



**Universidade Federal
de Campina Grande**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

MASTITE EM NOVILHAS E VACAS SECAS NO ESTADO DE RONDÔNIA

AMANCIO ESTEVÃO NETO

PATOS-PB

2011



Universidade Federal
de Campina Grande

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

MASTITE EM NOVILHAS E VACAS SECAS NO ESTADO DE RONDÔNIA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande - UFCG em cumprimento aos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Amancio Estevão Neto

Mestrando

Prof. Dr. Felício Garino Junior

Orientador

PATOS-PB

2011

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO CSTR /
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

E79m

2011 Estevão Neto, Amancio

Mastite em novilhas e vacas secas em Rondônia: etiologia, tratamento e resíduos de antibióticos no leite / Amancio Estevão Neto. - Patos - PB: FCG/PPGMV, 2011.

64p.: il.

Inclui Bibliografia.

Orientador: Prof. Dr. Felício Garino Junior.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária).
Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1- Doenças Infeciosas – Bovinos – Rondônia. 2- Mastite bovina. 3- Mastite – Prevalência, Controle e prevenção. I – T.

CDU: 616.9:619(811.1)

FICHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Estevão Neto, Amancio

Título: Mastite em novilhas e vacas secas em Rondônia: etiologia, tratamento e resíduos de antibióticos no leite.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande - UFCG em cumprimento aos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Avaliação em 29/04/2011

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Felício Garino Júnior
Orientador

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira
(1º Membro)

Profª. Drª. Sara Vilar Dantas Simões
(2º Membro)

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu: tempo de plantar e tempo de arrancar o que se plantou. Eclesiastes 3.1 e 2:b” Hoje estamos colhendo com alegria o que Deus a seu tempo nos permitiu sonhar. À minha querida esposa Livani e aos meus amados filhos André e Letícia, pela compreensão, zelo e carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Senhor e Deus, criador dos céus e da terra, que me concedeu a oportunidade de realizar essa pós-graduação, guardando-me e dando entendimento, saúde e ânimo em meio às dificuldades enfrentadas ao longo desse período.

À minha esposa Livani e aos meus filhos André e Letícia pelo amor, carinho, compreensão, companheirismo e renúncia em prol da realização deste projeto.

Ao meu pai Josmiel (zurú) e à minha mãe Idelzuíte, que me apoiaram e tanto desejaram o meu êxito pessoal e profissional no dia a dia, orando a Deus pela minha vida e de minha família.

Aos meus irmãos Joseilton, Antonio, Ronaldo, Ivânia, Irlandí e Regina pelo carinho e incentivo familiar.

Aos meus sogros Francisco (chicó) e Zuleida e cunhados pelo zelo demonstrado com a minha família.

A todos os irmãos da Igreja Batista Nacional em Patos pela amizade, acolhimento e intercessão a Deus em favor da minha vida nesses dois anos.

À Igreja Batista Nacional em Ouro Preto do Oeste por tão preciosa recepção, amizade e ajuda durante a realização do experimento de campo.

Ao professor Felício por ter aceitado o desafio da orientação, pelos ensinamentos profissionais e o estímulo à superação a mim repassados.

A todos os professores do programa de pós-graduação pelos ensinamentos profissionais e incentivos repassados.

Aos meus amigos e colegas de mestrado Adílio, Adriana, Layze, Marcel, André, João Marcos, Petrônio, Ana Lucélia e Gildeni pelo convívio, amizade e colaboração durante essa jornada.

A toda equipe do laboratório de microbiologia: Layze, Rodrigo, Maria, Arthur, Ramon, Valéria e Liziane pela amizade, convivência e trabalhos realizados.

Ao programa de pós-graduação pela oportunidade oferecida para a continuidade do aprendizado profissional iniciado nessa instituição.

À EMATER-Rondônia pela oportunidade de aprimoramento, pelo investimento financeiro e apoio em todas as etapas dessa pesquisa e em especial aos colegas Ematerianos da região de Ouro Preto do Oeste pela colaboração nesse experimento.

Aos produtores rurais Belmir, Daniel, Evândio, Gilmar, José Macedo, José Honório, Lázaro Fernandes, Sildomar, Sodré, Vidal, Vitorino, suas famílias e funcionários pela colaboração decisiva para a concretização deste trabalho.

Muito obrigado!

	Pag
Introdução	13
Referências	13
CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA	
Mastite em novilhas	15
Abstract	16
Resumo	17
Introdução	18
Prevalência de mastite em novilhas	19
Controle e prevenção	21
Tratamento pré-parto	21
Estratégias de controle sem o uso de antibióticos	23
Medidas higiênico-sanitárias	23
Selantes de teto	23
Ordenhas pré-parto	25
Controle de moscas no local de ordenha	25
Vacinação	25
Proteínas antimicrobianas transgênicas	27
Terapia probiótica	27
Manejo nutricional	28
Considerações finais.....	29
Referências	30
2 CAPÍTULO II – MASTITE EM NOVILHAS E VACAS SECAS NO ESTADO DE	
3 RONDÔNIA	
Abstract	37
Resumo	39
Introdução	40
Material e Métodos	43
Resultados	46
Discussão	53
Conclusões	57
Referências	58
	10

	pag
Quadro 1 Total de animais tratados entre 30 e 60 dias pré-parto com 3 antibióticos diferentes e grupo controle em Rondônia, 2011	45
Quadro 2 Índice de prevalência de infecções intramamárias em novilhas e vacas dos grupos tratamento e controle em Rondônia, 2011	47
Quadro 3 Distribuição de micro-organismos isolados de 19 novilhas do grupo tratamento (76 quartos mamários) e 9 novilhas controle (35 quartos) no pré e no pós-parto em Rondônia, 2011	49
Quadro 4 Distribuição dos micro-organismos isolados de 28 vacas do grupo tratamento (110 quartos mamários) e 13 vacas controle (48 quartos no pré e no pós-parto) em Rondônia, 2011	50
Quadro 5 Índice de cura microbiológica e novas infecções em 76 quartos mamários (19 novilhas) tratados e 35 quartos (9 novilhas) controle em Rondônia, 2011	51
Quadro 6 Índice de cura microbiológica e novas infecções em 110 quartos (28 vacas) do grupo tratamento e 48 quartos (13 vacas) do grupo controle em Rondônia, 2011	52
Quadro 7 Resíduos de antimicrobianos em amostras de leite de 47 animais (19 novilhas e 28 vacas) tratadas no período pré-parto com dois medicamentos de vaca seca e um para vaca em lactação em Rondônia, 2011	53

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

	pag
Figura 1 Localização geográfica dos municípios do estado de Rondônia onde foi realizado o estudo	40

INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira no Brasil representa uma importante atividade econômica, com uma produção de leite na ordem de 29 bilhões de litros/ano, ocupando o sexto lugar mundial em volume de leite produzido, sendo a região Sudeste a maior produtora de leite, com uma produção de 10.419.679.000 litros/ano (IBGE, 2009). Dados dessa fonte mostram que nos últimos anos novas fronteiras para a atividade leiteira têm surgido no Brasil, sendo a região Norte uma dessas, principalmente no estado de Rondônia, onde observa-se um crescente aumento anual do rebanho.

Os altos índices de precipitação pluviométrica durante a maior parte do ano, a disponibilidade de áreas para a produção, assim como condições propícias para a formação de pastagens, diminuem o custo de produção de leite em relação a outras regiões do país, atraindo produtores de outros estados para a exploração de bovinos leiteiros, não obstante as exigências ambientais estabelecidas para o norteamento da exploração dos recursos naturais nessa importante região brasileira.

A busca contínua por um mercado consumidor de leite e derivados produzidos em Rondônia e em todo o Brasil, aliada às exigências de qualidade e segurança alimentar, tornam imprescindível a redução dos problemas sanitários em nível de rebanhos leiteiros. Nesse contexto, o controle da mastite bovina assume uma grande importância para o aumento da competitividade do agronegócio do leite, e, conseqüentemente, para uma maior inserção dos produtos lácteos no mercado.

A manifestação mais importante da mastite sob o ponto de vista econômico é a redução da produção de leite na glândula mamária comprometida devido aos danos ao tecido secretor e alteração da permeabilidade capilar, resultando em diminuição da capacidade secretória, redução dos constituintes do leite e prejuízos para toda a cadeia produtiva do leite.

Para o controle dessa doença em rebanhos produtores, são adotadas estratégias que visam à diminuição dos níveis de infecção a um patamar aceitável, através da eliminação das infecções existentes, diminuição do tempo de duração da mastite e prevenção de novas infecções.

Esse estudo tem como objetivo contribuir para a busca de propostas de gestão estratégica para o controle da mastite nos rebanhos leiteiros do estado de Rondônia e o fortalecimento de toda a cadeia do leite como uma importante fonte de renda, principalmente na região central do estado, onde essa atividade assume um papel social preponderante através do emprego de mão de obra familiar em pequenas e médias propriedades rurais.

REFERÊNCIAS

IBGE, 2009. Produção de origem animal por tipo de produto. Acesso: www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=74&z=t&o=23&i=p. (capturado em 10 de jan.2011).

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

Mastite em novilhas

O presente trabalho foi formatado segundo as normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira, de acordo com o que estabelece a norma nº 01/2008, de 11 de julho de 2008, do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural - Campus de Patos-PB

Mastite em novilhas¹

Amancio Estevão Neto², Felício Garino Júnior³, Layze Cilmara Alves da Silva², Rodrigo Antônio Torres Matos⁴ e Franklin Riet-Correa³

	Pag
Mastite em novilhas	11
Abstract	13
Resumo	14
Introdução	15
Prevalência de mastite em novilhas	16
Controle e prevenção	18
Tratamento pré-parto	18
Estratégias de controle sem o uso de antibióticos	20
Medidas higiênico-sanitárias	20
Selantes de teto	20
Ordenhas pré-parto	22
Controle de moscas no local de ordenha	22
Vacinação	22
Proteínas antimicrobianas transgênicas	24
Terapia probiótica	24
Manejo nutricional	25
Considerações finais	26
Referências	27

53 **ABSTRACT.**- Estevão Neto, A., Garino, Jr.F., Silva, L.C.A., Matos, R.A.T. & Riet-Correa,
54 F. 2011. [**Mastitis in heifers**] Mastite em novilhas. Pesquisa Veterinária
55 Brasileira.....Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus
56 de Patos, Paraíba, Brasil. E-mail: amancio.estevao@yahoo.com.br

57 Although heifers are considered resistant to mastitis, high rates of intramammary
58 infection (IMI) were reported in these animals over past few years. However, little attention
59 has been paid to heifers, compared to cows, regarding the control of intramammary infection
60 in the pre and postpartum periods. In the present review, the economic effects of mastitis on
61 milk production, the occurrence of intramammary infections (IMI) in prepartum heifers and
62 the consequences to the mammary gland health, the main etiologic agents, as well as mastitis
63 control and prevention with antimicrobial therapy in the prepartum, associated to other non-
64 antibiotic strategies for this important animal class, are addressed aimed to the promotion of
65 mammary gland health and the increased production of milk during lactation.

66

67 Indexation terms: mastitis, heifers, control and prevention.

68

69 ¹ Recebido em

70 Aceito para publicação em.....

71 ²Alunos de Mestrado em Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR),
72 Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB. 58700-000, Brasil. E-mail:
73 amancio.estevao@yahoo.com.br

74 ³ Professores do P.P.G.M.V., Hospital Veterinário, CSTR, UFCG, Patos, PB 58700-000.

75 ⁴ Médico Veterinário - Hospital Veterinário, CSTR, UFCG, Patos, PB 58700-000.

76 *Autor para correspondência: amancio.estevao@yahoo.com.br

77

78

79

80

81

82

83

84 **RESUMO.** - Apesar de novilhas serem consideradas refratárias à mastite, nos últimos anos
85 têm sido demonstradas altas taxas de prevalência de infecções intramamárias (IIMs) nessa
86 categoria de animais. Entretanto, esses animais não têm recebido a mesma atenção que vacas
87 adultas quanto ao controle de IIMs no pré e no pós-parto. Nesta revisão são abordados os
88 prejuízos econômicos da mastite em relação à cadeia produtiva do leite; a ocorrência de
89 infecções intramamárias (IIMs) em novilhas no período pré-parto e as consequências para a
90 saúde da glândula mamária; os principais agentes etiológicos, além do controle e da
91 prevenção da mastite através do tratamento no pré-parto com antimicrobianos, associado a
92 outras estratégias não antibióticas para essa importante classe de animais, visando a saúde da
93 glândula mamária e o aumento da produção de leite durante o período de lactação.

