunologia**, 23ª ed., São Paulo: Melhoramentos, 1984, 1234 p.
- BODDIE, B.S., NICKERSON, S.C., OWENS, W.E. *et al.* Udder microflora in nonlactating heifers. **Agri-Pract. Bov. Med. Immun.**, v.8/9, n. 2, p. 22, 1987.
- BOTTINO, J.A., HIPÓLITO, O. Frequência e incidência de amostras de *Escherichia coli* consideradas enteropatogênicas para gastroenterite infantil isoladas de mastite. **Atual. Vet.**, v. 9 p.44, 1973.
- BRAMLEY, A.J. Infection of the udder with coagulase negative micrococci and *Corynebacterium bovis*. **Int. Dairy Fed. Annu. Bull.**, v.85, p.377-381, 1975.
- BRAMLEY, A.J., NEAVE, F.K. Studies of the control of the coliform mastitis in dairy cows. **Br. Vet. J.**, v.131, n.2, p.160-169, 1975.
- BRAMLEY, A.J., KINGWILL, R.G., GRIFFIN, T.K. *et al.* Prevalence of *Corynebacterium bovis* in bovine milk samples. **Vet. Rec.**, v. 99, n.14, p.275, 1976.
- BRAMLEY, A.J. Sources of *Streptococcus uberis* in the dairy herd I. Isolation from bovine faeces and from straw bedding of cattle. **J. Dairy Res.**, v.49, n.3, p.369-373, 1982.
- BRAMLEY, A.J., DODD, F.H. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control-progress and prospects. **J. Dairy Res.**, v. 51, n.3, p. 481-512, 1984.
- BRAMLEY, A.J. *Streptococcus uberis* udder infection- a major barrier to reducing mastitis incidence. **Br.Vet. J.**, v. 140, n.4, p.328-335, 1984.
- BRITO, M.A.V.P., BRITO, J.R.F., VEIGA, V.M.O. *et al.* Udder infection patterns in hand and machine milked dairy herds under subtropical conditions. In: PANAMERICAN CONG. ON MASTITIS CONTROL AND MILK QUALITY. 1, 1998, Mérida. **Process...** México: 1998, p.148-151.
- BURAGOHAJ, J., DUTTA, G.N. Increased milk yield through treatment of bovine subclinical mastitis and its economic implications. **Indian J. An. Sci.**, v.60, n.8, p.965-966, 1990.
- CALVINHO L.F., ALMEIDA, R., OLIVER, S.P. Potencial virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis. **Vet. Microbiol.**, v.61, n.1/2, p. 93-110, 1998.
- CALVINHO L.F., OLIVER S.P. Invasion and persistence of *Streptococcus dysgalactiae* within bovine mammary epithelial cells. **J. Dairy Sci.**, v. 81, n. 3, p. 678-686, 1998.
- CARDOSO, H.F.T. Identificação de fatores de virulência e susceptibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite bovino em Minas Gerais. Belo Horizonte: UFMG Escola de Veterinária, 1999, 88p. Dissertação (Mestrado).
- CARDOSO, H.F.T., SILVA, N., SENA, M. J., CARMO, L. S. Production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil. **Let. in Appl. Microbiol.**, v. 29, n.5, p.347-349, 1999.

- CEBRA, C.K., GARRY, F.B., DINSMORE, R.P. Naturally occurring acute coliform mastitis in Holstein cattle. **J. Vet. Intern. Med.**, v.10, n.4, p. 52-257,1996.
- COSTA, E.O., COUTINHO, S.D., CASTILHO, W. *et al.* Sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos de bactérias isoladas de mastite bovina. **Pesq. Vet. Bras.**, v.5, n.2, p.65-69,1985.
- COSTA, E.O., MELVILLE, P.A, RIBEIRO, A R *et al.* Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 17, n.5, p. 215-217, 1995a.
- COSTA, E.O., BENTES, N.R., MELVILLE, P.A *et al.* Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.17, n.4, p.156-158, 1995b.
- COSTA, E.O., MELVILLE, P.A, RIBEIRO AR. *et al.* Prevalence of intramamary infections in primigravid Brazilian dairy heifers. **Prev. Vet. Med.**, v.29, n.2, p.151-155, 1996.
- COSTA, E.O., WATANABE, E.T., MELVILLE, P.A. Infectious bovine mastitis caused by environmental organisms. **J. Vet. Med. Ser. B.**, v.45, n.2, p.65-71, 1998.
