

UNIVERSIDADE DE UBERABA
LUIS OLIVEIRA LOPES

**PROFILAXIA DA MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA COM USO DE
ANTIBIÓTICOS NO PRÉ PARTO EM PRIMÍPARAS LEITEIRAS**

UBERABA – MG
2013

LUIS OLIVEIRA LOPES

**PROFILAXIA DA MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA COM USO DE
ANTIBIÓTICOS NO PRÉ PARTO EM PRIMÍPARAS LEITEIRAS.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, área de concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do Programa de PósGraduação em Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba.

Orientador: Prof. Dr. Moacir Santos de Lacerda

UBERABA – MG

2013

LUIS OLIVEIRA LOPES

**PROFILAXIA DA MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA COM USO DE
ANTIBIÓTICOS NO PRÉ PARTO EM PRIMÍPARAS LEITEIRAS.**

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos
do Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária da Universidade de Uberaba.**

Área de concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dra. Anna Monteiro Correia Lima
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Humberto Eustáquio Coelho
Universidade de Uberaba

Prof. Dr. Moacir Santos de Lacerda
Universidade de Uberaba

Ata da Sessão Pública de defesa de dissertação para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, a que se submeteu o aluno Luis Oliveira Lopes – matrícula 5011635/2, orientado pelo Prof. Dr. Moacir Santos Lacerda.

Aos vinte e nove dias do mês de novembro do ano de dois mil e treze, às 13 horas e 30 minutos, na sala 2C06, da Universidade de Uberaba, reuniu-se a Comissão Julgadora da defesa em epígrafe indicada pelo o Colegiado do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba, composta pelos Professores Doutores: Moacir Santos de Lacerda - **Presidente**, Anna Monteiro Correia Lima e Humberto Eustáquio Coelho, para julgar o trabalho do candidato Luis Oliveira Lopes, apresentado sob o título: **“Profilaxia da Mastite Clínica e Subclínica com uso de Antibióticos no Pré Parto em Primíparas Leiteiras”**. O Presidente declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros da Comissão Julgadora. A seguir o candidato dissertou sobre o seu trabalho e foi argüido pela Comissão Julgadora, tendo a todos respondidos às respectivas argüições. Terminada a exposição, a Comissão reuniu-se e deliberou pelo seguinte resultado:

APROVADO

REPROVADO (anexar parecer circunstanciado elaborado pela Comissão Julgadora)

Para fazer jus ao título de MESTRE EM SANIDADE E PRODUÇÃO ANIMAL NOS TRÓPICOS, a versão final da tese, considerada aprovada devidamente conferida pela Secretaria do Mestrado em Sanidade e produção Animal nos Trópicos, deverá ser entregue à Secretaria dentro do prazo de 30 dias, a partir da data da defesa. O aluno Aprovado que não atender a esse prazo será considerado Reprovado. Após a entrega do exemplar definitivo, o resultado será homologado pela Universidade de Uberaba, conferindo título de validade nacional aos aprovados. Nada mais havendo a tratar, O Senhor Presidente declara a sessão encerrada, cujos trabalhos são objeto desta ata, lavrada por mim, que segue assinada pelos Senhores Membros da Comissão Julgadora, pelo Coordenador do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da UNIUBE, com ciência do aluno. Uberaba, ao vigésimo nono dia do mês de novembro de dois mil e treze.

Prof. Dr. Moacir Santos Lacerda _____

Prof. Dr^a Anna Monteiro Correia Lima _____

Prof. Dr. Humberto Eustáquio Coelho _____

Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar _____
Coordenador do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da
UNIUBE

Flávia Michele da Silva _____
Secretária do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da UNIUBE

Ciência do Aluno: _____

DEDICATÓRIA

Dedico ao meu pai e minha mãe, por ter dado oportunidade de me formar, e realizar meus sonhos.

Dedico também a minha esposa Kathia e meus dois filhos, Luis Artur e Luiza por apoiar e acreditar aos meus projetos, mesmo que muitas vezes falte tempo e atenção a eles.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu pai e minha mãe, por ter dado oportunidade de me formar, e realizar meus sonhos.

Agradeço a Deus por me dar saúde e oportunidade de trabalhar e estudar.

Agradeço a Coopatos, por permitir a minha ausência, causada pelos os estudos.

Agradeço a meu orientador Moacir Santos de Lacerda, pela a dedicação ao trabalho de mestrado.

Agradeço a todos meus professores, que me motivaram a sempre estudar, e entender que o conhecimento a gente busca e se conquista.

Agradeço as pessoas que duvidaram de mim, ou simplesmente não acreditaram, pois me motivaram a estudar.

Agradeço ao Laboratório Bayer por ter financiado todo o projeto.

RESUMO

Foram utilizados 208 primíparas em 4 fazendas, localizadas no município de Lagoa Grande-MG, todas com mesmo manejo, mesmo fornecedor de concentrado e silagem de milho como volumoso, onde todos os animais do projeto foram ordenhados primeiro, em linha de ordenha. O trabalho teve duração de 14 meses, 01/01/2012 a 1/3/2013, com o acompanhamento de toda a lactação, realizando testes de CMT, antibiograma, cultura, CCS e avaliação de mastite clínica na lactação. O teste de CMT foram realizados 7 dias após o parto, com coleta para cultura e antibiograma, nos tetos positivos ao teste. Dados de CCS e produção foram coletados mensalmente. A aplicação dos produtos foram aplicados 60 dias antes da data de parto previsto. Em cada fazenda teve obrigatoriamente 3 grupos: grupo 1 (controle), grupo 2 (cloxacilina+ampicilina) e grupo 3 (cloxacilina+ampicilina e enrofloxacino). Em relação à produção dos animais, durante toda a lactação de primíparas, não houve diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre os grupos 1, 2 e 3. Quanto às médias de CCS, números de mastite clínica e Teste de CMT, houve diferença significativa ($p < 0,05$) do grupo 1 em relação ao grupo 2 e 3. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos 2 e 3. A bactéria mais isolada no trabalho foi o grupo *Staphylococcus Coagulase Negativas* com 24,05%, 9,52% e 17,65%, nos lotes 1, 2 e 3 respectivamente. A aplicação do antibiótico enrofloxacino intramuscular, 60 dias antes do parto não teve eficiência, porém os antibióticos via intramamária no pré-parto obtiveram melhora significativa nos casos clínicos, na diminuição de CCS e no teste de CMT, mas não teve resposta quanto à produção de leite na lactação dos animais.

Palavras chave: Mastite, Primíparas, Antibiótico, CCS.

ABSTRACT

For this study, 208 heifers were used in 4 farms in the municipality of Lagoa Grande-MG, all under the same management, the same supplier of concentrate and corn silage as roughage, and all the animals of the project were milked first, in the milking line. The study lasted for 14 months, 01/01/2012 to 03/01/2013, with the accompaniment of the whole lactation period, performing tests of CMT, antibiogram, culture, SCC and evaluation of clinical mastitis during lactation. The CMT tests were performed 7 days after the parturition, with collection for culture and antibiogram, in the ones positive to the test. SCC and production data were collected monthly. The application of the products was done 60 days before the date the birth must be. In each farm there were 3 groups: group 1 (control), group 2 (ampicillin + cloxacillin) and group 3 (ampicillin + cloxacillin and enrofloxacin). Regarding the production of animals, throughout lactation of primiparous, there were no statistical differences ($p > 0.05$) between groups 1,2 and 3. The average of SCC, numbers of clinical mastitis and Test CMT, there was a significant difference ($p < 0.05$) in group 1 than in group 2 and 3. No significant difference ($p > 0.05$) was found between groups 2 and 3. The most commonly found bacteria in the group work was coagulase-negative Staphylococcus with 24.05%, 9.52% and 17.65%, in lots 1,2 and 3, respectively. The application of the intramuscularly enrofloxacin antibiotic, 60 days before birth, was not efficient, but intramammary antibiotics during pre-partum had a significant improvement in clinical cases, in the decrease of SCC and CMT test, but had no answer to the production of milk in lactating animals.

Keywords: Mastitis, Primiparous, Antibiotic, SCC.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequências absoluta e relativa de animais positivos e negativos ao teste de CMT, 7 dias após o parto.....	28
Tabela 2 - Frequências absoluta e relativa de número de tetos de animais positivos ao teste de CMT, 7 dias após o parto.....	29
Tabela 3 - Média de produção de leite (kg) e lactação (kg) em 305 dias.....	30
Tabela 4 - Média de CCS durante toda a lactação (305 dias).....	31
Tabela 5 - Número de casos de mastite clínica durante a lactação.....	32
Tabela 6 - Resultado de cultura do leite dos tetos positivos ao teste de CMT.....	33

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Frequência relativa de animais positivos e negativos ao teste de CMT, 7 dias após o parto.....	28
Gráfico 2- Frequências relativa de número de tetos de animais positivos e negativos ao teste de CMT, 7 dias após o parto.....	29
Gráfico 3- Média de produção de leite (kg) e lactação (kg) em 305 dias.....	30
Gráfico 4- Média de CCS durante toda a lactação (305 dias).....	31
Gráfico 5- Número de casos de mastite clínica durante a lactação.....	32
Gráfico 6- Resultado de cultura do leite dos tetos positivos ao teste de CMT.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS

CCS- Contagem de Células Somáticas.

CMT- California Mastitis Test.

SCN- Staphylococcus Coagulase Negativo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Perdas econômicas.....	13
2.2 Epidemiologia da mastite.....	14
2.3 Mastite.....	16
2.4 Uso de antibióticos.....	19
3 OBJETIVOS	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Animais e grupos experimentais.....	23
4.2 Aplicações dos medicamentos.....	23
4.3 Teste de CMT.....	24
4.4 Teste da caneca telada.....	25
4.5 Contagem de Células Somáticas.....	25
4.6 Análise microbiológica.....	25
4.7 Produção de leite.....	26
4.8 Análise estatística.....	27
5 RESULTADOS	28
6 DISCUSSÃO	35
7 CONCLUSÕES.....	40
8 REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

A criação de animais de reposição, independentemente do sistema de criação utilizado é um ponto crítico para produtividade de uma fazenda leiteira, uma vez que esses animais representam o futuro do rebanho. Nesse caso, o objetivo principal é proporcionar condições adequadas para que novilhas sejam criadas para expressar o máximo potencial de produção de leite, na idade adequada e com menor custo possível. Um dos fatores que pode contribuir para o sucesso do desenvolvimento e do crescimento das novilhas é a manutenção da saúde, sendo a mastite uma das doenças que podem afetar a capacidade produtiva desses animais (FONSECA; SANTOS, 2007).

A mastite é maior mal que aflige as propriedades leiteiras, causando imensos prejuízos em todo mundo. Sendo a mastite uma doença complexa e ampla com etiologia por vários microrganismos e condicionada por vários fatores, acrescentado à especificidade de tratamento a cada um dos agentes, torna-se ainda mais difícil o seu tratamento (COLDEBELLA et al., 2004).

O Brasil foi considerado o sexto maior produtor de leite do mundo (BRASILb, 2011; USDA, 2011), com volume de produção de 5,03 bilhões de litros de leite cru e resfriado no segundo trimestre de 2011. Conforme as estimativas para 2012 e 2013, esse valor deve superar 33 bilhões de litros e, em 10 anos, exceder a 38,18 bilhões de litros (IBGE, 2011).

O Brasil é um dos maiores produtores de leite do mundo, por isso a preocupação com a idoneidade de lácteos é crescente. No país, órgãos regulatórios, indústrias e consumidores pressionam os bovinocultores a ofertarem matéria-prima aceitável, pois perigos microbiológicos e químicos associados ao leite e seus derivados podem comprometer a segurança alimentar (COSTA et al., 2009; BRITO; LANGE, 2005; USDA, 2011).

Existe uma grande pressão da sociedade para melhorar a qualidade dos alimentos, sem antibióticos e medicamentos mais naturais, dentre estes, o leite. Como, na atualidade, as pessoas como consumidoras de bens de consumo e alimentos tem grande poder de persuasão sobre a indústria e sobre os produtores de alimento de modo geral, foi lançado no Brasil o Programa Nacional de Qualidade do Leite (PNQL) para melhoria na qualidade do leite produzido (BRASIL, 2011a).

No caso de novilhas, tem se observado animais com a contagem de células somáticas (CCS) altas, impulsionando diversos estudos para avaliação das causas e o que fazer para que o fato não ocorra, podendo variar conforme manejo de cada propriedade (FONSECA; SANTOS, 2007).

Sabe-se que conforme o manejo pré-parto, com influência do ambiente, pode se alterar as infecções nos animais, não só em primíparas, mas como também em múltiparas, necessitando de ferramentas de controle preventivo.