94

95 Termos de indexação: mastite, novilhas, controle e prevenção.

96

97

98

99

100

101

102

103

104

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

INTRODUÇÃO

117

118 Dentre as doenças infecciosas, a mastite bovina é responsável pelo maior impacto econômico
119 na pecuária leiteira, com prejuízos diretos ao produtor e à indústria de produtos lácteos
120 (Pyyörälä 2002, Reis et al. 2003), além de representar um sério problema de saúde pública
121 (Cardoso et al. 2000). As perdas relacionadas à mastite são ocasionadas pela redução da
122 produção; comprometimento da qualidade do leite e derivados em decorrência da alteração
123 dos seus componentes nutricionais; perda parcial ou total da capacidade secretória da glândula
124 mamária; ou mesmo pelo abate de animais (DeVliegher et al. 2005, Pyyörälä & Tamponen
125 2009, Costa 2009).

126 Vários pesquisadores têm apontado a mastite subclínica como principal fator de perdas
127 econômicas em diversos países (Blosser 1979, Costa et al. 1999a, DeVliegher et al. 2005,
128 Halasa et al. 2009). Cerca de 40% das vacas em lactação nos EUA apresentam mastite
129 subclínica em pelo menos um quarto mamário. No Brasil, estudos verificaram a ocorrência de
130 72% de mastite subclínica e 17,5% de mastite clínica em vacas (Costa 2009).

131 Mundialmente, as perdas causadas pela mastite estão estimadas em aproximadamente
132 US\$ 35 bilhões/ano (Giraud et al. 1997). As perdas decorrentes dessa doença são da ordem
133 de 10 a 15% da produção total de um país (Costa 2009). Segundo o mesmo autor, estima-se
134 que a média de perdas por mastite subclínica no Brasil seja de US\$ 317,38/vaca/ano, e o
135 cálculo do custo de prevenção foi em média de US\$ 23,98/vaca/ano.

136 Quando infecções intramamárias ocorrem durante o período pré-parto e na primeira
137 lactação, há um comprometimento da produtividade de leite desses animais pelo fato de o
138 maior desenvolvimento da glândula mamária ocorrer durante a primeira gestação (Nickerson
139 2009). Esta é uma das mais importantes questões que interferem na economia das
140 propriedades leiteiras, ocasionando o aumento dos custos com a reposição de animais
141 (Krömker & Friedrich 2009). Contagens de células somáticas (CCS) de 50.000 céls/ml em
142 primíparas avaliadas aos 10 dias de lactação resultaram em um aumento de 119 a 155 kg de
143 leite nos primeiros 305 dias de lactação, quando comparadas a CCSs de 500.000 a 1.000.000
144 céls/ml (DeVliegher et al. 2005).

145 Uma propriedade de exploração leiteira é composta de várias classes de animais
146 independentes, sendo que a deficiência produtiva em alguma dessas pode acarretar prejuízos
147 significativos ao longo da cadeia produtiva do leite. Para que primíparas desenvolvam o
148 máximo potencial produtivo de forma lucrativa, fatores como saúde e bem-estar animal
149 desempenham um papel preponderante (Nickerson 2009). Segundo o mesmo autor, esses

150 animais constituem um grupo fundamental para reposição do rebanho. Novilhas primíparas
151 representam 32% do total do rebanho em lactação nos Estados Unidos, sendo ressaltado o
152 imenso impacto econômico da mastite nesses animais (Hogan et al. 1999).

153 Esses animais apresentam, geralmente, um maior valor genético em relação ao restante
154 do rebanho (Compton et al. 2007) e, teoricamente, são livres de infecções intramamárias
155 (IIMs) no primeiro parto. Atribui-se este fato a uma menor probabilidade de contato físico
156 íntimo da glândula mamária, ainda imatura, com o ambiente contaminado, em comparação
157 com múltíparas; não sofrerem os rigores e os efeitos deletérios de várias ordenhas diárias, seja
158 de forma manual ou mecânica, principalmente sobre o tecido do final do teto; além de uma
159 menor exposição ao contágio de patógenos transmitidos, principalmente durante a ordenha
160 (Fox 2009).

161

162 Prevalência da mastite em novilhas

163 Com relação às novilhas, os produtores geralmente não adotam nenhuma medida preventiva
164 por considerarem esta categoria de animais refratária às infecções da glândula mamária,
165 dispensando atenção apenas para vacas secas e em lactação (Hallberg et al. 1995). Essa
166 constatação apoia-se no fato de que novilhas no pré-parto apresentam pequenas quantidades
167 de secreção mamária e, conseqüentemente, poucos nutrientes nesse líquido para que ocorra a
168 infecção por patógenos e o estabelecimento de uma IIM, além de não sofrerem os danos
169 decorrentes do processo de ordenha, que favorecem a transmissão de bactérias responsáveis
170 pela mastite contagiosa e a ocorrência de mastite ambiental (Fox 2009).

171 Entretanto, a ocorrência de mastite em primíparas é relatada desde as décadas de vinte
172 e trinta (Stabelforth et al. 1935). O dogma de que novilhas são livres de mastite tem sido
173 combatido nos últimos anos (Fox 2009, Nickerson 2009), e IIMs em fêmeas com idade
174 inferior a nove meses têm sido objeto de pesquisas por vários autores em diferentes países
175 desde a segunda metade da década de 1980, com prevalências de IIMs em novilhas no pré e
176 pós-parto que variaram desde 22,9% até 97%, apresentando taxas de quartos mamários
177 infectados que atingem até 75% e sintomas clínicos em até 29% dos casos (Meaney 1981,
178 Oliver & Mitchell 1983, Trinidad et al. 1990a, Fox et al. 1995, Owens et al. 2001, Nagahata et
179 al. 2006, Tenhagen et al. 2009). De acordo com esses estudos, há uma predominância de
180 *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN) na etiologia dessa enfermidade, sendo, no entanto,
181 encontrados outros patógenos importantes, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*,

182 Enterobacteriaceae, *Corynebacterium bovis*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Fusobacterium*
183 *necrophorum*, *Micrococcus lutens*, *Citrobacter freundii* e *Proteus mirabilis*.

184 No Brasil os resultados de um estudo realizado no estado de São Paulo, avaliando a
185 prevalência e a etiologia da mastite em novilhas holandesas e mestiças no pré-parto,
186 constataram um índice de ocorrência de infecções intramamárias de 80%, algumas
187 apresentando os quatro quartos mamários comprometidos, sendo verificada uma maior
188 ocorrência de *Staphylococcus sp.*, com predominância de até 95% de SCN (Costa et al. 1996).

189 Em estudo realizado por Costa et al. (1999b), avaliando 179 amostras de secreção de
190 45 novilhas, foi verificada uma prevalência de IIMs em 74,18% dos quartos mamários,
191 ocorrendo predominância de *Staphylococcus sp* (64,25%). No período pós-parto foram
192 observados os mesmos micro-organismos, porém em menor quantidade, sendo também
193 constatada a presença de leveduras e *Prototheca sp*. Outros patógenos, como *Staphylococcus*
194 *coagulase* positivo, *Streptococcus ssp*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Mycoplasma*
195 *bovigenitalium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* e *Corynebacterium bovis*, foram observados
196 na etiologia da mastite em novilhas (Pardo et al. 1998, Costa et al. 1999b, Domingues et al.
197 2008).

198 O fato de os produtores considerarem novilhas como isentas de infecção, somado à
199 falta de observação da presença de mastite até o parto ou até o aparecimento dos primeiros
200 sinais clínicos durante o período de lactação, tornam possível a persistência de uma IIM por
201 mais de um ano até que a infecção seja diagnosticada (Nickerson 2009).

202 Estudos têm demonstrado que a prevalência de IIMs em novilhas aumenta com a
203 proximidade do parto, principalmente durante o último trimestre de gestação, provavelmente
204 devido ao desenvolvimento acelerado do úbere neste período, à transição para o período de
205 lactação (Oliver & Mitchell 1983, Fox et al. 1995) e, ainda, pelo fato de o maior
206 desenvolvimento do tecido secretor de leite ocorrer durante a primeira gestação e início da
207 lactação (Tucker 1987).

208 Devido à ocorrência de efeitos prejudiciais dos micro-organismos patogênicos
209 responsáveis pelas infecções intramamárias sobre a glândula mamária, há um
210 comprometimento direto da produção de leite, em função de que na presença de uma
211 infecção, principalmente por *S. aureus*, uma grande quantidade de tecido conjuntivo
212 interalveolar é formada. Assim, ocorre a redução das áreas epitelial e luminal, além de
213 infiltração leucocitária, principalmente linfócitos e neutrófilos no estroma e lúmen,
214 justificando a adoção de medidas preventivas visando proteger a saúde da glândula mamária,

215 garantindo, assim, o máximo rendimento produtivo durante a primeira lactação (Nickerson
216 2009).

217 A ocorrência de mastite clínica em novilhas é maior no início da lactação (Barkema et
218 al. 1998, Nyman et al. 2007). Acima de 30% dos casos clínicos ocorrem nas primeiras duas
219 semanas de lactação, sendo as novilhas mais suscetíveis do que as múltíparas (Barkema et al.
220 1998, Valde et al. 2004, Nyman et al. 2007).

221 Em relação aos agentes etiológicos de mastite em novilhas, os *Staphylococcus*
222 coagulase negativo que têm sido comumente isolados de amostras de secreção de queratina e
223 de leite mastítico são: *Staphylococcus chromogenes*, *S. simulans*, *S. hyicus*, *S. epidermidis*, *S.*
224 *warneri*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. xylosus*, *S. haemolyticus*, *S. sciuri* e *S. intermedius*
225 (Trinidad et al. 1990a, Nagahata et al. 2006, Gillespie et al. 2009).

226 Quando comparados a patógenos maiores, como *Streptococcus agalactiae* e
227 *Staphylococcus aureus*, foco dos programas de controle da mastite até a década de 1990, os
228 SCN tradicionalmente são considerados patógenos menores que fazem parte da microbiota da
229 pele, mucosas, esfíncter e canal dos tetos de bovinos e que parecem não ter a capacidade de
230 causar mastites graves. Sabe-se, no entanto, que podem persistir na glândula mamária,
231 causando aumento de CCS (Trinidad et al. 1990a, Pyyrälä & Tamponen 2009).

232

233

CONTROLE E PREVENÇÃO

234 Em novilhas, os fatores de risco para mastite podem ser classificados desta forma: os que
235 aumentam a exposição aos agentes patogênicos, como falta de higiene do úbere (responsável
236 pelo aumento da CCS nos rebanhos leiteiros), e aglomeração de novilhas com vacas adultas;
237 os que predisõem as novilhas a IIMs, como idade ao parto, edema do úbere e potencial
238 genético para alta produção; bem como os que favorecem a ocorrência da enfermidade, como
239 superalimentação ou subnutrição e condições inadequadas de alojamento, incluindo espaço
240 reduzido por animal dentro dessas instalações.

241 Portanto, a adoção de práticas de manejo, associadas à antibioticoterapia, são
242 importantes ferramentas de controle capazes de atenuar os efeitos desses fatores, reduzindo a
243 incidência e prevalência da mastite em novilhas (McDougall et al. 2009).

244

245 Tratamento pré-parto

246 Em novilhas, o tratamento intramamário no pré-parto com antimicrobianos para lactação 7 a
247 14 dias antes do parto foi considerado viável economicamente por reduzir a ocorrência de

248 mastite durante o início da lactação e aumentar a produção de leite na lactação subsequente,
249 além de baixa persistência de resíduos no leite (Oliver et al. 1992, Oliver et al. 2003),
250 reduzindo também o descarte prematuro de animais (Fagundes et al. 2004). Segundo
251 Nickerson (2009), os melhores resultados são alcançados quando a terapia de vaca seca em
252 novilhas é empregada em rebanhos com alta prevalência de mastite.