- CRAVEN, N., ANDERSON, J.C. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by bovine mamary gland macrophages and intracellular protection from antibiotic action *in vitro* and *in vivo*. **J. Dairy Sci.**, v. 51, p. 513-523, 1984.
- CULLOR, J.S. The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis. **Vet. Med. Food Animal Pract.**, v.88, p. 571-9, 1993.
- DAVIDSON, J.N. Antibiotic resistance patterns in bovine mastitis pathogens. In: ANNU. MEET. NATL. MASTITIS COUNCIL, 19,1980, **Process** ...Estados Unidos:1980, p.181-185.
- EBERHART, R.J., LEVAN, P.L., GRIEL, L.C. *et al.* Germicidal teat dip in a herd with low prevalence of *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus* mastitis. **J. Dairy Sci.**, v.66, n.6, p.1390-1395, 1983.
- EBERHART, R.J. Management of dry cows to reduce mastitis. **J. Dairy Sci.**, v.69, n.6, p.1721-1732, 1986.
- ENG, R.H., PADBERT, F.T., SMITH, S.M. *et al.* Bactericidal effects of antibiotics on slowly growing and no growing bacteria. **Antimicrob. Agents Chemotherapy.**, v.35, p. 1824-28,1991.
- ERSKINE, R.J., EBERHART, V.M. D.Herd benefit-to-cost ratio and effects of a bovine mastitis control program that includes blits treatment of *Streptococcus agalactiae* . **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.196, n.8, p. 1230 - 1235, 1990.
- ERSKINE, R.J. Mastitis Control in Dairy Herds with High Prevalence of Subclinical Mastitis. **Compendium-on-Continuing-Education for the Practicing-Veterian.**, v.14, n.7, p.969-975, 1992.
- FANG, W., PYORALA, S. Mastitis-causing *Escherichia coli*: Serum Sensitivity and Susceptibility to Selected Antibacterials in Milk. **J. Dairy Sci.**, v.79, n.1, p.76-82, 1996.
- FERREIRO, L., DOS SANTOS C.; SILVA N. Ocorrência e etiologia da mastite bovina na "Zona da Mata" do Estado de Minas Gerais. **Arq. Esc. Vet. UFMG.**, v.33, n.1, p.31-37, 1981.
- FIGUEIREDO, J.B. Estudo sobre a mamite bovina no municipio de Betim, Minas Gerais. **Arq. Esc. Vet. UFMG.**, v.14, p.257-295, 1962.
- FOX, L.K. Colonization by *Staphylococcus aureus* on chapped teat skin: effect of iodine and clorexidine postmilking desinfectants. **J. Dairy Sci.**, v.75, n.1, p. 66-71, 1992.

- FRITON, G.M., SOBIRAJ, A., RICHTER, A. Effects of various antibiotic treatments of lactating cows with subclinical mastitis. **Tier. Prax. Ausg. G. Gross. Nutz.**, v.26, n.5, p.254-60, 1998.
- GRANT, R. G., FINCH, J.M. Phagocytosis of *Streptococcus uberis* by bovine mammary gland macrophages. **Res. in Vet. Science.**, v.62, n.1, p.74-78, 1996.
- HALLBERG, J.W., DAME, K.J., CHESTER, S.T. *et al.* The visual appearance and somatic cell count of mammary secretions collected from primigravid heifers during gestation and early postpartum. **J. Dairy Sci.**, v. 78, n.7, p. 1629-1636, 1995.
- HARMON, R. J. Importância da Saúde do Úbere e Impacto da Nutrição sobre a Mastite. In: FÓRUM INTERNACIONAL DO LEITE, 1, 1999, Belo Horizonte. **Process...Brasil:1999**, p.12-17.
- HARMON, R.J., LANGOIS, B.E. Mastitis due to Coagulase- Negative *Staphylococcus* Species. **Agri-Practice.**, v.10, n.1, p.29-34, 1989.
- HARROP, M.H.V., PERREIRA, L.J.G., BRITO, J.R.F. *et al.* Incidência de mastite bovina na bacia leiteira da zona do agreste meridional de Pernambuco. **Pesq. Agrop. Bras. Ser. Vet.**, v. 10, p.65-67, 1975.
- HILL, A.W. Pathogenicity of two strains of *Streptococcus uberis* infused into lactating and non-lactating bovine mammary glands. **Res. Vet. Sci.**, v.45, n.3, p. 400-404, 1988.