A antibioticoterapia no período pré-parto para controle da mastite em novilhas tem sido adotada, sendo imprescindível analisar os efeitos dessa prática sobre a qualidade do leite. Na legislação brasileira, o leite contaminado por resíduos de antibióticos é considerado adulterado e impróprio para consumo humano, representando riscos para a saúde pública, riscos tecnológicos para indústria de laticínios e riscos comerciais. Esta prática tem sido amplamente utilizada e estudada, como medida de controle e prevenção de mastite no período seco entre lactações.

Apesar de a mastite ser considerada a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros no mundo, não há estudos aprofundados com novilhas primíparas, baseado no conceito de que esses animais estariam livres de infecções. Entretanto, foi demonstrado em vários países e no Brasil que novilhas primíparas podem parir com a doença (CALVINHO et al., 2007).

Em novilhas, entretanto, ainda é pequeno o número de pesquisas realizadas nessa área, que objetivaram comprovar a eficiência de antibióticos na diminuição de mastite clínica e subclínica em primíparas e estimar as perdas de produção e qualidade do leite devido ao uso deste protocolo terapêutico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Perdas econômicas

No Brasil e no mundo, a mastite bovina causa prejuízos econômicos por reduzir a produção animal diária, aumentar gastos com medicamentos e assistência veterinária, além dos descartes prematuros de animais e leite contaminado com resíduos de antimicrobianos (ALMEIDA et al., 2005; ANDRADE et al., 2000; BETANCOURT et al., 2010; FERREIRA et al., 2007; LI et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2006; MARTINS et al., 2010; RAIA JÚNIOR, 2006; RIBEIRO et al., 2003; TRUJILLO et al., 2009).

Para os laticínios, a mastite pode interferir na qualidade da matéria prima empregada no processo industrial, gerando menores rendimentos, tempo de prateleira reduzido, defeitos de textura e alterações nas características sensoriais dos produtos (ALMEIDA et al., 2005; ANDRADE et al., 2000; BETANCOURT et al., 2010; FERREIRA et al., 2007; LI et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2006; MARTINS et al., 2010; RIBEIRO et al., 2003; SON et al., 2010; TRUJILLO et al., 2009).

A presença de altas CCS afeta a composição do leite e o tempo de vida de prateleira de leite e derivados, causando enormes prejuízos para os laticínios. A ocorrência de mastite subclínica e, conseqüentemente de altas CCS, causa diminuição da síntese de proteínas importantes para a fabricação de queijo, como por exemplo, da caseína e aumento das proteínas do soro, que são indesejáveis para os laticínios (FONSECA; SANTOS, 2000).

Conforme Fonseca, Santos (2000), a mastite é considerada a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros no mundo, e aquela que proporciona as maiores perdas econômicas na exploração de bovinos leiteiros. Estima-se que haja um prejuízo de cerca de US\$ 1,8 bilhão/ano nos EUA, em função da ocorrência de mastite. Já no Brasil, pode-se deduzir que, em função da alta prevalência de mastite nos rebanhos, possa ocorrer perda de produção entre 12% e 15.

Segundo Coldebella (2004), evidenciou-se que as perdas de produção de leite devido ao aumento da CCS são absolutas, isto é, independem do nível de produção dos animais. Ademais, elas começam a ocorrer a partir de uma CCS de 17.000 células/ml e são diferentes para primíparas e multíparas.

Há correlação negativa entre CCS e produção de leite e positiva entre CCS e porcentagens de gordura e de proteína. Animais com maior número de lactações apresentam maior CCS, e com CCS acima de 100.000 células/ml menor produção de leite (CUNHA et al., 2008).

Embora as perdas sejam aparentemente maiores no caso de mastite clínica, a prevenção e o controle da mastite subclínica devem merecer especial atenção dos produtores de leite, pois, por sua ocorrência não ser tão evidente como a da mastite clínica, pode resultar em prevalências mais altas, acarretando grandes ônus para o sistema de produção (MAGALHÃES et al., 2006).

2.2 Epidemiologias da mastite

A mastite é a doença infectocontagiosa mais comum em rebanhos bovinos destinados à produção de leite, sendo caracterizada pela inflamação da glândula mamária, em resposta à invasão de micro-organismos contagiosos ou ambientais. A enfermidade pode manifestar-se de forma clínica ou subclínica, causando alterações físico-químicas e microbiológicas no leite (BETANCOURT et al., 2010; FERREIRA et al., 2007; LI et al., 2009; MARTINS et al., 2010; TRUJILLO et al., 2009; ZSCHÖCK et al., 2011).

Segundo Fonseca, Santos (2007), a mastite contagiosa tem característica de baixa incidência de casos clínicos e alta incidência de forma subclínica, com necessidade de diagnóstico específico. Os prejuízos são na maior parte na perda de produção leiteira devido às mastites subclínicas. A transmissão de mastite contagiosa geralmente se deve a deficiência de equipamento de ordenha, mãos do ordenhador como fonte de infecção e contaminação da pele do teto, possibilitando assim a entrada dos microrganismos na flutuação de vácuo.

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

A mastite é uma patologia de grande perda econômica para a bovinocultura de leite no mundo inteiro. A maneira mais eficaz de controle é a prevenção por meio de assepsia e testes periódicos (MASSEI et al, 2008).

O elevado impacto econômico evidencia a necessidade de monitoramento da doença, para diminuir os prejuízos causados pela mesma. As despesas com tratamento preventivo representaram, no máximo, 9,2% do impacto econômico, o que demonstra vantagem em investir nessa prática, pois ela irá contribuir significativamente para o impacto econômico da mastite (DEMEU et al., 2011).

Segundo Langoni et al. (2011), algumas falhas de manejo dos animais e de ordenha tem ocorrido nas propriedades e a contaminação do leite do tanque com micro-organismos ambientais tem sido observada. Ressalta-se, desta forma, a necessidade de treinamento adequado e constante dos produtores para aplicação de boas práticas de produção.

A prevenção da mastite em novilhas está ligada a melhora na higiene dos animais, alimentação, controle de moscas e melhorar o conforto animal até o parto. Antibiótico no pré-parto em novilhas pode ser recomendado, como solução em curto prazo, porém com acompanhamento do veterinário do rebanho leiteiro da fazenda (DE VLIEGHER et al., 2012).

Embora as perdas sejam aparentemente maiores no caso de mastite clínica, a prevenção e o controle da mastite subclínica devem merecer especial atenção dos produtores de leite, pois, por sua ocorrência não ser tão evidente como a da mastite clínica, pode resultar em prevalências mais altas, acarretando grandes ônus para o sistema de produção (MAGALHÃES et al., 2006).

Barbosa et al. (2007), recomendou promover a primeira cobertura até os dois anos de idade, pois novilhas em idades mais avançadas são mais propensas a contrair infecções nas glândulas mamárias. A quantidade de células somáticas no leite aumenta gradualmente à medida que a lactação avança do meio para o fim.

Conforme Coentrão et al. (2008), os principais fatores de risco para ocorrência de mastite subclínica em vacas leiteiras foram as características dos animais, o manejo inadequado, inexistência de treinamento dos ordenhadores, a não utilização de serviços laboratoriais para identificação dos patógenos e o uso de equipamentos de ordenha sem manutenção periódica.

2.3 Mastite

A palavra mastite ou mamite bovina origina-se do grego “*mastos*” (mama) e *ite* (inflamação). O termo designa a inflamação da glândula mamária, provocada por causas físicas, químicas e biológicas, tais como: traumatismos ou lesões no úbere, e patógenos. Essa enfermidade acarreta alteração no aspecto físico-químico do leite, além de poder causar transtornos à saúde humana e repercutir mundialmente na atividade leiteira (BRAND et al., 2011; HARTMAN et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011).

Possivelmente ocorre a perda da funcionalidade do quarto mamário atingido e manifesta-se sob duas maneiras: mastite clínica e subclínica. A forma clínica apresenta sintomas inflamatórios evidentes: edema mamário, presença de coágulos, sangue e exsudato no leite, além de dor e hipertermia local (ALMEIDA et al., 2005; BLOWEY; EDMONDSON, 2010; DIAS, 2007; MARTINS et al., 2010).

Os microrganismos patogênicos da mastite aumentam a CCS, sendo *Streptococcus agalactiae* responsável pelo maior aumento. O efeito de animal dentro de rebanho, como ordem de parto e período de lactação também influenciam na variação da CCS de vacas leiteiras de rebanhos comerciais (SOUZA et al., 2009).

O leite dos quartos mamários infectados com *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) apresentam CCS superiores às dos quartos não infectados. Esses dados justificam a adoção de medidas preventivas e de controle especiais para as novilhas no pré e pós-parto, constituindo-se o acompanhamento pela CCS e exames microbiológicos em importantes ferramentas para o monitoramento da saúde da glândula mamária (LAFFRANCHI et al., 2001).

No Brasil, um estudo sobre ocorrência de infecções intramamárias no período pós-parto em primíparas indicou alta prevalência de quartos infectados (cerca de 26%) e alta incidência de mastite clínica nos primeiros sete dias pós-parto (20%). Entre os agentes mais frequentemente isolados encontram-se: *Staphylococcus* spp. Coagulase negativos (64,2%) e coagulase positivos (8,52%), *Streptococcus* spp. (7,96%), *Actinomycespyogenes* (4,55%), *Mycoplasma* *bovigenitalium* (3,4%) e *Escherichia coli* (2,84%) (FONSECA, SANTOS, 2007).

Infecções por *Staphylococcus aureus* geralmente se apresenta na forma subclínica, sendo um reservatório de infecção para o rebanho. A bactéria possui uma grande capacidade de penetração na glândula mamária, podendo formar

formação de tecido fibroso, formando “bolsões” de bactérias, que limita a ação dos antibióticos, caracterizando a infecção como de longa duração, crônica, baixa taxa de cura, seja espontânea ou por antibióticos (FONSECA, SANTOS, 2007).

Segundo Sears, Mccarthy (2003), o grau de susceptibilidade, varia conforme o rebanho e conforme a espécie do *Staphylococcus spp.* As duas mais comuns fontes de introdução do *Staphylococcus spp. aureus* são aquisição de animais infectados e ordenhadores carregando a bactéria para a fazenda e contaminando os animais e 63% dos isolados de *Staphylococcus spp.*, são cepas de bactérias multirresistentes, com resistência de pelo menos dois antibióticos diferentes (Medeiros et al., 2009).

Para Fonseca, Santos (2007), os *Staphylococcus coagulase negativos* (SCN), são grupos de bactérias importantes causadoras de mastite, essas bactérias geralmente estão presentes na pele do teto, e são consideradas oportunistas. O termo coagulase negativo refere-se ao teste laboratorial que difere do *Staphylococcus aureus*.

SCN são bactérias que colonizam a pele do teto, penetram na glândula produzindo mastite e são microrganismos de teto oportunista. SCN foi encontrado em vacas múltiparas e primíparas, em 46,7% do canal do teto, e os mesmos animais uma semana depois, apenas 9% continuavam positivas (SEARS, MCCARTHY, 2003).

A produção da coagulase por *Staphylococcus aureus* constitui um importante determinante fenotípico, uma vez que está associada à virulência desses microrganismos. Métodos de sequenciamento genético permitem a identificação de vários patógenos bacterianos. Porém, na contramão da necessidade de testes de baixo custo, esses métodos ainda são relativamente caros, trabalhosos e, na maioria das vezes, não estão na rotina diagnóstica de laboratórios especializados na área veterinária (ZAFALON et al., 2008).

Estudos realizados por Santos et al. (2011), foram encontradas *Staphylococcus* coagulase-negativa em 8,35% das amostras de leite. As espécies de *Staphylococcus* coagulase negativa, identificadas com maiores frequências foram: *S. hyicus* (15,0%), *S. chromogenes* (12,5%), *S. gallinarum* (12,5%), *S. lentus* (12,5%) e *S. epidermidis* (10,8%).

As espécies mais comuns de SCN são os *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus xylosus* (SEARS, MCCARTHY, 2003).

Segundo Santos et al. (2011), foram observados um maior número de infecções intramamárias por SCN, em rebanhos onde patógenos contagiosos são mais controladas. Betalactâmicos, ampicilina, penicilina e tetraciclina, demonstraram baixa eficiência contra os SCN isolados.

A baixa frequência de isolamentos de SCN e a susceptibilidade dos mesmos para a maioria dos antimicrobianos testados podem sugerir que estes tenham importância secundária na etiologia das infecções intramamárias nos rebanhos estudados (SANTOS et al., 2011).

SCN são bactérias oportunistas que colonizam a superfície da ponta do teto, com possibilidade de causar infecções intramamárias (SEARS, MCCARTHY, 2003). Os patógenos causam processos inflamatórios com diferentes intensidades. O aumento da CCS está relacionado com número de lactações. Existe correlação entre a ordem do parto e o valor de CCS dos animais com e sem infecção. Infecções é a maior causa de aumento de CCS, sendo as infecções por *Streptococcus agalactiae* com maiores valores de CCS (SOUZA et al., 2009).