253 Estudos demonstraram taxas de cura que variaram de 57,1% até 100% em novilhas
254 tratadas de 8 a 12 semanas antes do parto com antibióticos recomendados para vacas secas
255 (Trinidad et al. 1990b, Owens et al. 1991, 2001).

256 O tratamento de novilhas no período pré-parto com produtos para vaca seca mostra-se
257 vantajoso em virtude da maior taxa de cura alcançada nesse momento em relação ao período
258 de lactação; ausência das perdas de leite durante a terapia na lactação; minimização dos riscos
259 de resíduos de antimicrobianos no leite; redução da contagem de células somáticas após o
260 parto e aumento de até 10% na produção de leite (Nickerson 2009). Sampimon et al. (2009)
261 observaram que houve uma menor prevalência de culturas positivas em amostras de leite
262 colhidas de novilhas tratadas de 8 a 10 semanas antes do parto, sendo observada diminuição
263 do número de células somáticas no início da lactação, em comparação com novilhas não
264 tratadas, além de menor incidência de mastite clínica durante a lactação.

265 De acordo com Owens et al. (2001), o tratamento realizado no intervalo de 45 a 60
266 dias antes do parto permite que a maioria das infecções seja eliminada, além de haver tempo
267 suficiente para que não ocorram resíduos de antimicrobianos. Fagundes et al. (2004), em
268 estudo com terapia antimicrobiana em novilhas, evidenciaram que, quando amostras de leite
269 foram colhidas 65 dias após o tratamento de novilhas com terapia de vaca seca, não foram
270 detectados resíduos de antimicrobianos, sugerindo que esse seja o intervalo mais seguro entre
271 o tratamento de novilhas no pré-parto e o consumo do leite desses animais.

272 Apesar do tratamento de novilhas no pré-parto ser uma importante ferramenta para o
273 controle da mastite, deve-se avaliar o custo-benefício dessa terapia e o risco potencial da
274 presença de resíduos de antimicrobianos no leite. Esse problema constitui grande preocupação
275 por representar risco à saúde do consumidor, com manifestação de reações alérgicas, efeitos
276 teratogênicos em gestantes, ototoxicidade e alterações no desenvolvimento ósseo fetal, além
277 de interferir na produção dos derivados lácteos, inviabilizando, muitas vezes, a produção
278 destes e determinando prejuízos econômicos (Costa et al. 1999c).

279

280

281 Estratégias de controle sem o uso de antibióticos:

282 Fatores como o custo do tratamento com antimicrobianos, o risco da presença de resíduos
283 destes no leite de primíparas no início da lactação, com conseqüente possibilidade de danos à
284 saúde do consumidor final, aliado ao desenvolvimento de resistência pelos micro-organismos
285 em função da pressão seletiva pelo uso indiscriminado de antibióticos, apontam para a
286 necessidade de inclusão de outras alternativas de manejo, objetivando um controle mais
287 eficiente da mastite bovina nos rebanhos leiteiros, que atendam as normas de segurança
288 alimentar e higiênico-sanitárias preconizadas na legislação vigente e que sejam
289 economicamente viáveis.

290

291 Medidas higiênico-sanitárias

292 A falta de higiene do úbere está associada a um aumento do risco de IIMs em novilhas
293 (McDougall et al. 2009). Segundo Vaage et al. (1998), a ocorrência de mastite clínica no pré e
294 pós-parto e o aumento da CCS nesta categoria de animais estão associados, na maioria das
295 vezes, aos mesmos fatores de risco existentes para vacas em lactação.

296 A manutenção de novilhas em ambientes higiênicos, secos e confortáveis tem reflexos
297 diretos sobre os problemas de mastite ambiental e indiretos sobre o controle de mastite
298 contagiosa, sendo necessária atenção especial com as instalações, como tamanho de piquetes
299 maternidades e baias, sombreamento e qualidade da cama (Müller 2002).

300 Quanto ao manejo de ordenha, é imprescindível que primíparas sejam ordenhadas em
301 primeiro lugar e que os tetos sejam lavados com água corrente de boa qualidade ou acrescida
302 de cloro e secados com papel toalha descartável (Ladeira et al. 2007). Segundo Müller (2002),
303 a realização do pré-dipping com uma solução desinfetante eficaz e na diluição correta é uma
304 medida fundamental para a redução de novas infecções ambientais, e quando precedida de
305 lavagem e secagem adequadas dos tetos, pode reduzir de 50 a 80% as IIMs.

306 Da mesma forma, o uso de pós-dipping é considerado um importante componente no
307 controle da mastite contagiosa (Pyyrälä 2002). Segundo Pankey (1984), a correta realização
308 do pós-dipping pode reduzir em até 50% a incidência de novas infecções em condições
309 naturais.

310

311 Selantes de tetos

312 A disponibilidade de selantes internos de teto estimulou novos estudos, sendo objeto de
313 ensaios clínicos nos últimos anos (Huxley et al. 2002, Godden et al. 2003, Sanford et al.

314 2006). Estes produtos não antibióticos apresentam em sua composição subnitrato de bismuto,
315 sendo utilizados em vacas não infectadas, funcionando como uma barreira física inerte na
316 cisterna do teto, e sua aplicação tem como finalidade impedir a penetração de bactérias do
317 ambiente para o interior do úbere (Lim et al. 2007).

318 A infusão de um selante de teto aplicado em média 27 dias antes do parto reduziu o
319 risco de novas IIMs em 74%, independentemente do patógeno; a prevalência de infecções
320 pós-parto em 65%; o risco de novas infecções por *Streptococcus uberis* em 70% nos quartos
321 com uma infecção intramamária pré-existente; e ainda, a incidência de mastite clínica em
322 70% dos quartos com infecções pré-existentes (Parker et al. 2008). Foi verificada, também,
323 uma diminuição de 84% na incidência de IIMs e de mastite clínica por *Streptococcus uberis*
324 em 68% das novilhas que receberam o selante de 4 a 6 semanas antes do parto, quando foram
325 avaliadas no período de 0 a 4 dias pós-parto (Parker et al. 2007), porém não foram
326 constatados efeitos sobre a cura de IIMs pré-existentes.

327 A aplicação de selantes internos no final do período de lactação, aproximadamente 39
328 dias antes do parto, impede a fuga de leite no pré-parto e reduz também a ocorrência de novas
329 IIMs durante o período seco e de mastite clínica, desde a secagem até a lactação subsequente.
330 No entanto, a higiene e a antissepsia no momento da aplicação devem ser rigorosas, em
331 virtude do risco de introdução de patógenos, existindo, ainda, a possibilidade da persistência
332 de restos do selante por algumas semanas após o parto (McDougall et al. 2009).

333 Outra alternativa disponível é o uso de um selante externo de látex, acrílico ou
334 polímero 10 dias antes do parto, que produz uma camada protetora sobre o tecido que impede
335 a entrada de bactérias no canal do teto, reduzindo a incidência de IIMs em 19%, dos
336 principais patógenos em 40% e de *Streptococcus* ambientais em 50%. No entanto, essa
337 diminuição não foi significativa para *Staphylococcus* coagulase positivo (SCP) e infecções
338 por bactérias Gram-negativas (McDougall et al. 2009).

339 Matthews et al. (1988) e Edinger et al. (2000) observaram que a aplicação destes
340 selantes nas 3 últimas semanas pré-parto, diariamente ou 3 vezes por semana, não resultou em
341 reduções significativas da taxa de IIMs e mastite clínica em novilhas, possivelmente pelo
342 curto período de adesão do selante externo ao teto, não sendo verificado qualquer benefício
343 sobre a saúde da glândula mamária nesses estudos.

344

345

346

347 Ordenhas pré-parto

348 Fatores estressantes no período periparto, como parição, distocias, separação do bezerro,
349 alteração de dietas, exposição aos patógenos causadores da mastite, edema de úbere,
350 introdução ao processo de ordenha, especialmente em novilhas primíparas, afetam
351 negativamente o consumo de matéria seca e, conseqüentemente, a produção de leite, além de
352 comprometer a função imune, aumentando a suscetibilidade à mastite (Daniels et al. 2007).

353 A realização de duas ou três ordenhas diárias a partir de duas semanas antes do parto
354 está associada a uma melhora da saúde do úbere e também da qualidade do leite, além de
355 diminuir a prevalência de IIMs e a incidência de mastite clínica nos primeiros 135 dias de
356 lactação, além de reduzir o número de células somáticas (McDougall et al. 2009). Segundo o
357 mesmo autor, estes efeitos ocorrem provavelmente em consequência da redução do edema de
358 úbere no pré-parto, embora a redução da concentração dos componentes do plasma sanguíneo,
359 decorrente das ordenhas, possa aumentar o risco de cetose subclínica, perda de escore
360 corporal e maior risco de balanço energético negativo devido ao aumento da produção
361 provocado pela ordenha pré-parto, somando-se a isso uma baixa na concentração de
362 imunoglobulinas no colostro.

363

364 Controle de moscas no local de ordenha

365 A presença de moscas na sala de ordenha pode ser responsável pela transmissão de patógenos
366 importantes, como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sp.*, de vacas em lactação para
367 vacas secas e novilhas (Nickerson et al. 1995). Fatores como acúmulo de lama, umidade e
368 presença de moscas no ambiente onde novilhas são manejadas, segundo Seinhorst et al.
369 (1991), predisõem mastite por *Arcanobacterium pyogenes*.

370 As maiores taxas de transmissão são observadas durante o verão, onde a densidade
371 populacional destes vetores aumenta substancialmente (Fox et al. 1995), sugerindo-se ainda
372 que novilhas com glândulas mamárias desenvolvidas próximas ao parto sejam mais
373 suscetíveis a IIMs transmitidas por moscas (Fox 2009). Moscas como *Hydrotaea irritans* e
374 *Haematobia irritans* são vetores de bactérias associadas à mastite de verão e mastite por *S.*
375 *aureus*, respectivamente (McDougall et al. 2009).

376

377 Vacinação

378 A melhoria da resposta imunológica através da vacinação como medida adicional é uma
379 proposta atraente para controle da mastite (Leigh 1999), especialmente para patógenos

380 ambientais e para as novilhas no pré-parto, onde estratégias de controle concebidas para
381 patógenos contagiosos são limitadas, sendo desenvolvidas e avaliadas várias vacinas com esse
382 propósito (McDougall et al. 2009).

383 Nas numerosas tentativas de vacinação realizadas para prevenção da mastite bovina,
384 foram empregados estirpes de *Staphylococcus aureus* avirulentos ou mortos, isolados de
385 peptidoglicano, proteínas da parede celular, adesinas ou preparações de células mortas e
386 toxoides (Foster 1991, Sutra & Poutrel 1994, Pellegrino et al. 2010). Essas vacinas aumentam
387 a taxa de cura espontânea das infecções e diminuem sua gravidade, mas não previnem a
388 ocorrência de novas infecções (Giraud et al. 1997). A vacinação contra *Staphylococcus*
389 *aureus* não apresentou eficiência para reduzir a prevalência da mastite em estudos realizados
390 com novilhas (Nordhaug et al. 1994, Tenhagen et al. 2001, Leitner et al. 2003).

391 Entretanto a utilização de uma vacina com células de estirpes inativadas de
392 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* e *S. agalactiae* em 30 novilhas na Argentina
393 resultou em uma redução de 64% e 68% das IIMs nos grupos vacinados no pré-parto e pós-
394 parto, respectivamente, além de uma diminuição na frequência de mastite clínica e subclínica
395 quando amostras foram coletadas durante a lactação (Giraud et al. 1997).

396 O emprego de células mortas inteiras vivas ou subunidades de *Streptococcus uberis*
397 reduziu a gravidade e a duração da mastite em novilhas, com diminuição do número de
398 bactérias e da CCS em relação ao grupo controle não vacinado (Leigh 1999), apesar de a
399 prevalência de *Streptococcus spp.* a campo não ter sido alterada quando vacinas mortas foram
400 empregadas (Giraud et al. 1997).

401 Em relação à mastite ambiental, um estudo realizado por Hogan et al. (1999),
402 utilizando três doses de vacinas de *Escherichia coli* em 14 novilhas, resultou em redução da
403 duração e da gravidade da mastite clínica, não impedindo, porém, a ocorrência de IIMs por
404 esse micro-organismo, além de não apresentar qualquer efeito sobre a redução da CCS no
405 leite.