- HILLERTON, J.E., SHEARS, M.F.H., TEVERSON, R.M. *et al.* Effect of pre milking teat dipping on clinical mastitis on dairy farms in England. **J. Dairy Res.**, v. 60, n.1, p. 31-41, 1993.
- HOGAN, J. S., SMITH, K. L., HOBLET, K. H. *et al.* Field survey of clinical mastitis in low somatic cell counts herds. **J. Dairy Sci.**, v.72, n.6, p. 1547-1556, 1989.
- HOLDAWAY, R.J., HOLMES, C.W., STEFFERT, I.J. A comparison of indirect methods for diagnosis of subclinical intramammary infection in lactating dairy cows. **Austr. J. Dairy Techn.**, v.51, n.2, p.64-71, 1996.
- HOLMBERG, C. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. **Acta Vet. Scand.**, v.45, suppl., p.141-144, 1973.
- HOLMES, C.W., KAMOTE, H., MACKENZIE, D.D.S., MOREL, P.C.H. Effects of a decrease in milk yield, caused by once-daily milking or by restricted feeding, on the somatic cell count in milk from cows with or without subclinical mastitis. **Austr. J. Dairy Techn.**, v.51, n.1, p.8-11, 1996.
- HONKANEN-BUZALKI, T., GRIFFIN, T.K., DODD, F.H. Observations on *Corynebacterium bovis* infections of the bovine mammary gland. I. Natural infection. **J. Dairy Res.**, v.51, n.3, p.371-378, 1984.
- JONES, T.O. *Escherichia coli* mastitis in dairy cattle. A review of literature. **Vet. Bull.**, v.60, n.3, p.205-231, 1990.
- KEEFE, G. P. *Streptococcus agalactiae* mastitis: A review. **Can. Vet. J.**, v.38, n.7, p.429-437, 1997.
- KING, J.S. *Streptococcus uberis*: a review of its role as a causative organism of bovine mastitis. II. Control of infection. **Br. Vet. J.**, v. 137, n.2, p.160-165, 1981.
- KIRK, J.H., BARTLETT, P.C. Nonclinical *Pseudomonas aeruginosa* mastitis in a dairy herd. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.184, n.6, p.671-673, 1984.
- LAM, T.J., DEJONG, M.C.M., SCHUKKEN, Y.H. *et al.* Mathematical modeling to estimate efficacy of postmilking teat disinfection in split-udder trials of dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.79, n.1, p.62, 1996.

- LAM, T.J., SCHUKKEN, Y.H., VAN VLIET, J.H. *et al.* Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland. **Am. J. Vet. Rec.**, v.58, n.1, p. 17-22, 1997.
- LANGE, C.C., CARDOSO, M.R.I., PIANTA, C. Fagotipagem e biotipagem de amostras de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina em Porto Alegre, RS, Brasil. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS. 15. 1996, Campo Grande. **Process...** Brasil: 1996, .PN 9, p. 262.
- LANGENEGGER, J., COELHO, N.M., LANGENEGGER, C.H. *et al.* Estudo da incidência da mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. **Pesq. Agrop. Bras.**, v.5, n.3, p.437-440, 1970.
- LANGONI, H., PINTO, M.P., DOMINGUES, P.F., LISTONI, F.J.P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v.43, n.6, p.507-515, 1991.
- LANGONI, H., LISTONI, F.J.P., MERTENS, S.A., *et al.* Susceptibility profile of *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic milk samples, In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS. 15, 1996, Campo Grande. **Process...** Brasil: 1996, PN 9, p. 290.
- LANGONI, H., DA SILVA, A.V., CABRAL, K.G., DOMINGUES, P.F. Etiologic aspects on bovine mastitis: aerobic bacterial flora. In: PANAMERICAN CONG. ON MASTITIS CONTROL AND MILK QUALITY.1, 1998, Mérida, México. **Process...** 1, México :1998, p.468-480.
- LEIGH, J. A., FIELD, T.R. *Streptococcus uberis* resists the bactericidal action of bovine neutrophils despite the presence of bound immunoglobulin. **Infect. And Immun.**, v.62, p.1854-1859, 1994.
- LOUHI, M., INKINEN, K., MYLLYS, V. *et al.* Relevance of sensitivity testings (MIC) of *S. aureus* to predict the antibacterial action in milk. **J. Vet. Med.**, v.39, n.10, p.723-731, 1992.