Foram analisadas 291 cepas de *Staphylococcus* spp. recuperados de leite de vacas com mastite subclínica pertencentes à região metropolitana do Recife (A), agreste (B) e zona da mata do estado de Pernambuco (C). Das 291 cepas, 170 (58,4%) foram classificados como SCN, 37 (12,7%) como *Staphylococcus coagulase positiva* (SCP) e 84 (28,9%) como *Staphylococcus aureus* (MEDEIROS et al., 2009).

Os resultados obtidos neste estudo demonstram a elevada ocorrência do gênero *Staphylococcus* nos casos das mastites bovina na região estudada e sugere a necessidade de treinamentos a médio e longo prazo para capacitar os profissionais para a realização do controle e profilaxia adequados das mastites contagiosas (MOTA et al., 2012).

2.4 Uso de antibióticos

Há mais de 40 anos os antimicrobianos são utilizados em animais destinados à produção de alimentos, como bovinos, aves e suínos. Consoante a Organização Mundial da Saúde (OMS), antibióticos são fármacos produzidos por microrganismos ou seus equivalentes sintéticos, capazes de inibir o crescimento ou destruir os patógenos, mesmo em doses mínimas (BARROS et al., 2001; GOMES, 2004).

O uso de antibióticos por pecuaristas e médicos veterinários é relativamente comum. Em vacas produtoras de leite são empregados para tratamento de doenças infecciosas, como metrite, pneumonia, pododermatite, e principalmente mastite (COSTA, 2006; DRILLICH et al., 2001; PEZZA et al., 2006). Alguns ainda podem ser fornecidos nas dietas para animais de produção como promotores de crescimento (GOMES, 2004; NASCIMENTO et al., 2001; PEZZA et al., 2006; RAIA JÚNIOR, 2006).

A aplicação de antimicrobianos pode ser intramamária, normalmente feita para o tratamento da mastite; parenteral, intramuscular, intravenosa e subcutânea, na terapia de outras doenças, além da via intrauterina, para tratar de infecções reprodutivas (DENOBILO; NASCIMENTO, 2004; RAIA JÚNIOR, 2006; TENÓRIO et al., 2009).

Existem diversos antibióticos disponíveis no mercado, mas as principais classes empregadas em medicina veterinária são: os betalactâmicos, os macrolídeos e os aminoglicosídeos (FONSECA et al., 2009; NERO et al., 2007; PRIBUL et al., 2011; RAIA JÚNIOR, 2006).

Os antibióticos contaminam o leite geralmente em consequência dos protocolos curativos ou preventivos contra a mastite, feitos em animais lactantes ou não, sendo este denominado tratamento do período seco (GUEDES et al., 2009; NAM et al., 2009). Diversos betalactâmicos são utilizados em vacas de aptidão leiteira. Nessa classe se encontram: penicilinas, cloxacilina, amoxicilina e ampicilina, entre outras moléculas (COSTA, 2006; GUEDES et al., 2009; NERO et al., 2007; PRIBUL et al., 2011; RAIA JÚNIOR, 2006).

Segundo Mota et al. (2012), o uso inadequado de antibióticos e desinfetantes pode promover a resistência das bactérias às substâncias usadas no controle da mastite.

Os resultados obtidos mostram a necessidade da realização periódica de testes de sensibilidade *in vitro*, pois existem variações no perfil de sensibilidade e resistência que podem comprometer o tratamento do animal bem como os programas de controle da mastite bovina causada pelo *Staphylococcus* spp. (MEDEIROS et al., 2009; ZAFALON et al., 2007).

Segundo Pribul et al. (2011), os estudos apontam o envolvimento do gene *mecA* com a multirresistência bacteriana do *Staphylococcus aureus*. O gene *mecA* foi encontrado em 70% do *Staphylococcus aureus* das amostras colhidas.

Por causa da elevada prevalência de mastite em novilhas, mesmo antes do primeiro parto, uma das medidas de controle que pode ser implantada é o tratamento com antibiótico intramamário, que visa diminuir o nível de infecção. Os resultados obtidos com o uso de antibioticoterapia são a redução do número de quartos infectados e a diminuição de CCS das primíparas. Em termos de produção de leite, as novilhas tratadas com antibiótico antes do parto produzem mais leite durante a lactação que aquelas não tratadas e apresentam menor CCS. Os efeitos benéficos em termos de produção leiteira aumentada justificam economicamente a aplicação da infusão intramamária de antibiótico antes do parto para rebanhos que tenham identificado a ocorrência de mastite em novilhas (FONSECA, SANTOS, 2007).

As associações entre antimicrobianos visam potencializar a ação dos mesmos, diminuir efeitos indesejáveis e aumentar o espectro de ação sobre os microrganismos. A ciprofloxacina e a danofloxacina são quinolonas de segunda geração e esta última apresentou um percentual de sensibilidade de (95,2%) (MEDEIROS et al., 2009).

Pribul et al. (2011) detectaram a produção de betalactamases em 96,6% das amostras de *Staphylococcus aureus*, 26,6% das amostras foram consideradas multirresistentes com mais de quatro antibióticos testados, enquanto que Medeiros et al. (2009), relatam que as associações de antibióticos, neomicina-bacitracinatetraciclina foram as mais eficazes nos tratamentos dos animais, em mastites subclínicas, contra as bactérias *Staphylococcus* spp. no Estado de Pernambuco.

O tratamento intramamário com antibióticos (cefalexina 200 mg + 250 mg neomicina), 45 dias antes da data do parto prevista de novilhas foi efetivo em novilhas. O tratamento foi também preventivo a altas CCS (BASTAN et al., 2010).

Dentre os antimicrobianos de utilização em medicina veterinária para tratamento das infecções intramamárias, danofloxacina, enrofloxacina e florfenicol foram aqueles que apresentaram maior efetividade *in vitro* (100%) frente aos isolados testados, fazendo destes uma opção de tratamento das mastites ocasionadas por SCN (SANTOS et al., 2011).

Segundo Sears, Mccarthy (2003), o tratamento da vaca seca com antibióticos eliminam 80 a 100% das infecções de *Staphylococcus coagulase negativos*. Fármacos para o tratamento de vacas no período seco devem ser empregados apenas nessa fase, porque são formulados para atuarem por mais tempo no úbere (FAGUNDES, 2003; GOMES, 2004; GREEN et al., 2002; RAIÁ JÚNIOR, 2006).

O benefício econômico do tratamento de primíparas, no pré-parto, com antimicrobianos, tem sido avaliado e considerado compensador por alguns pesquisadores por reduzir a ocorrência de mastite durante o início da lactação e aumentar a produção de leite na lactação subsequente. Além disso, reduz o descarte prematuro de animais, pois é preciso referir que o custo estimado em média de criação de novilhas em propriedade leiteira está entre 800 a 1200 dólares (JAENICKE et al., 1999; OLIVER; MITCHEL, 1983).

A opção mais fácil para reduzir a prevalência de infecção intramamária ao parto é tratar todas as novilhas com antibióticos antes do parto (OLIVER et al., 2004).

No Brasil, Costa et al., (2004), compararam o nível de ocorrência de infecções em primíparas em duas propriedades leiteiras e avaliaram a relação custo/benefício da antibioticoterapia. Os autores concluíram que a relação custo/benefício é atrativa apenas em plantéis com alto nível de infecções intramamárias em novilhas e, portanto, não deveria ser utilizada indiscriminadamente.

A terapia vaca seca é necessária para o controle de infecções intramamárias no rebanho, porém deve se estudar qual fármaco usar na propriedade, pois podem ter diferentes resultados. Níveis terapêuticos dos antibióticos na secagem podem persistir em média 14 a 28 dias após a aplicação, ocorrendo na maioria das vezes incapazes de proteger o úbere durante todo o período seco (PETZER et al., 2009).

Terapia da vaca seca com antibióticos pode diminuir a incidência de infecções existentes na secagem e reduz a incidência de novas infecções durante o período seco (LENTS et al., 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência de antibióticos no pré-parto na prevenção de mastite clínica e subclínica em primíparas leiteiras.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar estatisticamente a eficiência de antibióticos na diminuição de mastite clínica e subclínica em primíparas;
- Verificar perdas de produção devido à mastite subclínica;
- Verificar diferença entre os lotes quanto à contagem de células somáticas no leite;
- Determinar a prevalência de microrganismos nos animais analisados;
- Comparar casos de mastite clínica entre os grupos tratados e não tratados;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 208 animais, primíparas, Girolando com grau de sangue 3/4 e 7/8 Holandês/Gir, pertencentes a quatro fazendas leiteiras, na mesma faixa de produção de 4.000 a 6.000 litros/dia, durante todo o ano, localizadas no município de Lagoa Grande-MG. Cada fazenda teve obrigatoriamente todos os três lotes, com mínimo de 13 animais em cada lote, com divisão dos animais em cada grupo de forma aleatória, distribuídos da seguinte maneira:

Grupo 1 - Controle (sem nenhum tipo de aplicação)

Grupo 2 - Animais tratados com anti-mastítico intramamário para vaca seca¹.

Grupo 3 – Animais tratados com anti-mastítico intramamário para vaca seca + aplicação intramuscular de antibiótico².

Todos os animais dentro da mesma fazenda foram submetidos ao mesmo manejo, sendo observados durante toda a lactação. A alimentação dos animais foram à base de silagem de milho e concentrado, sendo o concentrado originado do mesmo fornecedor. A quantidade de ração variava conforme a produção de leite, porém as primíparas ficavam em lotes separados, entrando em linha de ordenha como as primeiras a serem ordenhadas, nas duas ordenhas.

4.2 Aplicações dos medicamentos

As aplicações dos medicamentos foram realizadas 60 dias antes da previsão do parto das novilhas. Todos os animais estavam gestantes de inseminação artificial, devidamente confirmadas pelo o exame de toque retal, com data exata da

¹ Bovigam VS: Ampicilina Base 250 mg + Cloxacilina base 500 mg. Bayer, Rio de Janeiro – RJ. ² Bovigam VS: Ampicilina Base 250 mg + Cloxacilina base 500 mg + Enrofloxacino 10 g. Bayer, Rio de Janeiro – RJ.

cobertura dos animais, com previsão de 285 dias para o parto após a data de inseminação.

Antes das aplicações intramamárias houve antissepsia dos tetos, imergindo os tetos em solução de iodo a 5.000 partes por milhão (ppm), e secagem dos mesmos com papel toalha descartável. Após 30 segundos realizou-se antissepsia do esfíncter do teto utilizando algodão umedecido em álcool a 70%. A dosagem do medicamento intramamário, uma bisnaga por teto, após o processo de antissepsia.

Os animais com aplicação injetável intramuscular foram realizados com seringas estéreis, máximo de 10 ml/local de aplicação, respeitando a dosagem do medicamento de 3 ml/40 Kg de peso vivo, pesados individualmente no momento da aplicação.

Conforme orientações do fabricante dos medicamentos, o período de carência dos antibióticos é de 45 dias para o Bovigam VS, e 3 dias para o Kinetomax.

Os animais do grupo 1 não foram realizadas nenhum tipo de aplicação.

4.3 Teste de CMT

Os animais foram avaliados através da realização através do *California Mastitis Test* (CMT) no dia 7 após o parto, realizado pela mesma pessoa para evitar subjetividade. Para os tetos positivos no teste de CMT foram coletados amostras para realização de cultura e antibiograma. Para a realização do CMT foi retirada uma amostra de leite de cada quarto mamário à qual foi adicionado, na mesma proporção, um detergente aniônico (alquil-lauril sulfato de sódio) capaz de emulsionar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite, com consequente liberação do material nucleico. Nesse teste a gelificação é proporcional à quantidade de células presentes classificada em diferentes escores, que correspondem às diferentes intensidades do processo inflamatório. A interpretação do teste CMT foi realizada de acordo com Barnumt e Newbouldt (1961) sendo classificado em escores negativo, traços, uma cruz, duas cruces ou três cruces, de acordo com ausência ou aumento da viscosidade da mistura. Os quartos mamários que apresentaram viscosidade a partir do escore de uma cruz foram submetidos à coleta do leite para cultura microbiológica e sensibilidade a antibióticos, sendo então apenas considerado positivo ou negativo ao teste de CMT.

4.4 Teste da caneca telada

Foi realizado o teste da caneca telada em todos os animais, antes de cada ordenha, avaliando os 3 primeiros jatos de leite em cada teto, observando a presença de grumos no leite, fazendo assim o diagnóstico da mastite clínica. Este procedimento faz parte de rotina das fazendas estudadas. Sendo abordado neste trabalho os casos de mastite clínica dos animais estudados, durante toda a lactação.