406 Portanto, o desenvolvimento e a avaliação são necessários antes do emprego da
407 vacinação como ferramenta confiável no controle da mastite bovina (McDougall et al. 2009).
408 Qualquer que seja a preparação antigênica utilizada, a proteção contra novas infecções
409 intramamárias, que é o principal objetivo da vacinação, ainda não foi alcançada de maneira
410 satisfatória (Sutra & Poutrel 1994).

411

412

413 Proteínas antimicrobianas transgênicas

414 Recentemente, resultados observados com a produção de proteínas adicionais no leite de
415 animais transgênicos, com potencial antibacteriano, a exemplo da lactoferrina, lisosima e
416 lactoperoxidase, têm demonstrado um campo promissor para o aumento da resistência da
417 glândula mamária contra a mastite bovina, principalmente através da expressão da proteína
418 lisostafina em células do tecido secretor de leite (Kerr & Wellnitz, 2003). Segundo esses
419 autores, essa enzima, produzida naturalmente pelo *Staphylococcus simulans*, tem atividade
420 bactericida por degradar o peptidoglicano da parede celular de *S. aureus*, expondo o conteúdo
421 bacteriano aos danos mecânicos e à lise osmótica.

422 Outras abordagens transgênicas para o aumento da resistência à mastite envolvem a
423 produção de anticorpos no leite contra patógenos específicos; maior expressão dos genes
424 codificadores de receptores de imunoglobulina poliméricos em células epiteliais mamárias, os
425 quais são responsáveis pelo transporte de imunoglobulina A (IgA) para as camadas epiteliais e
426 para as secreções mucosas dos vários tecidos, incluindo a glândula mamária; além da
427 produção de outras enzimas capazes de aumentar a resistência contra os diversos patógenos
428 causadores de mastite (Kerr & Wellnitz, 2003).

429

430 Terapia probiótica

431 A aplicação de bactérias vivas (probióticas), com ampla atividade antimastítica, obtidas de
432 glândulas mamárias saudáveis de bovinos, tem demonstrado potencial no controle de
433 processos infecciosos e condições inflamatórias através do antagonismo e da
434 imunomodulação (Cross, 2002). Um estudo recente demonstrou que um ressuspenso
435 liofilizado de *Lactococcus lactis* (DPC 3147) infundido em quartos mamários resultou em
436 uma taxa de cura de mastite clínica semelhante à obtida com antibioticoterapia (Klostermann
437 et al. 2008).

438 Segundo Ryan et al. (1999), o inibidor (lacticin 3147) produzido por *L. lactis* mostrou-se
439 bactericida para *Streptococcus sp* e *Staphylococcus sp* in vitro, além de prevenir novas
440 infecções por esses patógenos quando administrado juntamente com selantes internos de teto,
441 constituindo, portanto, uma alternativa não antibiótica para o tratamento e a prevenção da
442 mastite bovina.

443

444

445

446 Manejo nutricional

447 A nutrição desempenha um importante papel para a resistência imunológica contra doenças.
448 Conseqüentemente, a deficiência de algumas substâncias, como selênio, cobre, zinco e
449 vitamina E, mesmo que pequena, constitui fator predisponente para a mastite (Sordillo et al.
450 1997).

451 Assim como em vacas adultas em lactação, fatores nutricionais também estão
452 associados à mastite em novilhas devido a diferenças no manejo alimentar durante o período
453 de recria e no pré-parto (Heinrichs et al. 2009). Segundo esse mesmo autor, os
454 micronutrientes, como selênio (Se), vitamina E, cobre (Cu), zinco (Zn), vitamina A e beta-
455 caroteno estão associados ao aumento da atividade fagocitária, função antioxidante e
456 manutenção das barreiras epiteliais à infecção, respectivamente, diminuindo, portanto, o risco
457 de mastite em novilhas. Porém, os resultados são inconsistentes com relação aos últimos na
458 promoção da saúde do úbere, devendo-se realizar a suplementação destes micronutrientes na
459 ração fornecida às novilhas antes do parto, principalmente para animais de alta produção,
460 objetivando, com isso, a minimização dos riscos de mastite e a transferência de níveis
461 adequados através do colostro.

462 As concentrações de vitamina A, E e Zn diminuem significativamente durante o parto,
463 podendo resultar em uma redução da defesa imunológica e aumento do risco de ocorrência de
464 mastite (Meglia et al. 2001). Segundo este estudo, dietas contendo um alto teor de proteína na
465 ração de novilhas próximas ao parto não apresentam qualquer vantagem, sendo, por outro
466 lado, prejudiciais pela diminuição da capacidade de detoxificação da amônia em 40% nesta
467 fase.

468 Portanto, ajustes na nutrição de novilhas no pré-parto, principalmente as de alto
469 potencial produtivo, são fundamentais para a otimização da resposta imune, uma vez que as
470 dietas atualmente fornecidas a essa classe de animais em muitas propriedades leiteiras
471 parecem ser insuficientes (Pyörälä 2002). Entretanto, mais estudos são necessários para
472 definir melhor o papel da nutrição na saúde da glândula mamária em novilhas e,
473 conseqüentemente, no controle da mastite em nível de campo (Heinrichs et al. 2009).

474 Outras medidas, como controle da sucção entre bezerras e novilhas, principalmente se
475 essas bezerras são alimentadas com leite mastítico; não ingestão de leite proveniente de vacas
476 com mastite clínica por parte de bezerras, o qual constitui um risco futuro de mastite para
477 novilhas, principalmente por *Streptococcus agalactiae*, além de outras conseqüências, como a
478 ingestão de resíduos de antibióticos e o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos

479 por parte da microbiota intestinal de bezerras; separação de novilhas de vacas adultas com
480 mastite; diminuição da densidade animal por área pastejada; e minimização dos distúrbios
481 reprodutivos, como retenção de placenta, endometrite, piometra e distocias durante o parto,
482 têm sido sugeridas para o controle da mastite em novilhas (McDougall et al. 2009).

483

484

CONSIDERAÇÕES FINAIS

485 A prevalência de infecções intramamárias em novilhas tem sido demonstrada nos últimos
486 anos. No entanto, esses animais não têm recebido a mesma atenção que vacas adultas quanto
487 ao controle de IIMs, sendo necessário um maior conhecimento dos fatores de risco para
488 mastite nessa importante classe de animais para que estratégias integradas de gestão possam
489 ser tomadas visando a saúde da glândula mamária e o aumento da produção durante o período
490 de lactação. A antibioticoterapia no período pré-parto mostra-se uma importante ferramenta
491 para a redução da prevalência de IIMs no pós-parto, principalmente em rebanhos com altos
492 níveis de infecção. No entanto, isoladamente é insuficiente para o controle dessa doença em
493 níveis que não comprometam o futuro da produção de leite nos rebanhos, além do potencial
494 risco de eliminação de resíduos no leite.

495 Outras medidas complementares, como a higiene e a desinfecção durante todo o
496 processo da ordenha, controle de vetores e condições de conforto para os animais nos
497 ambientes onde são manejados, são fundamentais para a minimização dos casos de mastite.
498 Estratégias de controle baseadas na vacinação, utilização de selantes de tetos, sozinhos ou em
499 associação com antibióticos, realização de ordenhas próximas ao parto para a redução do
500 edema pré-parto, transgenia em bovinos leiteiros para expressão de proteínas adicionais com
501 potencial antimicrobiano, além da probiose e melhoria do manejo nutricional, mostram-se
502 alternativas atraentes e promissoras, entretanto necessitam de mais estudos para comprovar
503 sua eficácia nos diversos sistemas nos quais novilhas são exploradas, principalmente no
504 Brasil, onde os estudos são escassos.

505 Todas essas medidas devem ser adaptadas às reais condições existentes na propriedade
506 no que diz respeito ao rebanho explorado, aos diferentes tipos de manejo adotados, às
507 instalações existentes e às características ambientais presentes, buscando-se
508 fundamentalmente a otimização dos recursos empregados na exploração e a consequente
509 viabilidade econômica da atividade leiteira.

510

511

REFERÊNCIAS

- 512
- 513
- 514 Barkema, H.W., Schukken, Y.H., Lam, T.J.G.M., Beiboer, M.L., Wilmink, H., Benedictus, G.
515 & Brand, A. 1998. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three
516 categories by bulk milk somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 81:411-419.
- 517 Blosser, T. H. 1979. Economic losses from and the national research program on mastitis in
518 the United States. *J. Dairy Sci.* 62:119-127.
- 519 Cardoso, H.F.T., Carmo, L.S. & Silva, C. N. 2000. Detecção da toxina-1 da síndrome do
520 choque tóxico em amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. *Arq.*
521 *Bras. Med. Vet. Zootec.* 52:7-10.
- 522 Compton, C.W.R., Heuer, C., Parker, K. & McDougall, S. 2007. Epidemiology of mastitis in
523 pasture-grazed peripartum dairy heifers and its effects on productivity. *J. Dairy Sci.* 90:
524 4157-4170.
- 525 Costa, E.O., Melville, P.A., Ribeiro, A.R., Watanabe, E.T., Viane, F.C. & White, C.R. 1996.
526 Prevalence of intramamarian infections in primigravid brazilian dairy heifers. *Prev. Vet.*
527 *Medicine.* 29:151-155.
- 528 Costa, E. O., Ribeiro, A. R., Watanabe, E. T., Silva, J. A. B., Garino Jr, F., Benites, N. R. &
529 Horiuti, A. M. 1999a. Mastite subclínica: prejuízos causados e os custos de prevenção
530 em propriedades leiteiras. *Rev. Napgama, São Paulo.* 2(2):16-20.
- 531 Costa, E.O., Melville, P.A., Ribeiro, A.R. & Watanabe, E.T. 1999b. Infecções intramamárias
532 em novilhas primíparas no período pré ao pós parto e sua importância no controle de
533 mastite. *Rev. Napgama, São Paulo.* 2(1):16-20.
- 534 Costa, E.O., Raia, R. B., Garino Jr, F., Watanabe, E. T., Ribeiro, A. R. & Groff, M. R. 1999c.
535 Presença de resíduos de antibióticos no leite de pequena mistura de propriedades
536 leiteiras. *Rev. Napgama, São Paulo.* 2:10-13.
- 537 Costa, E.O. 2009. Binômio: Saúde da glândula mamária e produção leiteira. *Comunicações*
538 *Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São*
539 *Paulo.* 1-20.
- 540 Cross, M.L. 2002. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic
541 lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. *FEMS Immunol*
542 *and Med. Microbiol.* 34:245–253.
- 543 Daniels, K.J., Donkin, S.S., Eicher, S.D., Pajor, E.A. & Schutz, M.M. 2007. Prepartum
544 milking of heifers influences future production and health. *J. Dairy Sci.* 90:2293-2301.

545 DeVliegher, S., Barkema, H.W., Stryhn, H., Opsomer, G. & De Kruif, A. 2005. Impact of
546 early lactation somatic cell count in heifers on milk yield over the first lactation. J.
547 Dairy Sci. 88:938–947.

548 Domingues, P.F., Ferreira, B.L.S., Galdino, M.C. & Carneiro, D.M.V.F. 2008. Mastitis in calf
549 by *Arcanobacterium pyogenes* – Case Report. Vet. e Zootec. 15:257-262.

550 Edinger, D., Tenhagen, B.A., Kalbe, P., Klunder, G., Baumgartner, B. & Heuwieser, W.
551 2000. Effect of teat dipping with a germicide barrier teat dip in late gestation on
552 intramammary infection and clinical mastitis during the first 5 days postpartum in
553 primiparous cows. J. Vet. Med. Série A. 47:463-468. (Abstract).

554 Fagundes, H., Garino JR, F. & Costa, E.O. 2004. Primigravid heifers pré-partum: efficacy and
555 antimicrobial milk residue risk. Rev. Napgama, São Paulo. 7:6-12.

556 Foster, T.J. 1991. Potential for vaccination against infections caused by *Staphylococcus*
557 *aureus*. Vaccine. 9:221-227.

558 Fox, L.K. 2009. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. Vet. Microbiol.
559 134:82-88.

560 Fox, L.K., Chester, S.T., Hallberg, J.W., Nickerson, S.C., Pankey, J.W. & Weaver, L.D. 1995.
561 Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition.
562 J. Dairy Sci. 78:1619-1628.