- MAMO, W., FRÖMAN, G., SUNDAS, G. *et al.* Binding of fibronectin, fibrinogen and collagen II to *Streptococci* isolated from bovine mastitis. **Microb. Pathog.**, v.2, p.417-424, 1987.
- MATTHEWS, K.R., JAYARAO, B.M., GUIDRY, A.J. *et al.* Encapsulation of *Streptococcus uberis* : Influence of storage and cultural conditions. **Vet. Microb.**, v.39, n.3/4, p.361-367, 1994.
- MCDERMOTT, M.P., ERB, H.N., NATZKE R.P. *et al.* Cost benefit analysis of lactation therapy with somatic cell counts as indications for treatment. **J. Dairy Sci.**, v.66, n.5, p.1198-1203, 1983
- MCDONALD, J.S. Streptococcal and Staphylococcal mastitis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.170, n.10, p. 1157-1159, 1977.
- MILES, H., LESSER, W., SEARS, P. The Economics Implications of Bioengineered Mastitis Control. **J. Dairy Sci.**, v.75, n.2, p.596-605, 1992.
- MILLER, G. Y., BARLETT, P. C., LANCE, S. E. Cost of clinical mastitis and mastitis prevention in dairy herds. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.202, n.8, p.1230-1235, 1993.
- MYLLYS, V., LOUHI, M., ALI-BEHMAS, T. Comparison of penicillin-G susceptibility testing methods of staphylococci isolated from bovine mastitis. **J. Vet. Med.**, v.39, n.10, p.723-731, 1992.
- MYLLYS, V. Staphylococci in heifer mastitis before and after parturition. **J. Dairy Res.** v. 62, p. 51-60, 1995.
- NADER FILHO, A., SHOCKEN-ITURRINO, R.P., ROSSI JUNIOR, O.D. Mastite subclínica em rebanhos produtores de leite com gordura 3,2%. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.36, n.5, p.549-558, 1984.

- NATIONAL MASTITIS COUNCIL RESEARCH COMMITTEE. **Laboratory and field handbook on bovine mastitis**. Fort Atkinson: Hoard & Sons Co., 1987. 208p.
- NATZKE, R.P. Elements of mastitis control. **J. Dairy Sci.**, v.64, n.6, p.1431-1442, 1981.
- NGATIA, T. A., JENSEN, N.E., BERG, B.B. Changes in the bovine udder quarters naturally infected by *Corynebacterium bovis*. **Br. Vet. J.**, v. 147, n.5, p.463-468, 1991.
- OWENS, W.E., RAY, C.H., WASHBURN, P.J. Effect of selected antibiotics on *Staphylococcus aureus* present in milk from infected mammary glands. **J. Vet. Med.**, v.40, n.7, p.508-514, 1993.
- OWENS, W.E., NICKERSON, S.C., WASHBURN, P.J., *et al.* Antibiotic therapy of intramammary infections in bred dairy heifers. **Louis. Agri.**, v.37, n.4, p.20-23, 1994.
- PACKER, R.A. Bovine mastitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 170, n.10, p. 1166, 1977.
- PANKEY, J.W.R.J., EBERHART, A.L., COMING, R.D. *et al.* Update on postmilking teat antiseptics. **J. Dairy Sci.**, v.67, n.6, p.1336-1353, 1984.
- PARDO, P.E., METTIFOGO, E., MÜLLER, E.E. *et al.* Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas no período pós-parto. **Pesq. Vet. Bras.**, v.18, n.3/4, p.115-118, 1998.
- PEARSON, J.K.L., GREER, D.O. Relationship between somatic cell counts and bacterial infections of the udder. **Vet. Rec.**, v.95, n.13, p.252-257, 1974.
- PHILPOT, W.N. Economics of mastitis control Symposium on mastitis. **Vet. Clin. North Am.**, v.6, p.233-245, 1984.
- PHILPOT, W N. Dairy herd management practices for improving milk quality and controlling mastitis. **Dairy Res. Report.**, v.1, p13-25, 1994.
- QUINN, P.J., CARTER, M.E., MARKEY, B., *et al.* **Clinical Veterinary Microbiology**. Londres: Wolfe, 1994. 648p.
- RATNAKUMAR, A.V., HAMZA, P.A., CHOUDHURI, P.C. Treatment of Subclinical Mastitis in Early Lactation. **Indian Vet. J.**, v.73, n.9, p.970-972, 1996.