4.5 Contagem de Células Somáticas

Para a realização da CCS, as amostras de leite foram colhidas em frascos plásticos contendo conservante bronopol e enviadas no mesmo dia da coleta para o Laboratório Clínica do Leite (ESALQ- USP).

O bronopol é um conservante em forma de pastilha que em contato com o leite, resulta em uma mistura de coloração rosa claro. Para a determinação de CCS das amostras de leite foi empregada à técnica de citometria de fluxo utilizando o aparelho SOMACOUNTTM 500². O resultado foi expresso em número de células multiplicado por 10³ml (BENTLEY, 1995).

4.6 Análise microbiológica

No momento do teste de CMT, sete dias após o parto, foi realizada coleta de amostras de leite para diagnóstico microbiológico individual, nos animais positivos ao teste, visando à identificação de patógenos causadores de mastite. As amostras de leite foram obtidas imediatamente antes da ordenha, após descartar os três primeiros jatos de leite. Foi realizado a desinfecção dos tetos com solução de iodo a 5.000 ppm, e secagem dos mesmos com papel toalha descartável, após 30 segundos. No momento da coleta, realizou-se antisepsia do esfíncter do teto utilizando algodão umedecido em álcool a 70%. Os jatos foram retirados de tetos individuais, e acondicionados em frascos estéreis previamente identificados com o número e teto do animal. O material amostrado foi congelado e, então, encaminhado

² Somacount 500® - Bentley Analytical Instruments for Dairy Industry

em recipiente isotérmico, com gelo, ao Laboratório Vidavet, Botucatu-SP, para realização do diagnóstico microbiológico com o isolamento e caracterização dos microrganismos, com análise de sensibilidade a antibióticos.

Amostras de leite foram cultivadas em placas de ágar sangue 5% (v/v), incubadas em aerobiose em estufa bacteriológica a 37°C e analisadas após 24 e 48 horas. Após a incubação, foram registradas as características de crescimento das colônias em ágar sangue, como produção de hemólise, pigmento, tipo de desenvolvimento e pigmentação das colônias, observando-se a seguir os caracteres morfo-tintoriais utilizando a técnica de coloração de Gram. As colônias que se revelaram como cocos Gram positivos foram submetidas às provas de catalase e coagulase lenta com plasma de coelho. As leituras para a verificação da produção de coagulase foram realizadas uma, duas, três, quatro e 24 horas após incubação das amostras a 37°C (GARCIA; MORENO; BERGDOLL, 1980). Foram realizadas provas bioquímicas para identificação de microrganismos isolados (MURRAY et al., 1999).

As estirpes catalase e coagulase positivas foram submetidas à prova para verificação de produção da acetoina com o teste de Vermelho de Metila e VogesProskauer (caldo MRVP) para a diferenciação do *Staphylococcus aureus* e outros *Staphylococcus coagulase positiva*. As estirpes produtoras de acetoina foram testadas quanto à utilização ou não da maltose e trealose (MACFADDIN, 1976; MURRAY et al., 1999; APHA, 2001). As estirpes que se mostraram positivas a essas provas foram classificadas como *Staphylococcus aureus* (MACFADDIN, 1976; APHA, 2001).

4.7 Produção de leite

A produção de leite das vacas foi avaliada, mensalmente, durante toda a lactação dos animais. A produção foi mensurada por meio de medidores de leite acoplados ao equipamento de ordenha, nas ordenhas da manhã e da tarde, possibilitando, assim, a avaliação da produção individual.

Foram avaliados partos de março a setembro de 2012, com avaliação de dados de CCS e produção de leite, dos animais até julho 2013, durante toda a lactação dos animais.

4.8 Análise estatística

Os testes estatísticos foram realizados em programa de computador *Graphpad Prism 6.0* fixando em 0,05% ou 5% ($\alpha \leq 0,05$) o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

O teste de Qui-quadrado (χ^2) seguido do Teste de Fisher foi utilizado para as análises estatísticas de frequência de teste de CMT, por quantidade de tetos e número de animais e números de casos de mastite clínica na lactação.

As médias de produção na lactação e médias de CCS foram submetidas à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey.

5 RESULTADOS

Foram avaliados a positividade ao teste de CMT, 7 dias após o parto, nos 3 lotes analisados. Houve diferença estatística ($p < 0,05$) do grupo 1 com os grupos 2 e 3. O grupo 1 obteve 42,47% dos animais positivos ao teste de CMT, contra 27,14% e 21,54% dos grupos 2 e 3, respectivamente (Tab. 1 e Gráf. 1).

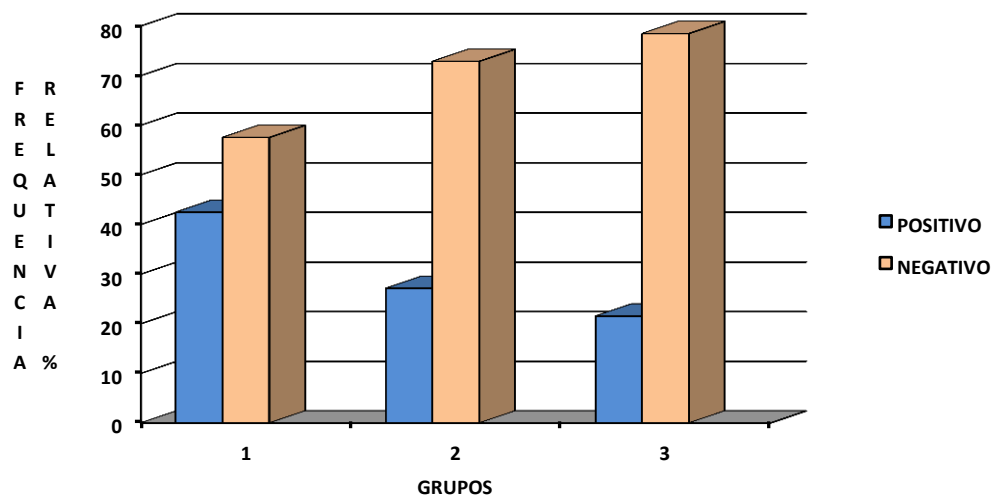
Tabela 1 - Frequências absoluta e relativa de animais positivos e negativos ao teste de CMT, 7 dias após o parto.

	1		2		3	
	FA	FR	FA	FR	FA	FR
POSITIVOS	31	42,47Aa	19	27,14Bb	14	21,54Bb
NEGATIVOS	42	57,53Aa	51	72,86Bb	51	78,46Bb
TOTAL	73	100	70	100	65	100

FA= Frequência absoluta. FR= Frequência relativa (%).

Nota: ^A Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha são similares entre si pelo teste Fisher ($p > 0,05$). ^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna são similares entre si pelo teste Fisher ($p > 0,05$).

Gráfico 1 - Frequência relativa de animais positivos e negativos ao teste de CMT, 7 dias após o parto.



Em relação ao número de tetos positivos no teste de CMT, o grupo 1 obteve diferença estatística ($p < 0,05$), em relação ao grupo 1 e 2. O grupo 1 obteve 27,05% dos tetos positivos ao teste de CMT, 7 dias após o parto, contra 15,00% e 13,08% do grupo 2 e 3 respectivamente, (Tab. 2 e Gráf. 2).

Tabela 2 - Frequências absoluta e relativa de número de tetos de animais positivos ao teste de CMT, 7 dias após o parto.

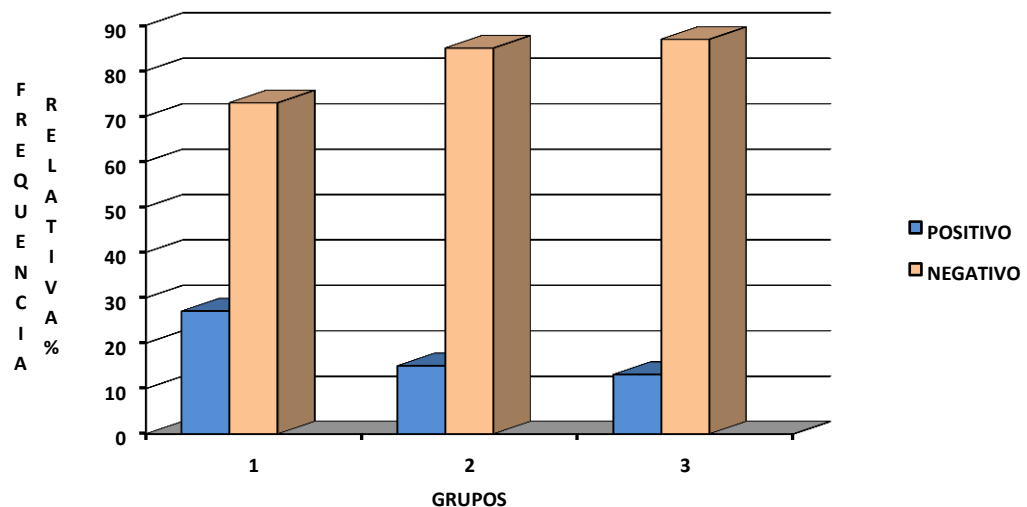
	1		2		3	
	FA	FR	FA	FR	FA	FR
POSITIVOS	79	27,05Aa	42	15,00Bb	34	13,08Bb
NEGATIVOS	213	72,95 Aa	238	85,00Bb	226	86,92Bb
TOTAL	292	100	280	100	260	100

FA= Frequência absoluta. FR= Frequência relativa (%).

Nota: ^A Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha são similares entre si pelo teste Fisher ($p > 0,05$).

^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna são similares entre si pelo teste Fisher ($p > 0,05$).

Gráfico 2 - Frequências relativa de número de tetos de animais positivos e negativos ao teste de CMT, 7 dias após o parto.



Quanto à produção de leite dos animais, durante toda a lactação de primíparas, não houve diferenças estatísticas ($p>0,05$) entre os grupos 1,2 e 3. Com média de produção na lactação de 19,01,19,60, e 19,52 Kg/dia, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente (Tab. 3 e Gráf. 3).

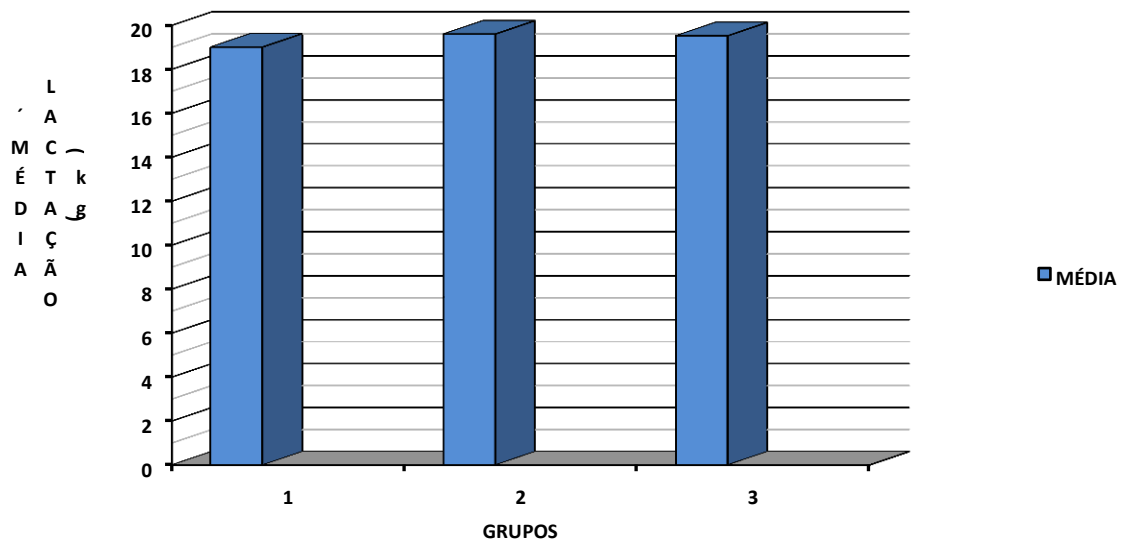
Tabela 3- Média de produção de leite (kg) e lactação (kg) em 305 dias.

Grupos	1	2	3
Média (Kg)	19,01Aa	19,60Aa	19,52Aa
Lactação (Kg)305 dias	5797,95Aa	5979,50Aa	5954,10Aa
TOTAL	73	70	65

Nota: ^A Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha são similares entre si pelo teste Tukey ($p>0,05$).

^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna são similares entre si pelo teste Tukey ($p>0,05$).

Gráfico3- Média de produção de leite (kg).