563 Gillespie, B.E., Headrick, S.I., Bonyayatra, S. & Oliver, S.P. 2009. Prevalence and
564 persistence of coagulase-negative Staphylococcus species in the dairy research herds.
565 Vet. Microbiol. 34:65-72.

566 Giraud, J. A., Calzolari, A., Rampone, A., Rampone, A., Giraud, A. T., Bogni, C.,
567 Larriestra, A. & Nagel, R. 1997. Field Trials of a vaccine against bovine mastitis, 1.
568 Evaluation in heifers. J. Dairy Sci. 80:845-853.

569 Godden, S., Rapnicki, P., Stewart, S., Fetrow, J., Johnson, A., Bey, R. & Farnsworth, R. 2003.
570 Effectiveness of internal teat seal in the prevention of new intramammary infections
571 during the dry and early- lactation periods in dairy cows when used with a dry cow
572 intramammary antibiotic. J. Dairy Sci. 86:3899-3911.

573 Halasa, T., Nielen, M., De Ross, A. P. W., Van Hoorne, R., De Jong, G., Lam, J. G. M., Van
574 Werven, T. & Hogeveen, H. 2009. Production loss due to new subclinical mastitis in
575 Dutch dairy cows estimated with a test-day model. J. Dairy Sci. 92:599-606.

576

577 Hallberg, J.W., Dame K.J., Chester S.T., Miller C.C., Fox L.K., Pankey J.W., Nickerson S. C.
578 & Weaver, L.J. 1995. The visual appearance and somatic cell count of mammary
579 secretions collected from primigravid heifers during gestation and early postpartum. J.
580 Dairy Sci. 78:1629-1636.

581 Heinrichs, A.J., Costello, S.S. & Jones, C.M. 2009. Control of heifer mastitis by nutrition.
582 Vet. Microbiol. 134:172-176.

583 Hogan, J.S., Bogacz, V.L., Aslam, M. & Smith, K.L. 1999. Efficacy of an *Escherichia coli* J5
584 bacterin administered to primigravid heifers. J. Dairy Sci. 82:939-943.

585 Huxley, J.N., Green, M.J., Green, L.E. & Bradley, A.J. 2002. Evaluation of the efficacy of an
586 internal teat sealer during the dry period. J. Dairy Sci. 85:551-561.

587 Kerr, D. E. & Wellnitz, O. 2003. Mammary expression of new genes to combat mastitis. J.
588 Anim. Sci. 81:38-47.

589 Klostermann, K., Crispie, F., Flynn, J., Ross, R.P., Hill, C. & Meaney, W.J. 2008.
590 Intramammary infusion of a live culture of *Lactococcus lactis* for treatment of bovine
591 mastitis : comparison with antibiotic treatment in field trials. J. Dairy Res. 75:365-373.

592 Krömker, V. & Friedrich, J. 2009. Teat canal closure in non-lactating heifers and its
593 association with udder health in the consecutive lactation. Vet. Microbiol. 134:100-
594 1005.

595 Ladeira, S.R.L. 2007. Mastite bovina, p.359 - 370. In: Riet-Correa F., Schild A.L. Lemos
596 R.A.A. & Borges J.R.J. Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol. 1. 3 ed. Pallotti, Santa
597 Maria, RS. 722p.

598 Leigh, J.A., 1999. *Streptococcus uberis*: a permanent barrier to the control of bovine mastitis.
599 Vet. Journal. 157:225-238.

600 Leitner, G., Vadlin, N., Lubashevsky, E., Ezra, E., Glickman, A., Chaffer, M., Winkler, M.,
601 Saran, A. & Trainin, Z. 2003. Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against
602 mastitis in dairy cows. II. Field trial. Vet. Immunol. Immunopathol. 93:153-158.

603 Lim, G.H., Leslie, K.E., Kelton, D.F., Duffield, T.F., Timms, L.L., Dingwell, R.T. 2007.
604 Adherence and efficacy of an external teat sealant to prevent new intramammary
605 infections in the dry period. J. Dairy Sci. 90:1289-1300.

606 Matthews, K.R., Harmon, R.J., Langlois, B.E., Crist, W.L. & Hemken, R.W. 1988. Use of
607 latex teat dip with germicide during the prepartum period. J. Dairy Sci. 71:1940-1946.

608 McDougal L.S., Parker, K.I., Heuer, C. & Compton C.W.R. 2009. A review of prevention and
609 control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies. Vet. Microbiol. 134:177-185.

- 610 Meaney, W.J. 1981. Mastitis levels in spring-calving dairy heifers. Irish Vet. Journal. 35:205-
611 209.
- 612 Meglia, A., Johannisson, A., Petersson, L. & Persson Waller, K. 2001. Changes in same blood
613 micronutrients leukocytes and neutrophil expression of adhesion molecules in
614 periparturient dairy cows. Acta Vet. Scand. 42:139-150.
- 615 Müller, E.E. 2002. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: Santos,
616 G.T., Jobim, C.C., Damasceno, J.C. Sul-Leite: Simpósio sobre sustentabilidade de
617 pecuária leiteira na região sul do Brasil, Anais UEM/CCA/DZO-NUPEL. Maringá. 206-
618 217.
- 619 Nagahata, H., Maruta, H., Okuhira, T., Higuchi, H. & Anri, A. 2006. Bacteriological Survey
620 of Mammary Secretions from Prepartum Heifers in a Dairy Herd with a High
621 Prevalence of *Staphylococcus aureus* Infection. J. Vet. Med. Sci. 68:1359-1361.
- 622 Nickerson, S.C. 2009. Control of heifer mastitis: Antimicrobial treatment-An overview. Vet.
623 Microbiol. 134:128-135.
- 624 Nickerson, S.C., Owens, W.E. & Boddie, R.L. 1995. Mastitis in dairy heifers: Initial Studies
625 on prevalence and control in symposium: Mastitis in dairy heifers. J. Dairy Sci.
626 78:1607-1618.
- 627 Nordhaug, M.L., Nesse, L.L., Norcross, N.L. & Gudding, R. A. 1994. Field trial with an
628 experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. 1. Clinical-
629 parameters. J. Dairy Sci. 77:1267-1275.
- 630 Nyman, A.K., Ekman, T., Emanuelson, U., Gustafsson, A.H., Holtenius, K., Persson Waller,
631 K. & Hallén Sandgren, C. 2007. Risk factors associated with the incidence of
632 veterinary-treated clinical mastitis in Swedish dairy herds with a high milk yield and a
633 low prevalence of subclinical mastitis. Preventive Veterinary Medicine. 78:142-160.
- 634 Oliver, S.P. & Mitchell, B.A. 1983. Intramammary infections in primigravid heifers near
635 parturition. J. Dairy Sci. 66:1180-1183.
- 636 Oliver, S.P., Lewis, M.J., Gillespie, B.E. & Dowlen, H.H. 1992. Influence of prepartum
637 antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early
638 lactation. J. Dairy Sci. 75:406-414.
- 639 Oliver, S.P., Lewis, M.J., Gillespie, B.E., Dowlen, H.H., Jaenicke, E.C. & Roberts, R.K.
640 2003. Prepartum antibiotic treatment of heifers: milk production, milk quality and
641 economic benefit. J. Dairy Sci. 86:1187-1193.

- 642 Owens, W.E., Nickerson, S.C., Boddie, R.L., Tomita, G.M. & Ray, C.H. 2001. Prevalence of
643 mastitis in Dairy Heifers and Effectiveness of antibiotic Therapy. *J. Dairy Sci.* 84:814-
644 817.
- 645 Owens, W.E., Nickerson, S.C., Washburn, P.J. & Ray, C.H. 1991. Efficacy of a cephalosporin
646 dry cow product for treatment of experimentally induced *Staphylococcus aureus*
647 mastitis in heifers. *J. Dairy Sci.* 74:3376-3382.
- 648 Pankey, J. W. 1984. Update on postmilking teat antisepsis. *Proc. At Mast. Council.* 23:52-69.
- 649 Pardo, P.E., Muller, E.E., Mettifogo, E., Freitas, J.C. & Nascimento, E.R. 1998. Heifer
650 mastitis by *Mycoplasma bovis*. *Semina Ci. Agr. Londrina.* 19:76-78.
- 651 Parker, K.I., Compton, C., Anniss, F.M., Weir, A., Heuer, C. & McDougall, S. 2007.
652 subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant precalving.
653 *J. Dairy Sci.* 90:207-218.
- 654 Parker, K.I., Compton, C.W.R., Anniss, F.M., Weir, A., Heuer, C. & McDougall, S. 2008.
655 Quarter-level analysis of subclinical and clinical mastitis in primiparous heifers
656 following the use of a teat sealant or an injectable antibiotic, or both, precalving. *J.*
657 *Dairy Sci.* 91:169-181.
- 658 Pellegrino M., Giraud J., Raspanti C., Odierno L. & Boggi, C. 2010. Efficacy of
659 immunization against bovine mastitis using a *Staphylococcus aureus* avirulent mutant
660 vaccine. *Vaccine.* 28:4523-4528.
- 661 Pjörälä, S. & Tamponen, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis
662 pathogens. *Vet. Microbiol.* 134:3-8.
- 663 Pjörälä, S. 2002. New Strategies to Prevent mastitis. *Reproduction in Domestic Animals.*
664 37:211-216.
- 665 Reis S. R., Silva, N. & Brescia M.V. 2003. Antibioticoterapia para controle da mastite
666 subclínica de vacas em lactação. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 55:651-658.
- 667 Ryan, M.P., Flynn, J., Hill, C., Ross, R.P & Meaney, W.J. 1999. The natural food grade
668 inhibitor, lactacin 3147, reduced the incidence of mastitis after experimental challenge
669 with *Streptococcus dysgalactiae* in nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:2625-
670 2631.
- 671 Sampimon, O.C., DeVliegher, S., Barkema, H.W., Sol, J. & Lam, J.G.M. 2009. Effect of
672 prepartum dry cow antibiotic treatment in dairy heifers on udder health and milk
673 production. *J. Dairy Sci.* 92:4395-4403.

674 Sanford, C.J., Keefe, G.P., Dohoo, I.R., Leslie, K.E., Dingwell, R.T., DesCoteaux, L. &
675 Barkema, H.W. 2006. Efficacy of using an internal teat sealer to prevent new
676 intramammary infections in non-lactating dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*
677 228:1565-1573.

678 Seinhorst, J.W., Sol, J. & Vecht, U. 1991. Effect of damage to the teat end on the
679 experimental induction of mastitis in dry cows with *Corynebacterium pyogenes*. *Vet.*
680 *Rec.* 128:54-56.

681 Sordillo, L., Shafer-weaver, K. & De Rosa, D. 1997. Immunobiology of the mammary gland. *J.*
682 *Dairy Sci.* 80:1851-1865.

683 Stalbelforth, A.W., Edwards, S.J. & Minett, F.C. 1935. Studies on bovine mastitis. *J. Comp.*
684 *Path. Ther.* 48:300-315.

685 Sutra, L. & Poutrel, B. 1994. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine
686 intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* 40:79-89.

687 Tenhagen, B.A., Edinger, D., Baumgärtner, B., Kalbe, P., Klünder, G. & Heuwieser, W.
688 2001. Efficacy of a herd-specific vaccine against *Staphylococcus aureus* to prevent post-
689 partum mastitis in dairy heifers. *J. vet. Med. Série A.* 48:601-607.

690 Tenhagen, B.A., Hansen, I., Reinecke, A. & Heuwieser, W. 2009. Prevalence of pathogens in
691 milk samples of dairy Cows with clinical mastitis and in heifers at first parturition. *J.*
692 *Dairy Res.* 76:179-187.

693 Trinidad, P., Nickerson, S.C. & Alley, T.K. 1990a. Prevalence of intramammary infection and
694 teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 73:107-
695 112.

696 Trinidad, P., Nickerson, S.C., Alley, T.K. & Adkinson, R.W. 1990b. Efficacy of
697 intramammary treatment in unbred and primigravid dairy heifers. *J. Am. Vet. Med.*
698 *Assoc.* 197:465-470. (Abstract).