- ROBINSON, T.C., JACKSON, E.R., MARR, A. Factors involved in the epidemiology and control of *Streptococcus uberis* and coliform mastitis. **Br. Vet. J.**, v.141, n.6, p.635-642, 1985.
- SAMPAIO, I.B.M. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. p.192-205 (Testes estatísticos não paramétricos).
- SCHALM, O.W., LASMANIS, J., JAIN, N.C. Effects of humoral and cellular phases of acute inflammation in the bovine mammary gland on *Aerobacter aerogenes* introduced in masse and leukocytes existing in milk. **Am. J. Vet. Res.**, v.28, n. 126, p.1251, 1967.
- SCHALM, O.W., CARROL, E.J., JAIN, N.C. **Bovine Mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360p.
- SEYMOUR, E.H., JONES, G.M., MCGILLIARD M.L. Effectiveness of intramammary antibiotic therapy based on somatic cell count. **J. Dairy Sci.**, v. 72, n.4, p.1057-1062, 1989.
- SILVA, N. Diagnóstico da mamite em animais de interesse econômico. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MAMITE.3, 1999, Botucatu. **Process...** Brasil:1999, p. 51-55.
- SILVA, N. Mamite no rebanho bovino da Escola Média de Agricultura de Florestal -UFV-MG; I- Controle através da desinfecção pós-ordenha e do uso do Trimethoprim-Sulfametoxazole. II- Frequência e etiologia. Belo Horizonte: UFMG Escola de Veterinária, 1977, 81p. Dissertação (Mestrado).

- SILVA, N., FIGUEIREDO, J.B., OLIVEIRA, M. Mamite no Rebanho Bovino da Escola Média de Agricultura de Florestal -UFV-MG. Parte II. Frequência e Etiologia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v.35, n.1, p.85-91. 1983.
- SILVA, N., LOBATO, F.C.F., COSTA, G.M., *et al.* Mastitis aguda espontânea por *Klebsiella* en bovinos Holstein. In: PANAMERICAN CONG. ON MASTITIS CONTROL AND MILK QUALITY, 1, 1998, Mérida. **Process...** México:1998, p.144-147.
- SOL, J., SAMPIMON, O. P., SNOEP, J. Results of treatment of subclinical *S. aureus* mastitis during lactation. In: IDF INTERNATIONAL MASTITIS SEMINA, 3, 1995, Tel-Aviv. **Process...** Israel: 1995, S-5, p. 68-72.
- SOL, J., SAMPIMON, O. C., SNOEP, J. J. *et al.* Factors Associated with Bacteriological Cure During Lactation After Therapy for Subclinical Mastitis Caused by *Staphylococcus aureus*. **J. Dairy Sci.**, v. 80, n.11, p.2803-08,1997.
- SUMANO, H., OCAMPO, L. The pharmacological basis for the treatment of bovine mastitis – a review. **Israel J. Vet. Med.**, v.47, n.4, p.127-35, 1992.
- THOMAS, L. H., HAIDER, W., HILL, A. W. *et al.* Pathologic findings of experimentally induced *Streptococcus uberis* infection in the mammary gland of cows. **Am. J. Vet. Res.**, v.55, n.12, p.1723-1728.1994.
- THORNSBERRY, C., BURTON, Y.C., YEE, J.L. *et al.* The activity of a combination of penicillin and novobiocin against bovine mastitis pathogens: development of a disk diffusion test. **J. Dairy Sci.**, v.80, n.2, p.423. 1997.
- TRINIDAD, P., NICKERSON, S.C., ALLEY, T.K. *et al.* Efficacy of intramammary treatment in unbred and primigravid dairy heifers. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.197, n.4, p.465-70; 1990.
- TYLER, J.W., WILSON, R.C., DOWLING, P. Treatment of Subclinical Mastitis. **Vet. Clinics of North Am: Food Animal Practice.**, v.8, n.1, p.17-27, 1992.
- WATTS J.L. Etiological agents of bovine mastitis. **Vet. Microb.**, v.16, n.1, p.41-66, 1988.
- WATTS, J.L., SALMON, S.A. Activity of selected antimicrobiol agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce β -lactamase. **J. Dairy Sci.**, v.80, n.4, p.788-791, 1997.
- WILSON C.D., AGGER, G.A., GILBERT, C. A. *et al.* Fiel trials with cefoperazone in the treatment of bovine clinical mastitis. **Vet. Rec.**, v.118, n.1, p.17-19, 1986