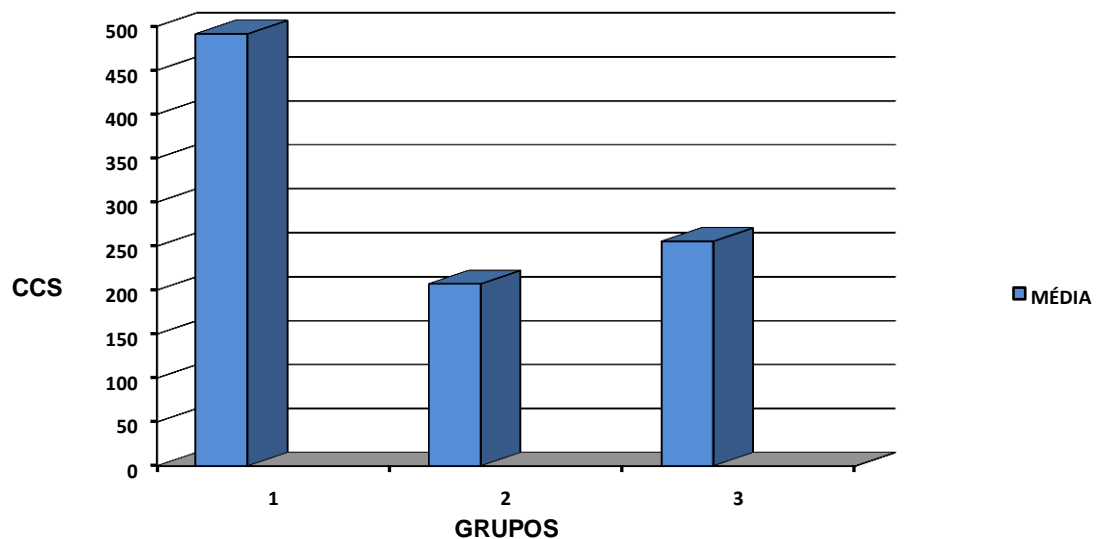
Quanto às médias de CCS nas lactações das primíparas, houve diferença significativa ($p < 0,05$) do grupo 1 em relação ao grupo 2 e 3. O grupo 1 teve média de CCS de $491,38 \times 10^3$ células/ml de leite, contra 207,06, e $255,40 \times 10^3$ células/ml de leite, do grupo 2 e 3, respectivamente (Tab. 4 e Gráf. 4). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos 2 e 3, em relação à CCS.

Tabela 4- Média de CCS durante toda a lactação (305 dias).

Grupos	1	2	3
Média CCS	491,38A	207,06B	255,40B
TOTAL	73	70	65

Nota: ^A Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha são similares entre si pelo teste Tukey ($p > 0,05$). ^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna são similares entre si pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Valores de CCS devem ser multiplicados por $\times 10^3$ cels/ml leite.

Gráfico 4 - Média de CCS durante toda a lactação (305 dias).



Nos casos de mastite clínica durante a lactação nas primíparas, o grupo 1 houve diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao grupo 2 e 3. O grupo 1 obteve 38,36% dos animais com mastite clínica, contra 20,00% e 21,54% dos animais com mastite clínica, dos grupos 2 e 3, respectivamente (Tab. 5 e Gráf. 5).

Tabela 5- Número de casos de mastite clínica durante a lactação.

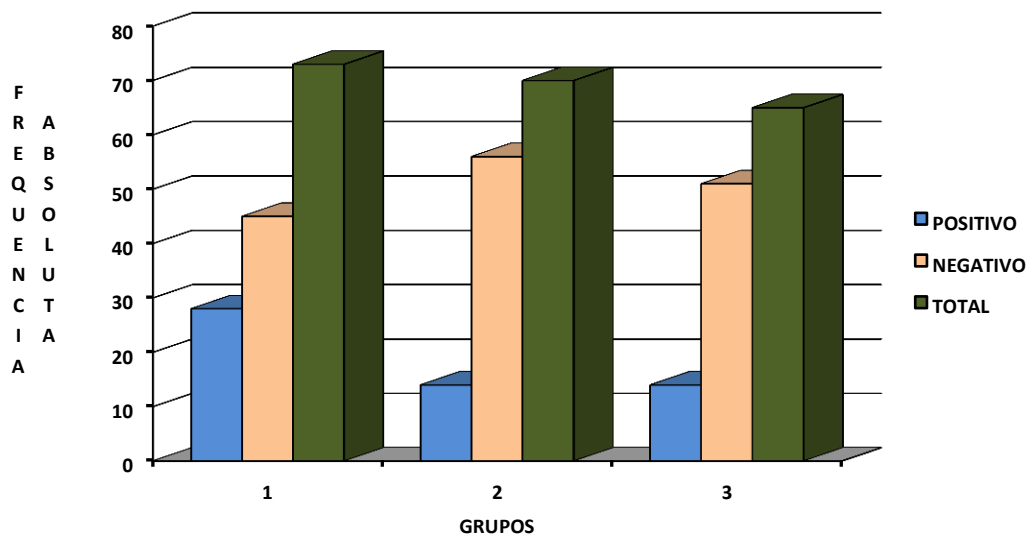
Grupos	1		2		3	
	FA	FR	FA	FR	FA	FR
POSITIVOS	28	38,36Aa	14	20,00Bb	14	21,54Bb
NEGATIVOS	45	61,64Aa	56	80,00Bb	51	78,46Bb
TOTAL	73	100	70	100	65	100

FA= Frequência absoluta. FR= Frequência relativa (%).

Nota: ^A Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na linha são similares entre si pelo teste Fisher ($p > 0,05$).

^a Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna são similares entre si pelo teste Fisher ($p > 0,05$).

Gráfico 5- Número de casos de mastite clínica durante a lactação.



As bactérias mais encontradas no trabalho, na coleta da amostra de leite por teto positivo ao teste de CMT, 7 dias após o parto foram : *Staphylococcus coagulase* negativos (SCN) (18,71%), *Bacillus sp.*(4,52%), *Streptococcus agalactiae* (2,58%), *Streptococcus sp.*(4,52%), *Pseudomonas sp.*(2,58%), *Micrococcus sp.*(0,64%), *Enterococcus sp.*(0,64%).

Tabela 6- Resultado de cultura do leite dos tetos positivos ao teste de CMT.

Microrganismos	1		2		3		TOTAL	
	FA	FR	FA	FR	FA	FR	FA	FR
<i>Bacillus sp.</i>	4	5,06	1	2,38	2	5,88	7	4,52
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	2,53	1	2,38	1	2,94	4	2,58
<i>Streptococcus sp.</i>	7	8,86	0	0,00	0	0,00	7	4,52
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	1,27	3	7,14	0	0,00	4	2,58
<i>Micrococcus sp.</i>	1	1,27	0	0,00	0	0,00	1	0,64
<i>Enterococcus sp.</i>	0	0,00	1	2,38	0	0,00	1	0,64
<i>Staphylococcus coagulase</i> <i>negativo</i>	19	24,05	4	9,52	6	17,60	29	18,71
Negativo	45	56,96	32	76,19	25	73,50	102	65,81
TOTAL	79	100	42	100	34	100	155	100

FA= Frequência absoluta. FR= Frequência relativa (%).

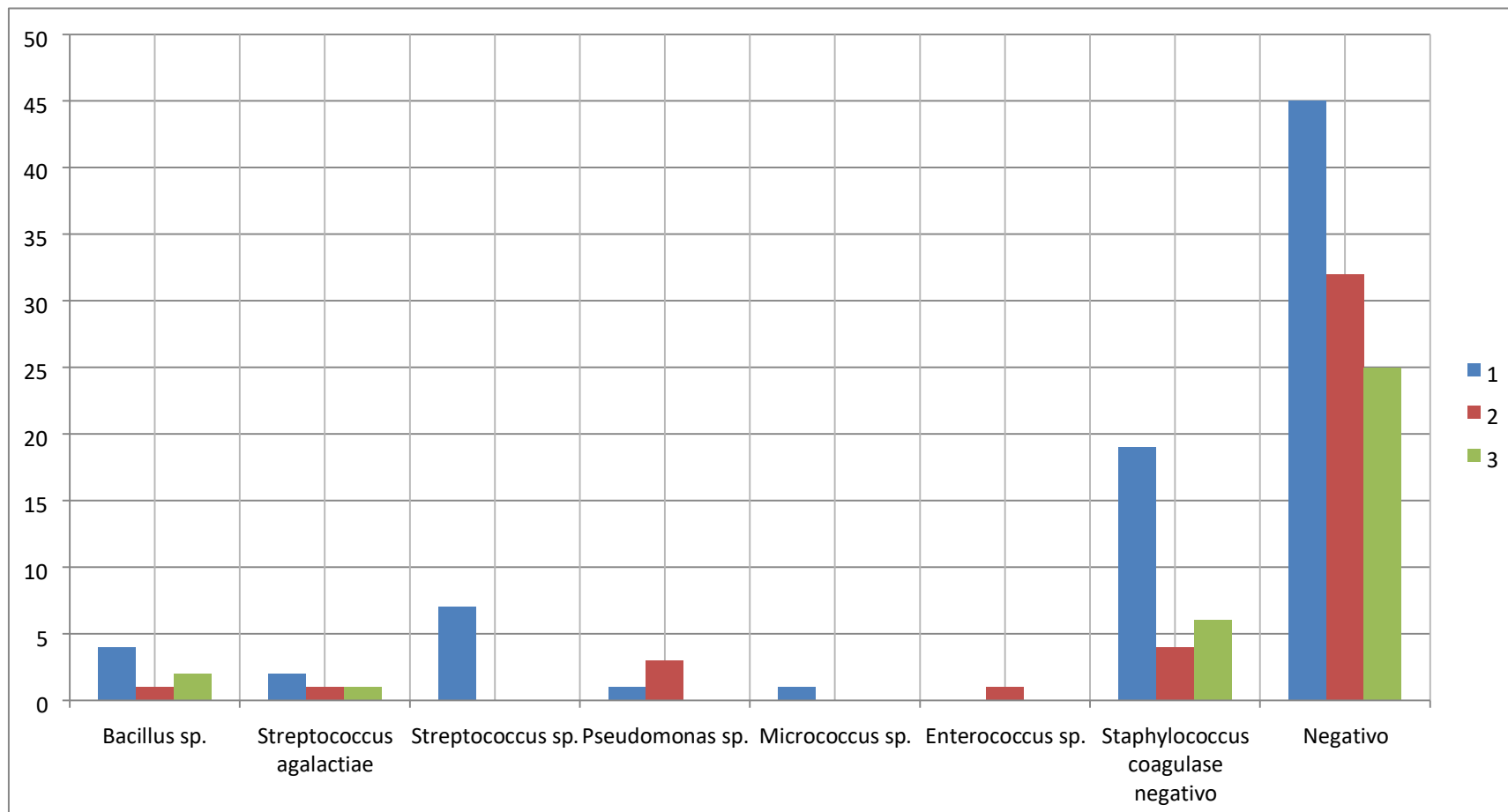


Gráfico 6- Resultado de cultura do leite dos tetos positivos ao teste de CMT.

6 DISCUSSÃO

No presente trabalho foi realizado como diagnóstico de mastite subclínica, o Teste de CMT, 7 dias após o parto, e o exame de CCS, mensalmente.

Quanto ao teste de CMT, o grupo 1 teve diferença estatística em relação ao grupo 2 e 3, respectivamente (Tab. 1, 2 e Gráf. 1, 2). Os resultados mostram que os tratamentos com fármacos antibióticos no período seco interferem no teste CMT. O teste de CMT pode ser usado como diagnóstico em mastite subclínica (CARNEIRO, 2006; COLDEBELLA et al., 2003; DIAS, 2007; MENDONÇA, 2008; PEIXOTO et al., 2009; FERGUSON et al., 2007).

Exames complementares para o diagnóstico de mastite subclínica bovina foram desenvolvidos e quantificam ou estimam a CCS no leite como o *Wisconsin Mastitis Test* (WMT), o *California Mastitis Test* (CMT) e a Contagem Eletrônica de Células Somáticas (CARNEIRO, 2006; COLDEBELLA et al., 2003; DIAS, 2007; MENDONÇA, 2008; PEIXOTO et al., 2009).

O diagnóstico presuntivo da mastite subclínica pode ser realizado individualmente por meio do *California Mastitis Test* (CMT) em vacas e indicar, indiretamente, a contagem de células somáticas (CCS) do leite (BENTACOURT et al., 2010). Exames microbiológicos do leite com reação moderada ou severa ao CMT permitem a identificação do agente causador da infecção mamária e podem auxiliar na adoção de medidas eficazes para o seu tratamento (RIBEIRO et al., 2003).

Nas médias de CCS nas lactações das primíparas, houve diferença significativa ($p < 0,05$) do grupo 1 em relação ao grupo 2 e 3, portanto não havendo diferença entre os grupos 2 e 3. Os resultados do presente trabalho estão de acordo com os de Fonseca, Santos (2007) que encontraram número menor de CCS em primíparas com o uso de antibiótico intramamário com o objetivo de diminuir o nível de infecção (Tab. 4 e Gráf. 4). Igualmente encontrado por Bastan et al., (2010), o tratamento no pré-parto com antibióticos em novilhas foi também preventivo a altas CCS.