699 Tucker, H.A. 1987. In *Simposium: Mammary Growth*. Quantitative estimates of mammary
700 growth during various physiological states. *J. Dairy Sci.* 70:1958-1966.

701 Valde, J.P., Lawson, L.G., Lindberg, A., Agger, J.F., Saloniemi, H. & Osteras, O. 2004.
702 Cumulative risk of bovine mastitis treatments in Denmark, Finland, Norway and
703 Sweden. *Acta Vet. Scand.* 45:201-210.

704 Waage, S., Sviland, S. & Odegaard, S.A. 1998. Identification of risk factors for clinical
705 mastitis in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 81:1275-1284.

706

CAPÍTULO II

707	Mastite em novilhas e vacas secas em Rondônia: etiologia, tratamento e resíduos de
708	antibióticos no leite

O presente trabalho foi formatado segundo as normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira, de acordo com o que estabelece a norma nº 01/2008, de 11 de julho de 2008, do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural - Campus de Patos-PB

709 **Título: Mastitis in heifers and dry cows: Prevalence, ethiology, treatment and antibiotic**
710 **residues in milk**¹, Amancio Estevão Neto², Felício Garino Júnior³, Layze Cilmara Alves da
711 Silva², Rodrigo Antônio Torres Matos⁴, Maria A. P. da Silva⁴, Sérgio Santos Azevedo³,
712 Franklin Riet-Correa³.

713 **ABSTRACT.** - Estevão, A.E., Garino, Jr.F., Silva, L.C.A., Matos, R.A.T., da Silva, M.A.P.,
714 Azevedo, S.S. & Riet-Correa, F. 2011. [**Mastitis in heifers and dry cows: Ethiology,**
715 **treatment and antibiotic residues in Milk.**] Mastite em novilhas e vacas secas em
716 Rondônia: etiologia, tratamento e resíduos de antibióticos no leite. Pesquisa Veterinária
717 Brasileira.....Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus
718 de Patos, Paraíba, Brasil. E-mail: amancio.estevao@yahoo.com.br
719

720 The present study investigates the prevalence and etiology of intramammary
721 infections, the evaluation of the effectiveness of antibiotic treatment in cows in the dry season
722 and in heifers in the prepartum period, as well as the research of antibiotic residues in milk
723 from treated animals. 69 animals of the Girolando breed and crossbred (28 heifers and 41
724 cows) from 12 dairy farms in 5 cities from the region of Ouro Preto do Oeste – Rondônia
725 were assessed, and an experimental group was formed, which was composed of 47 animals
726 treated with two drugs for dry cows: cloxacillin benzathine and spiramycin associated to
727 neomycin 60 days after delivery, and also a drug for lactating cows: ceftiofur hydrochloride
728 30 days before delivery. The control group was formed by 22 animals. According to the
729 results obtained, intramammary infections (IMI) were found in 21.05% and 15.78% of the
730 mammary quarters of heifers and 37.27% and 10.91% in the quarters of cows in the pre and
731 postpartum periods, respectively. The dominant microorganisms observed in the heifers
732 (72.22%) and in the cows (50%) with intramammary infection belonged to the *genera*
733 *Staphylococcus spp.* Of these, 69.23% and 69.57% were coagulase negative *staphylococci*
734 (CNS) in heifers and cows, respectively. The presence of *Corynebacterium sp* has also been
735 detected in 47.83% of the total number of isolates in cows in the pre-partum period. The three
736 evaluated treatments led to an average microbiological cure rate of 100% in heifers and of
737 95.65% in cows, and the presence of antibiotic residues were observed in 3.44%, 12.50% and
738 10% of the animals treated with cloxacillin, spiramycin and ceftiofur hydrochloride,
739 respectively. It is concluded that the prevalence rates of IMI observed demonstrate the
740 importance of the pre-partum period in heifers and cows regarding the risk of IMI, and that
741 the evaluated protocols have effectively eliminated the microorganisms that caused IMI in the
742 prepartum period in the animals, and resulted in a low persistence of residues in milk. Thus, it
743 is important to stress the relevance of antibiotic therapy in the treatment and prevention of

744 IMI in the referred periods, which are critical for the abovementioned animals, particularly in
745 the region of Ouro Preto do Oeste, in Rondonia, where there are few mastitis control
746 programs.

747

748 Indexation terms: heifers, dry cows, etiology, antibiotic therapy, antibiotic residues.

749

750 ¹ Recebido em

751 Aceito para publicação em

752 ² Alunos de mestrado em Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR),
753 Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB. 58700-000, Brasil. E-mail:
754 amancio.estevao@yahoo.com.br

755 ³ Professores do P.P.G.M.V., Hospital Veterinário, CSTR, UFCG, Patos, PB 58700-000.

756 ⁴ Médico Veterinário – Hospital Veterinário, CSTR, UFCG, Patos, PB 58700-000.

757 *Autor para correspondência: amancio.estevao@yahoo.com.br

758

760 **RESUMO.** - Este trabalho teve como objetivos o estudo da prevalência e da etiologia das
761 infecções intramamárias, a avaliação da eficácia do tratamento antibiótico em vacas no
762 período seco e em novilhas no pré-parto, além da pesquisa de resíduos de antimicrobianos no
763 leite dos animais tratados. Foram avaliados 69 animais das raças Girolando e mestiços (28
764 novilhas e 41 vacas), pertencentes a 12 propriedades leiteiras em 5 municípios da região de
765 Ouro Preto do Oeste - Rondônia, sendo formado um grupo experimental (47 animais) tratado
766 com dois medicamentos para vaca seca: cloxacilina benzatina e espiramicina em associação
767 com neomicina 60 dias antes do parto, além de um medicamento para vaca em lactação:
768 cloridrato de ceftiofur 30 dias pré-parto. O grupo controle foi constituído por 22 animais. De
769 acordo com os resultados obtidos, foram verificadas infecções intramamárias (IIMs) em
770 21,05% e 15,78% dos quartos mamários de novilhas e 37,27% e 10,91% em quartos de vacas
771 no pré e no pós-parto, respectivamente. Foi observada uma predominância de micro-
772 organismos do gênero *Staphylococcus spp* na etiologia dessas IIMs, tanto em novilhas
773 (72,22%) quanto em vacas (50%). 69,23% e 69,57% foram *Staphylococcus coagulase*
774 negativo (SCN) em novilhas e vacas, respectivamente, sendo também observada uma
775 ocorrência de *Corynebacterium sp* em 47,83% do total de isolados no pré-parto em vacas. Os
776 três tratamentos avaliados resultaram em uma taxa média de cura microbiológica de 100% em
777 novilhas e 95,65% em vacas, tendo sido verificada a presença de resíduos de antibióticos em
778 3,44%, 12,50% e 10% dos animais tratados com cloxacilina, espiramicina e cloridrato de
779 ceftiofur, respectivamente. Conclui-se que as taxas de prevalência de IIMs observadas
780 demonstram a importância do período pré-parto e seco em novilhas e vacas quanto ao risco de
781 IIMs e que os protocolos avaliados foram eficazes em promover a cura microbiológica frente
782 aos micro-organismos isolados no pré-parto, além de haver uma baixa persistência de resíduos
783 no leite. Ressalta-se, portanto, a importância da antibioticoterapia como ferramenta para o
784 tratamento e a prevenção de IIMs nesses períodos, considerados críticos para essas categorias
785 de animais, principalmente na região estudada, que carece de programas de controle de
786 mastite.

787

788 Termos de indexação: novilhas, vacas secas, etiologia, antibioticoterapia, resíduos de
789 antibióticos.

790

791

INTRODUÇÃO

792

793 Nos últimos anos, novas fronteiras para a exploração da atividade leiteira têm surgido no
794 Brasil, sendo a região Norte uma dessas. O estado de Rondônia ocupa o 1º lugar nessa região
795 e o 9º no ranking nacional, com uma produção de 746.873.000 litros/ano para um total de
796 vacas ordenhadas de 1.045.428 (IBGE 2009).

797 Apesar dos esforços realizados pelo estado através da prestação de assistência técnica
798 junto às propriedades rurais, visando a minimização dos problemas sanitários, principalmente
799 pela adoção de medidas preventivas de higiene, estes ainda representam um fator limitante
800 para a melhoria da produtividade nos rebanhos leiteiros, sendo a mastite bovina responsável
801 por perdas consideráveis em toda a cadeia produtiva, segundo informações da Emater-RO e
802 relatos de produtores rurais.

803 Qualquer programa de controle tem como objetivo a diminuição da infecção a um
804 baixo nível, levando-se em consideração que dificilmente se obtém a cura completa dessa
805 doença em nível de propriedade, devendo os esforços ser dirigidos para a promoção da saúde
806 da glândula mamária através da eliminação de infecções pré-existentes e a prevenção de
807 novos casos de mastite ou, ainda, para a diminuição do tempo de duração destas (Dood et al.
808 1969). Assim, os programas de controle encontram-se apoiados em pontos como: imersão de
809 tetos em solução antisséptica, higiene da ordenha através da lavagem e secagem dos tetos,
810 terapia da vaca seca, uso e manutenção das ordenhadeiras de forma adequada, tratamento
811 imediato dos casos clínicos e descarte de animais com infecção crônica (Nickerson et al.
812 1995).

813 O tratamento antibiótico da mastite subclínica durante a lactação não tem sido
814 considerado viável economicamente, apresentando resultados favoráveis apenas quando
815 “blitz” terapia é utilizada contra *Streptococcus agalactiae* (Blowey & Edmondson 2010). Essa
816 baixa eficácia resulta da dificuldade na eliminação de muitas infecções, principalmente por
817 *Staphylococcus aureus* (Sears 2008). Entretanto, a terapia de vacas secas no final do período
818 de lactação tem sido atualmente o foco dos programas de controle da mastite subclínica por
819 promover a cura das infecções pré-existentes no momento da secagem, além de prevenir a
820 ocorrência de novas infecções durante esse período (Bhutto et al. 2011). Da mesma forma, o
821 tratamento em novilhas no pré-parto com produtos para vacas secas tem sido adotado,
822 apresentando eficácia na eliminação de infecções intramamárias no final da gestação, bem
823 como na redução da mastite na lactação subsequente (Oliver et al. 2003).

824 Apesar dos métodos atuais de controle da mastite serem voltados para vacas secas e
825 em lactação (Nickerson et al. 1995), a ocorrência de mastite em primíparas é relatada desde as
826 décadas de vinte e trinta (Stabelforth et al. 1935). O dogma de que novilhas são livres de
827 mastite tem sido combatido nos últimos anos (Fox 2009, Nickerson 2009), e IIMs em fêmeas
828 com idade inferior a nove meses têm sido objeto de pesquisas por vários autores em diferentes
829 países desde a segunda metade da década de 1980. A prevalência de IIMs em novilhas varia
830 desde 22,9% até 97%, apresentando taxas de quartos mamários infectados que atingem até
831 75% e sintomas clínicos em até 29% dos casos (Meaney 1981, Oliver & Mitchell 1983,
832 Pankey et al. 1991, Owens et al. 2001, Tenhagem et al. 2009), ocorrendo, segundo os mesmos
833 autores, uma predominância de *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN) na etiologia dessa
834 enfermidade.

835 O tratamento de vacas no período seco é considerado uma prática comum e rentável
836 no controle da mastite em vacas multíparas (DeGraves & Fetrow, 1993). Resultados obtidos
837 por Ziv et al. (1981) em Israel, Petzer et al. (2009) na África do Sul e Owens et al. (2001) nos
838 Estados Unidos com diversos antimicrobianos para vacas secas demonstraram taxas de cura
839 que variaram de 67% a 100% contra os principais patógenos causadores de mastite subclínica
840 no período seco em quartos mamários.

841 Igualmente, em novilhas o tratamento intramamário no pré-parto com antimicrobianos
842 também foi considerado viável economicamente por reduzir a ocorrência de mastite após o
843 parto e aumentar a produção de leite durante a lactação (Oliver 2000), além de diminuir o
844 descarte prematuro de animais (Fagundes et al. 2004).