O estado infeccioso do úbere é o principal fator para o aumento da CCS no leite. Outros aspectos individuais contribuem como o estágio de lactação, a maior ordem de partos, a menor produção de leite por vaca ao dia, a idade avançada do animal e o estresse (COSTA et al., 2000; FERREIRA et al., 2007; GREEN et al.,

2002; POUTREL et al., 1997). Na Flandres, Bélgica, estimou-se que 35% das novilhas tem mastite subclínica no início da lactação, como evidenciado por um leite com CCS > 150.000 células/ml entre 5 e 14 dias de lactação (DE VLIEGHER et al., 2001).

Conforme resultados em relação à produção na lactação, não houve diferença significativa entre os três grupos analisados. Mesmo resultado foi encontrado por Fox (2009), que o impacto da mastite em novilhas em lactação desde início a sua produtividade futura provavelmente não é tão claro como presumido. Menor CCS e maior produção de leite sobre a primeira lactação, conforme relatado por Sampimon et al., (2009), nem sempre são vistos (BORM et al., 2006).

Os estudos que relatam um efeito positivo sobre a produção de leite ou de uma diminuição da incidência de mastite clínica mostram uma alta prevalência de importante patógenos causadores de infecções intramamárias (KREIGER et al., 2007.; BRYAN, TAYLOR, 2009; SAMPIMON et al., 2009), enquanto que os estudos não encontram diferenças em infecções intramamárias com patógenos menores, como os SCN (BORM et al., 2006; PARKER et al., 2008).

Para um programa controle efetivo de controle mastite deve estar baseado principalmente nas medidas de prevenção. É importante utilizar a terapia com o objetivo de auxiliar as defesas específicas e inespecíficas do animal na eliminação do microrganismo invasor. O sucesso terapêutico deve ser avaliado mais pela redução dos sintomas clínicos que pela total eliminação do patógeno da glândula mamária. O melhor parâmetro da eficácia do tratamento é, em última análise, a produção de leite (COSTA, 2002).

Nos casos de mastite clínica durante a lactação nas primíparas, no grupo 1 houve diferença estatística ($p < 0,05$) em relação ao grupo 2 e 3. O grupo 1 obteve 38,36% dos animais com mastite clínica, contra 20% e 21,54% dos animais com mastite clínica, dos grupos 2 e 3, respectivamente. Salienta-se que não foi realizado cultura e antibiograma dos animais que apresentavam mastites na lactação, sendo realizado cultura e antibiograma apenas nos animais positivos ao teste de CMT, 7 dias pós-parto.

Não foram coletadas amostras de leite dos animais com mastite clínica na lactação, obtendo apenas a quantidade de casos clínicos, através do teste da caneca telada. O mesmo foi encontrado por Pardo et al. (1998), onde foi observado alto índice de mastite clínica (20,48%), analisaram 664 amostras de leite de 83

primíparas da raça Holandesa. As amostras foram coletadas no primeiro e no sétimo dia após o parto. Destas, 488 (73,50%) foram bacteriologicamente negativas e 176 (26,50%), positivas para microrganismos aeróbios.

As bactérias mais encontradas no trabalho, na coleta da amostra de leite por teto positivo ao teste de CMT, 7 dias após o parto foram: *Staphylococcus coagulase negativos* (SCN) (18,71%), *Bacillus sp.*(4,52%), *Streptococcus agalactiae* (2,58%), *Streptococcus sp.*(4,52%), *Pseudomonas sp.*(2,58%), *Micrococcus sp.*(0,64%), *Enterococcus sp.*(0,64%). O grupo SCN com 24,05, 9,52 e 17,65%, nos lotes 1,2 e 3, respectivamente.

O SCN foram encontrados em diversos trabalhos como bactérias mais comuns em primíparas logo após o parto na mastite subclínica, sem interferência na produção de leite. A grande maioria das infecções intramamárias em novilhas em início de lactação é causada por SCN (FOX, 2009), mas que não é motivo de preocupação (PIEPERS et al., 2010).

Staphylococcus coagulase positivos e negativos, além do *Streptococcus spp.* são os agentes microbianos mais prevalentes (DRESCHER et al., 2010; FONTANA et al., 2010; MENDONÇA, 2008; RIBEIRO et al., 2003; RUIZ et al., 2011; ZAFALON et al., 2008). Infecção intramamárias causada por SCN no primeiro mês de lactação em primíparas correlaciona-se com o aumento da CCS sobre toda a primeira lactação (PARADIS et al., 2010).

Quando SCN são as principais causas de infecções intramamárias em novilhas, a produtividade não é afetada (PARADIS et al. 2010), fazendo com que o tratamento pré-parto com antibióticos devem ser discutidos (DE VLIEGHER, et al., 2012).

Segundo Santos et al.. (2011), a transmissão da mastite por SCN geralmente se deve a deficiência de equipamento de ordenha, mãos do ordenhador como fonte de infecção, e contaminação da pele do teto, possibilitando assim a entrada dos microrganismos na flutuação de vácuo, sendo uma mastite do tipo contagiosa.

As cepas de *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), em geral causam infecção mamária moderada e são considerados patógenos secundários (BRITO et al., 2002; POUTREL et al., 1997). Mais de dez espécies de SCN foram isoladas de leite bovino, sendo *S. epidermidis*, *S.hyicus*, *S. haemolyticus*, *S. chromogenes*, *S. Simulans*, entre outras (BRITO et al., 2002; PATE et al., 2011). Segundo Santos (2007), os SCN, são grupos de bactérias importante causadora de mastite, essas

bactérias geralmente estão presentes na pele do teto e são consideradas oportunistas. O termo coagulase negativo refere-se ao teste laboratorial que difere do *Staphylococcus aureus*.

Segundo Sears, McCarthy, (2003), SCN são bactérias que colonizam a pele do teto, e penetram na glândula produzindo mastite e são microrganismos de teto oportunista. SCN foi encontrado em vacas multíparas e primíparas, em 46,7 % do canal do teto, e os mesmos animais uma semana depois, apenas 9% continuam positivas. Segundo Santos et al., (2011), as espécies de *Staphylococcus coagulase* negativa, identificadas com maiores frequências foram: *S. hyicus* (15,0%), *S. chromogenes* (12,5%), *S. gallinarum* (12,5%), *S. lentus* (12,5%) e *S. epidermidis* (10,8%).

Nas infecções intramamárias, as bactérias mais comum encontradas, de *Staphylococcus coagulase* negativos, são *S. chromogenes*, *S. epidermis*, e *S. simulans*. Nas infecções intramamárias causadas por SCN, não foi encontrado correlação direta com aumento de CCS, produção de leite e período de lactação (THORBERG et al. 2009). Segundo Sears, McCarthy (2003), as espécies mais comuns de SCN são os *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus xylosus*.

As infecções presentes no início da lactação por SCN podem persistir durante todo o período de lactação (PIESSENS et al., 2011; SUPRE et al., 2011). Infecções intramamárias devido ao SCN em novilhas no início da lactação não teve efeito negativo sobre a produção média de leite durante a lactação (KIRK et al., 1996). A produção média de leite não foi diferente entre os grupos de novilhas que eram ou cultura negativa ou cultura positiva para *Staphylococcus aureus* ou SCN no primeiro mês de lactação (PARADIS et al. de 2010). As primíparas infectadas por SCN, não obteve diferença significativa na lactação (PARADIS et al., de 2010).

A mastite caracteriza-se pela alta incidência em bovinos leiteiros, oscilando entre 44,88 e 97%, e provoca perdas de 25,40 e 43,00% na produção de leite, principalmente em multíparas (RIBEIRO et al., 2003). A mastite ocorre durante todo o ano e a maior prevalência foi observada em períodos chuvosos e em propriedades mais tecnificadas e de produção de leite elevada (PEIXOTO et al., 2009).

O isolamento microbiológico permite a identificação mais segura dos patógenos causadores da mastite e, apesar de ser trabalhoso e relativamente

oneroso, recomenda-se a sua realização, especialmente nos casos recidivantes ou em rebanhos com elevada prevalência da doença (DIAS, 2010).

Os agentes isolados com maior frequência foram *Staphylococcus*. Coagulase negativa (64,20%), *Staphylococcus* coagulase positiva (8,52%), *Streptococcus* spp.(7,96%), *Actinomyces pyogenes*(4,55%), *Mycoplasma bovigenitalium*(3,40%) e *Escherichia coli* (2,84% (PARDO et al.,1998).

Staphylococcus coagulase negativos são como um grupo ainda considerado menor patogênicos da flora da pele oportunistas (SCHUKKEN et al., 2009) , embora sua natureza inofensiva recentemente tenha sido contestada (TAPONEN et al., 2007). Em novilhas, quase metade das infecções intramamárias causadas por SCN curam espontaneamente no primeiro dia pós-parto (OLIVER, MITCHELL, 1983; MILLIS, 1995; AARESTRUP, JENSEN, 1997).

Staphylococcus aureus e organismos patogênicos ambientais provocam uma minoria dos casos de mastite subclínica em novilhas logo após o parto (DE VLIEGHER et al., 2012). As novilhas têm uma maior incidência de *Streptococcus uberis* e SCN, e uma menor incidência de infecções causadas por *Staphylococcus aureus* em comparação com os animais mais velhos (MCDUGALL et al., 2007).

Segundo Santos et al.,(2011), as infecções causadas por SCN manifestam-se de forma subclínica, resultando em aumento de CCS de 2 a 3 vezes em relação aos tetos sadios, com rara transmissão entre animais, sendo ocasionados principalmente em primíparas, com declínio de infecção após a segunda semana de lactação.

Em relação às análises de antibiograma realizadas dos tetos positivos ao teste de CMT, 7 dias após o parto, as bases usadas preventivamente, ampicilina, cloxacilina e enrofloxacina, 60 dias antes do parto obtiveram um resultado de sensibilidade de 94,87, 100 e 100% respectivamente. Valores muito próximos foram encontrados por Medeiros et al., (2009), com sensibilidade para a enrofloxacina e de 95,2% e 100% de sensibilidade encontrada por Santos et al., (2011). As bases usadas no trabalho são entre as mais empregadas no controle de mastite (FONSECA et al.,2009; NERO et al., 2007; PRIBUL et al., 2011; RAIÁ JÚNIOR, 2006).

O período de carência dos antibióticos usados foram de 3 dias para a enrofloxacina e de 45 dias para o intramamário com Cloxacilina e Ampicilina. Porém Petzer et al., (2009), alerta que níveis terapêuticos dos antibióticos na secagem podem persistir em média 14 a 28 dias após a aplicação, ocorrendo na maioria das

vezes incapazes de proteger o úbere durante todo o período seco. As contaminações nas primíparas podem ser nos últimos dias antes do parto, onde não havia efeito dos medicamentos usados.

No presente trabalho foi usado os medicamentos 60 dias antes do parto, diferentemente de Bastan et al., (2010), que utilizou o tratamento intramamário com antibióticos (cefalexina 200 mg + 250 mg neomicina), 45 dias antes da data do parto prevista de novilhas foi efetivo em novilhas.

Não teve diferença estatística de CCS, CMT, produção de leite, casos de mastite clínica entre os grupos 2 e 3, que são dos animais tratados, portanto a aplicação de medicamento intramuscular, a enrofloxacina, 60 dias antes do parto não influenciou nos resultados do trabalho (Tabela 1,2,3,4 e 5).

Quanto à produção esperava-se que houvesse diferença durante a lactação, portanto o grupo de bactéria mais comum, o *Staphylococcus Coagulase Negativos*, não tem característica de diminuir a produção de leite, mas influencia no aumento da CCS.

Explorações leiteiras com problemas de mastite em novilhas precisam analisar a sua gestão, devendo avaliar o uso do tratamento no pré-parto das novilhas com antibióticos para vacas em período seco, que pode diminuir a prevalência de patógenos causadores de mastite ao parto (SAMPIMON et al., 2009).

O uso do tratamento com antibióticos no período pré-parto de novilhas deve ser avaliado conforme cada fazenda, não sendo recomendado como via de regra. Portanto, pode ser uma ferramenta de suporte, mas vale lembrar que o sucesso do controle da mastite também está ligado à diminuição de contaminação no período pré-parto pelo o ambiente, conforto e manejo dos animais.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos com a metodologia empregada, pode-se concluir que:

1. A aplicação de antibióticos via intramamária no pré-parto obteve melhora significativa nos casos clínicos, na diminuição de CCS e no teste de CMT.
2. O uso de antibióticos antes do parto não teve resposta quanto à produção de leite na lactação dos animais.
3. Os antibióticos (cloxacilina, ampicilina e enrofloxacino) no pré-parto obteve uma sensibilidade acima de 94%, comprovando a eficiência dos antibióticos nas fazendas trabalhadas no período antes da lactação;
4. O grupo de bactérias *Staphylococcus coagulase negativos* (SCN), foram os mais encontrados e não influenciaram na produção do leite, mas influenciou no resultado de CCS dos animais;
5. A aplicação do antibiótico enrofloxacino intramuscular, 60 dias antes do parto não teve eficiência em nenhum parâmetro usado no trabalho, portanto não é recomendado o seu uso em primíparas no pré-parto.

8 REFERÊNCIAS

AARESTRUP, F. M.; JENSEN, N.E. Prevalence and duration of intramammary infection in Danish heifers during the prepartum period. **Journal of Dairy Science** v. 80, n. 307-312, 1997.

ALMEIDA, L. A. B.; BRITO M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; PIRES, M. F. A.; BENITES, N. R. Tratamento de mastite clínica experimental por meio de ordenhas múltiplas em vacas leiteiras inoculadas com *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 1-6, 2005.

ANDRADE, M.A.; DIAS FILHO, F.C.; MESQUITA, A.J.; ROCHA, P.T. Sensibilidade *in vitro* de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 1, n. 1, p. 53-57, 2000.

APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 676 p., 2001.

BARBOSA, S.B.P.; MONARDES, H.G.; CUE, R.L.; RIBAS, N.P.; BATISTA, A.M.V. Avaliação da contagem de células somáticas na primeira lactação de vacas holandesas no dia do controle mensal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 1, Fevereiro, 2007.

BARROS, G.M.S.; JESUS, N.M.; SILVA, M.H. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade de Salvador. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 2, n. 3, p. 69-73, 2001.

BARNUMT, D.A.; NEWBOULDT, F.H.S. The use of the California Mastitis Test for the detection of bovine mastitis. **The Canadian Veterinary Journal La Revue Veterinaire Canadienne**.v.2, n.3, p.83-90, 1961

BASTAN, A.; CENGIZ, M.; CENGIZ, S.; POLAT, B.; COLAK, A.; AKAN, M.; DARBAZ I.; ACAR, D. B. Effects of precalving antibiotic treatment on mastitis and individual somatic cell count in heifers. **Journal of Animal and Veterinary Advances**.v.9, n.8, p.1245-1249, 2010.

Bentley Instruments. **Somacount 2000 Operator´s Manual**. Chaska, 12p, 1995.

BETANCOURT, A.; RAMÍREZ, A.; NAVARRO, V.; GONZÁLEZ, D.; LÓPEZ, Y.; LINARES, A. Control interno de localidad aplicado al cenmast, produto para detectar mastitis. **Revista de Salud Animal**. La Habana, v. 32, n. 3, p. 163-168, 2010.

BLOWEY, R.W.; EDMONDSON, P. **Mastitis Control in Dairy Herds**. London: British Library, 2 ed., 272 p., 2010.

BORM, A.A.; FOX, L.K.; LESLIE, K.E.; HOGAN, J.S.; ANDREW, S.M.; OLIVER, S.P. Effects of prepartum intramammary antibiotic therapy on udder health, milk production, and reproductive performance in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.2090–2098, 2006.

BRAND, B.; HARTMANN, A.; REPSILBER, D.; GRIESBECK-ZILCH, B.; WELLNITZ, O.; KÜHN, C.; PONSUKSILI, S.; MEYER, H. D.; SCHWERIN, M. Comparative expression profiling of *E. coli* and *S. aureus* inoculated primary mammary gland cells sampled from cows with different genetic predispositions for somatic cell score. **Genetics Selection Evolution**, Bethesda, v. 43, n. 1, p. 24-43, 2011.

BRASILa. **Instrução Normativa nº 62 de 31 de dezembro de 2011**. Aprova os regulamentos técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos a esta Instrução Normativa.

BRASILb. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Brasil projeções do agronegócio 2010/2011 a 2020/2021**. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 2011.

BRYAN, M.; TAYLOR, K. Periparturient use of parenteral micronised procaine penicillin to reduce the risk of clinical mastitis in heifers after calving. **Veterinary Microbiology**; v.134, p.143–149, 2009.

BRITO, M.A.V.P.; CAMPOS, G.M.M.; BRITO, J.R.F. Esquema simplificado para identificação de *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de mastite bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 79-82, 2002.

BRITO, M.A.V.P.; LANGE, C.C. **Resíduos de antibióticos no leite**. Comunicado técnico. Juiz de Fora: Embrapa Gado de leite, 2005.

CALVINHO, L. F.; CANAVESIO, V. R.; IGUZQUIZA, I. A.; MARIONI, I.; PURICELLI, F. G.; NEDER, V. E., TARABLA H. D.; AUBAGNA, M. D. Intramammary infections during the periparturient period. Argentina dairy heifers. **Revista Argentina de Microbiologia**, Buenos Aires, v.39, n.2, p. 84-89, 2007.

CARNEIRO, D.M.V.F. **Efeito do uso de um selante interno de tetos na profilaxia de novas infecções intramamárias durante o período seco e no pós-parto.** 2006. 76 f. (Dissertação Mestrado em Ciências Agro veterinárias) – Centro de Ciências Agro veterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2006.

COENTRÃO, C.M.; SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; PAIVA E BRITO, M.A.V.; LILENBAUM, W. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, 2008.

COLDEBELLA, A.; MACHADO, P.F.; DEMÉTRIO, C.G.B.; RIBEIRO JÚNIOR, P.J.; CORASSIN, C.H.; MEYER, P.M.; CASSOLI, L.G. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas de alta produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 12, p. 1451-1457, 2003.

COLDEBELLA, A.; MACHADO, P.F.; DEMÉTRIO, C.G.B.; RIBEIRO JÚNIOR, P.J.; MEYER, P.M.; CORASSIN, C.H.; CASSOLI, L.D. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 3, Junho, 2004.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária.** 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002, p. 443-455.

COSTA, E. O.; GARINO, F.JR.; FAGUNDES, H.; RAI, R.; ARCARO, J.P. MARMORE, C. Comparação do nível de ocorrência de infecções intramamárias em novilhas de primeira cria em duas propriedades leiteiras e avaliação custo/benefício da antibioticoterapia. **Revista Nappama**, São Paulo, v. 1, p. 14-19, 2004.

COSTA, E.O.; RAI, R.; WATANABE, E.T.; GARINO JUNIOR, F.; COELHO, V. Influência do tratamento intramamário de casos de mastite de bovinos em lactação em relação à presença de resíduos de antibióticos no leite dos quartos sadios não tratados. **Revista Nappama**, São Paulo, v. 3, n. 4, p. 14- 17, 2000.

COSTA, L.E.O. **Resíduos de antibióticos em bactérias comensais em bovino de leite.** 2006. 68f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

COSTA, R.G.; QUEIROGA, R.C.R.E.; PEREIRA, R.A.G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, (supl. especial), p. 307-321, 2009.

CUNHA, R.P.L.; MOLINA, L.R.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J.; FERREIRA, P.M.; GENTILINI, M.B. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, 2008.

DE VliegHER, S.; FOX, L.K.; PIEPERS, S.; MCDougALL, S.; BARKEMA, H.W. Invited review: Mastitis in dairy heifers: nature of the disease, potential impact, prevention, and control. **Journal of Dairy Science**.v.95, n.3, p. 1025-1040, 2012.

DE VliegHER, S.; LAEVENS, H.; G.; OPSOMER, E.; DE MûELENAERE, A. K. Somatic cell counts in dairy heifers during early lactation. **Vlaams Diergenees kundig Tijdschrift**. v. 70, n. 3, p. 212-215, 2001.

DEMEU, F.A.; LOPES, M.A.; COSTA, G. M.; ROCHA, C.M.B.M.; SANTOS, G.; NETO, A. F. Influência do descarte involuntário de matrizes no impacto econômico da mastite em rebanhos leiteiros. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 195-202, jan./fev., 2011.

DENOBIle, M.; NASCIMENTO, E. S. Validação de método para determinação de resíduos dos antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina e oxiaciclina, em leite, por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 2, 2004.

DIAS, N. L. **Identificação de *Staphylococcus aureus*, avaliação do seu potencial enterotoxigênico e resistência a meticilina pela técnica de PCR em amostras de leite da microrregião de Sete Lagoas – MG, 2009**. 2010. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

DIAS, R.V.C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinaria Brasília**, Mossoró, v. 1, n. 1, p. 23-27, 2007.

DRESCHER, G.; MATTIELLO, S. P.; PEIXOTO, R. M.; VARGAS, A. C.; MACIEL, M. N.; COSTA, M. M. Caracterização bioquímica de mastite e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de agentes bacterianos isolados de subclínica ovina na região Oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 1, p. 188-193, 2010.

DRILLICH, M.; BEETZ, O.; PFÜTZNER, A.; SABIN, M.; SABIN, H. J. KUTZER, P.; NATTERMANN, H.; HEUWIESER, W. Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 9, p. 2010-2017, 2001.

FAGUNDES, H. **Ocorrência de resíduos de antimicrobianos utilizados no tratamento de interrupção de lactação no início da lactação subsequente em animais no período seco recomendado**. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

FERGUSON J. D.; AZZARO G.; GAMBINA M.; LICITRA, G. Prevalence of mastitis pathogens in Ragusa, Sicily, from 2000 to 2006. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 12, p. 5798-5813, 2007.

FERREIRA, J.L.; LINS, J.L.F.H.A.; CAVALCANTE, T.V.; MACEDO, N.A.; BORJAS, A.R. Prevalência e etiologia da mastite bovina no Município de Teresina, Piauí. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 2, p. 261-266, 2007.

FONSECA, G.P.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F.; SILVA, R.; MOURA, M.R.L.; CARVALHO, L.M.J. Resíduos de antibióticos em leite UHT. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 451-453, 2009.

FONSECA, L.F.L., SANTOS, M.V. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri (SP): Manole, p.163-171, 2007.

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

FONTANA, V.L.D.S.; GIANNINI, M.J.S.M.; LEITE, C.Q.F.; MIRANDA, E.T.; ALMEIDA, A.M.F.; FONTANA, C.A.P.; SOUZA, C.M.; STELLA, A.E. Etiologia da mastite bovina subclínica, sensibilidade dos agentes às drogas antimicrobianas e detecção do gene da Beta-lactamase em *Staphylococcus aureus*. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 7, n. 4, p. 552-559, 2010.

FOX, L.K. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 134, p. 82-88, 2009.

GARCIA, M.L.; MORENO, B.; BERGDOLL, M.S. Characterization of *staphylococcus* isolated from mastitis cows in Spain. **Applied Microbiology**, Oxford, v. 39, p. 584553,1980.

GOMES, D.M. **Resíduos de Antimicrobianos Promotores de Crescimento em Produtos de Origem Animal**. 2004. 69 f. Monografia (Especialização em Qualidade de Alimentos) – Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília, 2004.

GREEN, M.J.; GREEN, L.E.; MEDLEY, G.F.; SCHUKKEN, Y.H.; BRADLEY, A.J. Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 10, p. 2589-2599, 2002.

GUEDES, C.C.; MATOS, C.M.; MOUTINHO, C.S. Avaliação da espectrofotometria de UV/VIS na quantificação de antibióticos em extratos de leite de vacas. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, Porto, n. 6, p. 232-243, 2009.

HARTMAN, M.; BOLSANELLO, R.X.; DOMINGUES, P.F.; MELLO JUNIOR, A.S.; LANGONI, H. Efeito da mastite sobre a contagem de células somáticas (CCS) em ovelhas da raça Bergamácia. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 16, n. 1, p. 213220, 2009.

KIRK, J.H.; WRIGHT, J.C.; BERRY, S.L.; REYNOLDS, J.P.; MAAS, J.P.; AHMADI, A. Relationship of milk culture status at calving with somatic cell counts and milk production of dairy heifers during early lactation on a Californian. **Preventive Veterinary Medicine**.v.28, p.187–198, 1996.

KREIGER, M.; FRITON, G.; HOFER, J.; FUCHS, K.; WINTER, P. Effects of periparturient systemic treatment with penethamatehydriodide on udder health and milk yield of dairy heifers. **Journal Dairy Reserch**, v.74, p.392–398, 2007.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Estatística da Produção Pecuária, Setembro de 2011**. Indic adores IBGE, 2011.

JAENICKE, E.C.; ROBERTS, R.K.; DOWLEN, H.H.; OLIVER, S.P. Economic benefit associated with antibiotic treatment of heifers before calving. **National Mastitis Council**, Arlington, p. 229-230, 1999.