845 Estudos realizados por Oliver et al. (1992) e Borm et al. (2006) demonstraram taxas de
846 cura em quartos mamários de 54,40% a 79,9% quando novilhas foram tratadas entre 7 e 21
847 dias antes do parto com antimicrobianos formulados para vacas em lactação. Segundo
848 Nickerson (2009), os índices de cura para animais que utilizaram antibioticoterapia foram
849 superiores aos índices de cura espontânea de patógenos como *Staphylococcus aureus* e
850 *Streptococcus* ambientais, constatando-se ainda um aumento na produção de leite dessas
851 novilhas de 2,5 kg/dia quando comparadas às primíparas que não receberam tratamento
852 durante o período pré-parto.

853 Entretanto, o potencial risco da presença de resíduos de antimicrobianos no leite e a
854 conscientização por parte dos consumidores a respeito da segurança alimentar e dos perigos
855 microbiológicos em alimentos obrigam muitos países a impor penalidades severas para os
856 produtores de leite quando da presença de substâncias antimicrobianas em quantidades não

857 permitidas. Conseqüentemente, se faz necessária a utilização de testes que permitam a
858 identificação de resíduos no leite (Hillerton et al. 1999). A presença de resíduos de
859 antibióticos no leite é um foco importante para a indústria de laticínios pelo impacto no
860 processo de fabricação de derivados, além de representar um risco potencial à saúde do
861 consumidor, sendo crucial o uso racional de antimicrobianos em rebanhos leiteiros (Mármore
862 et al. 2005).

863 A mastite continua sendo a causa mais frequente do uso de antimicrobianos em
864 propriedades de exploração leiteira, sendo responsável, conseqüentemente, por uma grande
865 parcela dos custos nesta atividade (Erskine et al. 2003). Segundo Costa (1999a) e Costa et al.
866 (2000), resíduos de antimicrobianos no leite decorrem principalmente do uso abusivo e
867 inadequado de antibióticos e da não obediência ao período de carência do leite de animais
868 tratados, além da prolongada retenção do medicamento na glândula mamária em alguns
869 animais e da antecipação do parto.

870 Essas substâncias antimicrobianas foram encontradas no leite de animais tratados por
871 via intramamária por um período de tempo superior ao tempo de carência recomendado na
872 bula do antibiótico (Raia 2001). Segundo o mesmo autor, a persistência de resíduos no leite
873 pode ainda ser aumentada pela presença de um processo inflamatório na glândula mamária.

874 Entretanto, estudos evidenciam que o tratamento realizado no intervalo de 45 a 65 dias
875 antes do parto com produtos de vaca seca permite que a maioria das infecções seja curada,
876 além de haver tempo suficiente para que os resíduos de antimicrobianos sejam eliminados
877 (Owens et al. 2001, Fagundes et al. 2004).

878 Este trabalho teve como objetivos o estudo da prevalência e da etiologia das infecções
879 intramamárias, a avaliação da eficácia do tratamento antibiótico em vacas no período seco e
880 em novilhas no pré-parto, além da pesquisa de resíduos de antimicrobianos no leite dos
881 animais tratados.

882

883

884

885

886

887

888

889

MATERIAL E MÉTODOS

890

891 O estudo foi realizado em 12 propriedades rurais de exploração leiteira, localizadas nos
892 municípios de Teixeiraópolis (1), Mirante da Serra (1), Nova União (3), Vale do Paraíso (2) e
893 Ouro Preto do Oeste (5), na região central do estado de Rondônia, durante o período de
894 janeiro a junho de 2010 (Fig. 1). Nestes municípios a produção de leite representa uma
895 importante fonte de renda, com uma produção anual total de 144.023.000 litros (19,28% da
896 produção estadual) (IBGE 2009).

897

898 Figura 1. Localização geográfica dos municípios do estado de Rondônia onde foi
899 realizado o estudo.



900

901 Fonte: INCRA – Rondônia, 2009.

902 As propriedades foram selecionadas com base em critérios como: aceitação da
903 realização do estudo por parte dos proprietários, existência de registros de previsão de parto,
904 obtidos da ficha de inseminação artificial, e facilidade de acesso. O sistema de exploração
905 predominante era o semiextensivo, com área média de pastagem de 99,12 hectares, composta,

906 principalmente, por *Brachiaria brizantha*, sendo realizada suplementação volumosa no
907 período seco à base de silagem de milho, capim napier e cana de açúcar. Todos os animais
908 tinham acesso ao sal mineralizado.

909 Os 12 rebanhos leiteiros explorados eram formados em média por 204,33 cabeças,
910 apresentando uma produtividade média de 6,22/litros/vaca/dia no rebanho em lactação, sendo
911 a ordenha realizada de forma manual em cinco propriedades e mecânica em sete. Em quatro
912 propriedades eram realizadas duas ordenhas diárias. A mão de obra empregada na ordenha e
913 manejo do rebanho como um todo era familiar e contratada.

914 Foram selecionados 69 animais (Girolando e mestiços) de forma intencional dentro do
915 rebanho, levando-se em consideração a utilização de todos os animais (novilhas e vacas) que
916 se encontravam no período pré-parto, para compor um grupo tratamento, formado por 47
917 animais (T1, T2 e T3) e um grupo controle (sem tratamento), constituído por 22 animais
918 (Quadro 1).

919 Antes do tratamento todos os animais foram submetidos ao teste da caneca de fundo
920 preto (Tamis) para o diagnóstico da mastite clínica de todos os quartos mamários. Em seguida
921 foram coletadas amostras para exame microbiológico. Para a coleta das amostras foi realizada
922 a antissepsia dos tetos com solução desinfetante (solução aquosa de hipoclorito de sódio a
923 1%), secos individualmente com papel toalha descartável e depois submetidos à antissepsia
924 com algodão embebido em álcool-iodado a 1%. Foram colhidas amostras de 2 a 4 ml de
925 secreção mamária em tubos estéreis para exames microbiológicos.

926 Os animais do grupo tratamento receberam uma infusão intramamária de antibióticos
927 comerciais antimastíticos específicos para uso em período seco (cloxacilina benzatina e
928 espiramicina em associação com neomicina) e em lactação (cloridrato de ceftiofur) aos 60 e
929 30 dias pré-parto, respectivamente, em uma única aplicação com inserção parcial da cânula
930 em todos os quartos mamários tratados (Quadro 1).

931 A escolha dos três antimicrobianos para o experimento foi realizada com base na
932 disponibilidade dos produtos no mercado local e pelo relato da utilização dos mesmos para
933 tratamento de mastite clínica durante o período de lactação nos rebanhos dos municípios
934 estudados e nas 12 propriedades que participaram da pesquisa.

935 5 a 10 dias após o parto, todos os animais foram amostrados novamente para avaliação
936 do tratamento. Todas as amostras colhidas (pré e pós-parto) foram mantidas em um freezer a -
937 20°C e posteriormente encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Clínica do Hospital
938 Veterinário da UFCG, em Patos-PB, para a realização das análises.

939 Quadro 1. Total de animais tratados entre 30 e 60 dias pré-parto com 3 antibióticos
 940 diferentes e grupo controle em Rondônia, 2011.

Tratamento	Produto	Período antes do Parto (dias)	Número de Novilhas	Número de Vacas	Total
T1	Cloxacilina	60	14	15	29
T2	Ceftiofur	30	4	6	10
T3	Espiramicina + neomicina	60	1	7	8
Controle	-	-	9	13	22
Total	-	-	28	41	69

941 T1= cloxacilina benzatina - Orbenin® extra dry cow (Laboratórios Pfizer Ltda); T2 =
 942 cloridrato de ceftiofur - Spectramast 1c (Laboratórios Pfizer Ltda); T3 = espiramicina +
 943 neomicina - Ememast ® vs (Merial Saúde Animal Ltda).

944

945 No laboratório, as amostras foram semeadas em meio ágar sangue ovino 5%
 946 (HIMEDIA – Mumbai – Índia) e ágar MacConkey (HIMEDIA – Mumbai – Índia) e
 947 incubadas a 37°C em aerobiose, sendo realizadas leituras com 24 a 72 horas de incubação.
 948 Nos micro-organismos isolados, foram realizados exames bacterioscópicos pelo método de
 949 Gram, submetidos às provas de identificação. As provas utilizadas foram: produção de
 950 catalase, coloração de Gram, coagulação de plasma de coelho, urease, indol; motilidade em
 951 ágar semissólido; esculina, acidificação de carboidratos; oxidação-fermentação em meio de
 952 Hugh e Leifson; produção de H₂S; crescimento em TSI, ágar citrato de Simmons, "teste de
 953 camp", VM/VP, oxidase. Os agentes etiológicos foram identificados com base no Manual of
 954 Clinical Microbiology (Murray et al., 1999).

955 Para avaliação da presença de resíduos de antibióticos no leite dos animais tratados 30
 956 a 60 dias antes do parto, foram coletadas amostras de leite de todos os quartos mamários (10
 957 ml) no período de 5 a 10 dias pós-parto em frascos estéreis, sendo encaminhadas ao
 958 laboratório sob refrigeração, onde foram utilizadas amostras únicas de 15 ml, compostas por
 959 partes iguais das quatro amostras coletadas de tetos individuais de cada um dos 47 animais.
 960 Para a realização das análises de detecção de resíduos de antimicrobianos, foi empregado um
 961 teste microbiológico comercial, Eclipse 50 (ZEU-Immunotec®; Zaragoza), para verificar a
 962 inibição do crescimento bacteriano, sendo utilizadas ampolas contendo meio de cultura sólido

963 com indicador de pH e *Bacillus stearothermophilus*, variedade calidolactis na forma
964 esporulada.

965 Para prevenir a ocorrência de resultados falso-positivos pela interferência de
966 substâncias antimicrobianas naturais do leite, todas as amostras foram aquecidas a 80°C por 5
967 minutos em banho-maria antes da execução dos testes para detecção de resíduos de
968 antibióticos (Raia 2001).

969

970

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

971 Para comparação das proporções entre os grupos e entre os períodos (pré e pós-parto), foi
972 utilizado o teste de qui-quadrado para amostras independentes e o teste de McNemar para
973 amostras relacionadas (Zar 1999). O nível de significância adotado foi de 5%, e as análises
974 foram realizadas com o programa MINITAB, versão 13.0.

975

976

RESULTADOS

977 No Quadro 2 estão apresentados os resultados da prevalência de infecções intramamárias
978 observadas nos grupos tratamento e controle. 57,89% (21,05% dos quartos) e 42,11%
979 (15,78% dos quartos mamários) das novilhas apresentaram IIMs no pré e no pós-parto,
980 respectivamente, não sendo essas diferenças estatisticamente significativas ($P>0,05$). Em
981 relação a novilhas do grupo controle, também não foram verificadas diferenças
982 estatisticamente significativas no número de animais e quartos infectados no pré e no pós-
983 parto ($P>0,05$).

984 Em vacas tratadas foi evidenciada uma redução de 71,42% para 28,57% no número
985 de animais com IIMs e de 37,27% para 10,91% no número de quartos infectados entre o pré e
986 o pós-parto, sendo essas diferenças estatisticamente significativas ($P<0,05$).

987 Em relação às vacas do grupo controle, foi evidenciado um aumento no percentual de
988 IIMs após o parto, tanto em animais quanto em quartos, em comparação com o grupo
989 tratamento no pós-parto, sendo este aumento de 28,57% para 84,61% em animais e de 10,91%
990 para 40,81% em quartos mamários. Essas diferenças foram estatisticamente significativas
991 ($P<0,05$ e $P<0,001$, respectivamente).

992

993

994

995

996 Quadro 2. Índice de prevalência de infecções intramamárias em novilhas e vacas dos grupos
 997 tratamento e controle - Rondônia, 2011.

	Grupo tratamento*				Grupo controle**			
	Pré parto	%	Pós parto	%	Pré parto	%	Pós parto	%
Novilhas com IIM	11	57,89	8	42,11	4	44,44	6	66,66
Quartos com IIM	16	21,05	12	15,78	8	22,85	7	19,44
Vacas com IIM	20	71,42	8	28,57	9	69,23	11	84,6
Quartos com IIM	41	37,27	12	10,91	16	33,33	20	40,81

998
 999
 1000
 1001

*Grupo tratamento: 19 novilhas (76 quartos); 28 vacas (110 quartos);
 **Grupo controle: 9 novilhas (35 quartos); 13 vacas (48 quartos).