LAFFRANCHI, A.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J. C.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, JULIANA A.D.; SALVADOR, R. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, Dec. 2001.

LANGONI, H.; PENACHIO, D.S.; CITADELLA, J.C.C.; LAURINO, F.; FACCIOLIMARTINS, P.Y.; LUCHEIS, S.B.; MENOZZI, B.D.; SILVA, A.V. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 12, p. 1059-1065, dezembro 2011.

LENTS, C.A.; WETTEMANN, R.P.; UGENT, M.P.; LOOPER, M.L.; BUCHANAN, D.S. Effects of dry cow treatment of beef cows on pathogenic organisms, milk somatic cell counts, and calf growth during the subsequent lactation. **Journal of Animal Science**, v. 86, n.3, p.748-755, December, 2007.

LI, J.; ZHOU, H.; YUAN, L.; HE, T.; HU, S. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Zhejiang Province, China. **Journal of Zhejiang University Science**, Zhejiang, v. 10, n. 10, p. 753-760, 2009.

MAGALHÃES, H.R.; FARO, L.E.; CARDOSO, V.L.; PAZ, C.C.P.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P. F. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 415-421, 2006.

MARTINS, R.P; SILVA, J.A.G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; ALMEIDA FILHO, E.S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na Microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.

MARTINS, R.P; SILVA, J.A.G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; ALMEIDA FILHO, E.S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na Microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.

MASSEI, R.A.; SANTOS, W.R.M.; INFORZATO, G.R.; PICCININ, A. Mastite – diagnóstico, tratamento e prevenção: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. v. 6, n.10, Janeiro de 2008.

MCDUGALL, S.; ARTHUR, D.G.; BRYAN, M.A.; VERMUNT, J.J.; WEIR, A.M. Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. **New Zealand Veterinary Journal**; v.55, p.161–170, 2007.

MCFADDIN, J.F. **BIOCHEMICAL Tests for Identification of Medical Bacteria**, Baltimore, Md, 21208, USA, 1976.

MEDEIROS, E.; MOTA, R.A.; SANTOS, M.V.; FREITAS, M.F.L.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; TELES, J.A.A. Perfil de sensibilidade microbiana in vitro de linhagens de *Staphylococcus* spp. isoladas de vacas com mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 7, jul. 2009.

MENDONÇA, L.C. **Viabilidade do controle da mastite contagiosa e da utilização do escore de sujidade de úbere e de lesões de esfíncter de tetos no monitoramento do risco de ocorrência da doença**. 2008. 43 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

MOTA, R.A.; MEDEIROS, E. S.; SANTOS M.V.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; MOURA, A.P.B.L.; COUTINHO, L.C. A. Participação dos *Staphylococcus* spp. na etiologia das mastites em bovinos leiteiros no Estado de Pernambuco (Brasil). **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.1, p. 124-130, Goiânia, 2012.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. **Manual of Clinical Microbiology**. 7. ed., Washington: American Society for Microbiology. 1773 p, 1999.

MILLIS, V. Staphylococci in heifer mastitis before and after parturition. **Journal Dairy Research**.v.62, p. 51-60, 1995.

NAM, H.M; LIM, S.K; KANG, H.M; KIM, J.M; MOON, J.S; JANG, K.C; JOO, Y. S; JUNG, S.C. Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram negative bacteria isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 6, p. 2020-2026, 2009.

NASCIMENTO, G.G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 119-124, 2001.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F., FRANCO, B.D.G. M. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 391-393, 2007.

OLIVEIRA, J.M.B.; VANDERLEI, D.R.; MORAES, W.S.; BRANDESPIM, D.F.; MOTA, R.A.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W. Análise dos fatores de riscos associados à mastite bovina no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 18, n. 4, 2011.

- OLIVER, S.P.; MITCHEL, B.A.L. Intramammary infections in primigravid heifers near parturition. **Journal of Dairy Science**. v. 66, p. 1180-1183, 1983
- OLIVER, S.P.; IVEY, S.J.; GILLESPIE, B.E.; LEWIS, M.J.; JOHNSON, D.L.; LAMAR, K.C.; MOOREHEAD, H.; DOWLEN, H.H.; CHESTER, S.T.; HALLBERG, J.W. Influence of prepartum intramammary infusion of pirlimycin hydrochloride or penicillin-novobiocin on mastitis in heifers during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p.1727-1731, 2004.
- PARADIS, M.È.; BOUCHARD, É; SCHOLL, D.T.; MIGLIOR, F.; ROY, J.P. Effect of nonclinical *Staphylococcus aureus* or coagulase-negative staphylococci intramammary infection during the first month of lactation on somatic cell count and milk yield in heifers. **Journal of Dairy Science**; v. 93, p.2989–2997, 2010.
- PARDO, P.E.; METTIFOGO, E.; MÜLLER, E.E.; NASCIMENTO, E.R., BUZINHANI, M.; YAMAGUTI, M.; FREITAS, J.C. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas no período pós-parto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3, p. 115-118, 1998.
- PARKER, K.I.; COMPTON, C.W.; ANNISS, F.M.; HEUER, C.; MCDUGALL, S. Quarter-level analysis of subclinical and clinical mastitis in primiparous heifers following the use of a teat sealant or an injectable antibiotic, or both, precalving. **Journal of Dairy Science**; v.91, p.169–181, 2008
- PATE, M.; ZDOVC, I.; AVBERŠEK, J.; OCEPEK, M.; PENGOV, A., PODPE, O. Coagulase-negative staphylococci from non-mastitis bovine mammary gland: characterization of *Staphylococcus chromo genes* and *Staphylococcus haemolyticus* by antibiotic susceptibility testing and pulsed-field gel electrophoresis. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, s/n., p. 1-6, 2011.
- PEIXOTO, E.C.T.M.; PELANDA, A.G.; RADIS, A.C.; GARCIA, R.C.; VALÉRIO, M.A. Incidência de mastite bovina em animais homeopatizados. **Revista do Instituto de Laticínio “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v. 64, n. 367/368 p. 66-71, 2009.
- PETZER, I.M.; LOURENS, D.C.; VAN DER SCHANS, T.J.; WATERMEYER, J.C.; REENEN, R.V., RAUTENBACH, G.H.; THOMPSON, P. Intramammary infection rate during the dry period in cows that received blanket dry cow therapy: efficacy of 6 different dry-cow intra-mammary antimicrobial products. **Journal of the South African Veterinary Association**. 80, n.1, p. 23–30, 2009.

PEZZA, I.; RÍOS, À; NOZAL, L.; ARCE, L.; VALCÁRCEL, M. Determinação simultânea de resíduos de cloranfenicol, tianfenicol e florfenicol em leite bovino por cromatografia eletrocínéticamicelar. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 926-931, 2006.

PIEPERS, S.; OPSOMER, G.; BARKEMA, H.W.; KRUIF, A.; DEVLIEGHER, S. Heifers infected with coagulase-negative staphylococci in early lactation have fewer cases of clinical mastitis and higher milk production in their first lactation than noninfected heifers. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.5, p. 2014–2024, 2010.

PIESSENS, V.; VAN, C.E.; VERBIST, B.; SUPRÉ, K.; BRAEM, G.; VAN, N. A.; Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds. **Journal of Dairy Science** v.94, p.2933–2944, 2011.

POUTREL, B.; CREMOUX, R.; DUCCELLIEZ, M.; VERNEAU, D. Control of intramammary infections in goats: impact on somatic cell count. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 2, p. 566-570, 1997.

PRIBUL, B.R.; PEREIRA, I.A.; SOARES, L.C.; COELHO, S.M.O.; BARBERIS, I.L.; PASCUAL, L.; SOUZA, M.M.S. Resistência bacteriana e ação das bacteriocinas de *Lactobacillus* spp em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 3, jun. 2011.

RAHMAN, M. A.; BHUIYAN, M.M.U.; KAMAL, M.M.; SHAMSUDDIN, M. Prevalence and risk factors of mastitis in dairy cows. **The Bangladesh Veterinarian** ,v.26, n.2 , p. 54-60, 2009.

RAIA JÚNIOR, R.B.V. **Fatores fisiológicos, clínicos e farmacológicos determinantes de resíduos de antimicrobianos no leite, avaliados em protocolos terapêuticos de mastite em bovinos leiteiros**. 2006. 69f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

RIBEIRO, M.E.R.; PETRINI, L.A.; AITA, M.F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JUNIOR, W.; GOMES, J.F.; SCHRAMM, R.C.; MARTINS, P.R.; BARBOSA, R.S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região Sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 3, p. 287-290, 2003.

RUIZ, A.K.; PONCE, P.; GOMES, G.; MOTA, R.A.; SAMPAIO, E.; LUCENA, E.R.; BENONE, S. Prevalência de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. **Revista de Salud Animal**, La Habana, v. 33, n. 1, p.57-64, 2011.

SAMPIMON, O.C.; DE VliegHER, S.; BARKEMA, H.W.; SOL, J.; LAM, T.J.G.M. Effect of prepartum dry cow antibiotic treatment in dairy heifers on udder health and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 9, p. 4395–4403, 2009.

SANTOS; L.L.; COSTA, G.M.; PEREIRA, U.P.; SILVA, M.A.; SILVA, N. Mastites clínicas e subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus* coagulase-negativa. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v.70, n. 1, p.1-7, 2011.

SCHUKKEN, Y. H., R. N. GONZÁLEZ, L. L. TIKOFSKY, H. F. SCHULTE, C. G. SANTISTEBAN, F. L. WELCOME, G. J. BENNETT, M. J. ZURAKOWSKI, AND R. N. ZADOKS.. CNS mastitis: Nothing to worry about? **Veterinary Microbiology**, v.134, p.9-14, 2009.

SEARS, P.M, MCCARTHY, K.K. Management and treatment of staphylococcal mastitis. **Veterinary Clinical Food Animal**.v.19, n.1, p.171-185, 2003.

SON, J.S.; KIM, E.B.; LEE, S.J.; JUN, S.Y.; YOON, S.J.; KANG, S.H.; CHO, J.Y. Characterization of *Staphylococcus aureus* derived from bovine mastitis and isolation of two lytic bacteriophages. **Journal of General Applied Microbiology**, Korea, v. 56, s/n., p. 347-353, 2010.

SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; MOREIRA, E.C.; BRITO, M.A.V.P.; SILVA, M.V.G.B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 5, out. 2009.

SOUZA, R.C. **Resíduos de antibiótico no leite**. 2006. 44 f. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal). Universidad Castillo Bronco, São Paulo, 2006.

SUPRÉ, K.; HAESBROUCK, F.; ZADOKS, R.N.; VANEECHOUTTE, M.; PIEPERS, S.; DE VliegHER, Some CNS species are affecting udder health more than others. **Journal Dairy Science**, v.94, p.2329–2340, 2011.

TAPONEN, S.; KOORT, J.; BJÖRKROTH, J.; SALONIEM, H. I.; PYÖRÄLÄ, S. Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism based analysis. **Journal of Dairy Science**. v.90, p. 3301-3307, 2007.

TENÓRIO, C.G.M.S.C.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; VIEGAS, R.; PRESENDE, M.F.S.; CLINQUART, D.L.; SANTOS, A.K.R.; SOUZA, M.R.; PENNA, C.F.A.M. Eficiência dos testes COPAN (Microplate e Single) na detecção de resíduos de antimicrobianos no leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 2, p. 504-510, 2009.

THORBERG, B.M.; DANIELSSON-THAM, M.L.; EMANUELSON, U.; WALLER, K. P. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase negative staphylococci. **Journal of Dairy Science**.v.92, n.10, 2009.

TRUJILLO, A.P.; VÁSQUEZ, F.C.M.; MARTÍNEZ, G.R. Efeitos de lá mastitis subclínica enalgunoshatos de lacuencalecheradel Alto Chicamocha (Departamento de Boyacá). **Revista de Medicina Veterinária**, Bogotá, n. 17, p. 23-35, 2009.

United States Department of Agriculture (USDA). **World agricultural supply and demand estimatives**. 2011. Disponível em: <http://www.usda.gov/commodity/latest.pdf>.

ZAFALON, L.; LANGONI, H.; BENVENUTTO, F.; CASTELANI, L.; BROCCOLO, C.R. Aspectos epidemiológicos da mastite bovina causada por *Staphylococcus aureus*. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 15, n. 1, p. 56-65, 2008.

ZAFALON, L.F.; FILHO, A.N.; OLIVEIRA, J.V.; RESENDE, F.D. Mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*: custo-benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 3, 2007.

ZSCHÖCK, M.; EL-SAYED, A.; EISSA, M.; LÄMMLER, C.; CASTAÑEDAVAZQUEZ, H. Resistencia a penicilina G y oxacilina, de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina subclínica. **Veterinária México**, Coyoacán, v. 42, n. 3, p. 207-217, 2011.