1002 O Quadro 3 demonstra a distribuição dos micro-organismos isolados de novilhas no
 1003 pré e no pós-parto pertencentes ao grupo tratamento e ao grupo controle. Os resultados
 1004 observados no grupo tratamento no pré-parto evidenciaram a predominância de micro-
 1005 organismos do gênero *Staphylococcus ssp* em relação ao total de isolados (72,22%). Dentre
 1006 estes, *Staphylococcus* coagulase negativo – SCN foi responsável por 69,23% das IIMs, e
 1007 *Staphylococcus* coagulase positivo por 30,77%. *Corynebacterium bovis* foi observado em
 1008 27,78%.

1009 Em novilhas no pós-parto, 100% dos 12 micro-organismos isolados pertenciam ao
 1010 gênero *Staphylococcus spp*, e dentre esses 58,33% foram SCP e 41,67% foram espécies
 1011 coagulase negativo, particularmente *Staphylococcus hominis* (16,66%).

1012 Em relação ao grupo controle, em novilha (Quadro 3) também foi observada a
 1013 predominância de micro-organismos do gênero *Staphylococcus spp* (66,67%) no pré-parto,
 1014 sendo 66,67% coagulase positivo e 33,33% coagulase negativo. Foi observado também o
 1015 isolamento de *Corynebacterium bovis*, *Streptococcus* e *Micrococcus* (11,11%). No pós-parto,
 1016 dos 7 micro-organismos isolados, 85,71% foram *Staphylococcus spp* (66,67% *Staphylococcus*
 1017 coagulase negativo e 33,33% coagulase positivo).

1018 No Quadro 4 estão expressos os resultados da etiologia em vacas pertencentes ao
 1019 grupo tratamento, onde foi verificada uma predominância de *Staphylococcus spp* (50%) no
 1020 pré-parto, sendo 69,57% *Staphylococcus* coagulase negativo e 30,43% coagulase positivo.
 1021 *Corynebacterium bovis* foi isolado de 47,83% do total de micro-organismos. No pós-parto,
 1022 dos 12 micro-organismos isolados, 91,67% foram *Staphylococcus spp*, sendo 63,64% SCP e

1023 36,36% SCN. Também foi observado o isolamento de *Corynebacterium bovis* (8,33%). Foi
1024 verificada uma diminuição estatisticamente significativa no total de *Corynebacterium spp*
1025 total isolado de vacas do grupo tratamento entre o pré e o pós-parto, de 47,83% para 8,33%
1026 ($P<0,001$), bem como de *Staphylococcus* coagulase negativo em relação a *Staphylococcus spp*
1027 total, de 69,57% para 36,36% ($P=0,008$).

1028 Em relação ao grupo controle em vacas (Quadro 4) no pré-parto foi demonstrada a
1029 predominância de *Corynebacterium sp* (55,56%), sendo também isolado *Staphylococcus sp* de
1030 44,44% do total de micro-organismos, e destes 87,50% foram SCN e 12,50% SCP. No pós-
1031 parto foi verificada a predominância de *Staphylococcus spp* (52,38%). Destes, 90,91% foram
1032 SCN, particularmente *Staphylococcus simulans* (28,57%) e 9,09% foram SCP, sendo também
1033 isolado *Corynebacterium sp* (47,62%), observando-se uma diferença estatisticamente muito
1034 significativa ($P<0,001$) entre o número de *Corynebacterium spp* total isolado do grupo
1035 controle no pós-parto (47,62%) em relação ao grupo tratamento (8,33%).

1036 Quadro 3. Distribuição de micro-organismos isolados de 19 novilhas do grupo tratamento (76 quartos mamários) e 9 novilhas controle (35
1037 quartos) no pré e no pós-parto - Rondônia, 2011.

Agente etiológico	T1 (q = 56)		T2 (q =16)		T3 (q = 4)		Controle(q = 35)	
	pré-parto	pós-parto	pré-parto	pós-parto	pré-parto	pós-parto	pré-parto	pós-parto
<i>Corynebacterium bovis</i>	3 (21,43%)	0	2 (50%)	0	0	0	1 (11,11%)	1 (14,29%)
<i>Staphylococcus coag. Neg.</i>	1 (7,14%)	0	1 (25%)	0	0	0	1 (11,11%)	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	2 (14,29%)	0	0	0	0	0	1 (11,11%)	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	2 (14,29%)	1 (10%)	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus xylosum</i>	1 (7,14%)	1 (10%)	1 (25%)	0	0	0	0	2 (28,57%)
<i>Staphylococcus hycus</i>	1 (7,14%)	1 (10%)	0	0	0	0	1 (11,11%)	1 (14,29%)
<i>Staphylococcus lutrae</i>	1 (7,14%)	1 (10%)	0	0	0	0	0	1 (14,29%)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1 (7,14%)	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1 (7,14%)	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	2 (100%)	0	0	2 (22,22%)	0
<i>Staphylococcus kloosi</i>	0	0	0	0	0	0	0	1 (14,29%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 (7,14%)	1 (10%)	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0	2 (20%)	0	0	0	0	1 (11,11%)	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	2 (20%)	0	0	0	0	0	1 (14,29)
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	1 (10%)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus sp</i>	0	0	0	0	0	0	1 (11,11%)	0
<i>Micrococcus sp</i>	0	0	0	0	0	0	1 (11,11%)	0
Total	14 (100%)	10 (100%)	4 (100%)	2 (100%)	0	0	9 (100%)	7 (100%)

1038
1039 *Corynebacterium bovis* = 27,78% no pré-parto; *Staphylococcus sp* = 72,22% no pré-parto e 100% no pós-parto; *Staphylococcus* coagulase
1040 negativo (SCN) = 69,23% e 41,67%; *Staphylococcus* coagulase positivo (SCP) = 30,77% e 58,33% no pré e no pós-parto); T1 = Grupo
1041 tratamento 1 (600 mg de cloxacilina benzatina - Orbenin® Extra Dry Cow, Laboratórios Pfizer Ltda); T2 = Grupo tratamento 2 (125 mg de
1042 cloridrato de ceftiofur - Spectramast LC, Laboratórios Pfizer Ltda); T3 = Grupo Tratamento 3 (1.200.000 U.I de espiramicina e 100.000 U.I de
1043 neomicina - Ememast®VS, Merial Saúde Animal Ltda); q = número de quartos amostrados em cada grupo.

1044
1045

1046 Quadro 4. Distribuição dos micro-organismos isolados de 28 vacas do grupo tratamento (110 quartos mamários) e 13 vacas controle (48 quartos)
 1047 no pré e no pós-parto - Rondônia, 2011.

Agente etiológico	T1 (q = 58)		T2 (q = 24)		T3 (q = 28)		Controle (q = 48)	
	Pré-parto	Pós-parto	Pré-parto	Pós-parto	Pré-parto	Pós-parto	Pré-parto	Pós-parto
<i>Corynebacterium spp</i> total	14 (58,33%)	1 (20%)	2 (33,33%)	0	6 (37,50%)	0	10 (55,56%)	10 (47,62%)
<i>Corynebacterium bovis</i>	14 (58,33%)	1 (20%)	2 (33,33%)	0	6 (37,50%)	0	9 (50%)	7 (33,33%)
<i>Corynebacterium diftericum</i>	0	0	0	0	0	0	1 (5,56%)	1 (4,76%)
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	1 (4,76%)
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	1 (4,76%)
<i>Staphylococcus spp</i> total	10 (41,67%)	4 (80%)	4 (66,67%)	1 (100%)	9 (56,25%)	6 (100%)	8 (44,44%)	11(52,38%)
SCN total	8 (80%)	2 (50%)	4 (100%)	1 (100%)	4 (44,44%)	1 (16,66%)	7 (87,50%)	10 (90,90%)
<i>Staphylococcus coag. Neg.*</i>	4 (16,67%)	0	1 (16,67%)	0	3 (18,75%)	0	1 (5,56%)	0
<i>Staphylococcus simulans*</i>	3 (12,50%)	0	1 (16,67%)	0	0	0	4 (22,22%)	6 (28,57%)
<i>Staphylococcus schleiferi**</i>	1 (4,17%)	1 (20%)	0	0	0	1 (16,67%)	0	0
<i>Staphylococcus xylosus*</i>	0	2 (40%)	2 (33,33%)	1 (100%)	0	0	1 (5,56%)	1 (4,76%)
<i>Staphylococcus hycus**</i>	1 (4,17%)	0	0	0	0	0	0	1 (4,76%)
<i>Staphylococcus lutrae**</i>	0	0	0	0	1 (6,25%)	3 (50%)	1 (5,56%)	0
<i>Staphylococcus lugdunensis*</i>	0	0	0	0	0	0	0	1 (4,76%)
<i>Staphylococcus auricularis*</i>	0	0	0	0	1 (6,25%)	1 (16,67%)	0	0
<i>Staphylococcus aureus**</i>	0	1 (20%)	0	0	4 (25%)	1 (16,67%)	0	0
<i>Staphylococcus kloosi*</i>	1 (4,17%)	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus cohnii*</i>	0	0	0	0	0	0	1 (5,56%)	0
<i>Staphylococcus psifermentans*</i>	0	0	0	0	0	0	0	2 (9,52%)
<i>Streptococcus sp</i>	0	0	0	0	1 (6,25%)	0	0	0
Total	24	5	6	1	16	6	18	21

1048 **Staphylococcus* coagulase negativo; ***Staphylococcus* coagulase positivo.

O tratamento realizado em novilhas aos 60 dias antes do parto com cloxacilina (T1) e espiramicina em associação com neomicina (T2) e aos 30 dias pré-parto com cloridrato de ceftiofur (T3) resultou em uma taxa de cura bacteriológica de 100% em quartos com infecções intramamárias, não havendo diferença estatisticamente significativa quanto à eficácia entre os 3 diferentes tratamentos e o grupo controle, uma vez que neste grupo foi observada uma cura espontânea de 100% dos animais. A taxa média de novas infecções observadas em novilhas tratadas foi de 15,79%, e no grupo controle foi de 20% (Quadro 5).

Quadro 5. Índice de cura microbiológica e novas infecções em 76 quartos mamários (19 novilhas) tratados e 35 quartos (9 novilhas) controle - Rondônia, 2011.

Agente etiológico	T 1 (q = 56)		T2 (q = 16)		T3 (q = 4)		Controle (q = 35)	
	Cura	N.I	Cura	N.I	Cura	N.I	C.esp.	N.I
	%	%	%	%	%	%	%	%
<i>Corynebacterium bovis</i>	100	0	100	0	0	0	100	2,86
<i>Staphylococcus coag. neg.</i>	100	0	100	0	0	0	100	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	100	0	0	0	0	0	100	0
<i>Staphylococcus xylosus</i>	100	1,79	100	0	0	0	0	5,71
<i>Staphylococcus hycus</i>	100	1,79	0	0	0	0	100	2,86
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	100	1,79	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus lutrae</i>	0	1,79	0	0	0	0	0	2,86
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	1,79	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0	3,57	0	0	0	0	100	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	3,57	0	0	0	0	0	2,86
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	12,50	0	0	100	0
<i>Staphylococcus kloosi</i>	0	0	0	0	0	0	0	2,86
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	1,79	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus sp</i>	0	0	0	0	0	0	100	
<i>Micrococcus sp</i>	0	0	0	0	0	0	100	0
Total	100	17,86	100	12,50	0	0	100	20

q = número de quartos amostrados em cada grupo; cura = total de cura microbiológica/total de micro-organismos isolados em T1, T2, T3 e grupo controle (14/14, 4/4, 0/0 e 9/9); N.I (novas infecções) = número de novas IIMs / total de quartos tratados com T1, T2, T3 e grupo controle (10/56, 2/16, 0/4 e 7/35).

No Quadro 6 são demonstrados os resultados de cura e novas infecções observadas no pós-parto em vacas submetidas aos mesmos protocolos adotados em novilhas, onde foi verificada uma taxa de cura microbiológica de 100% (T1 e T2) e de 88% (T3), não ocorrendo diferença estatisticamente significativa entre os três tratamentos estudados. Entretanto, essas taxas foram superiores à taxa de cura espontânea observada no grupo controle (55,56%). Com relação à taxa de novas infecções, foi constatada uma diferença significativa ($P < 0,001$) entre os animais tratados (9,09%) e o grupo controle (27,08%).

Quadro 6. Índice de cura microbiológica e novas infecções em 110 quartos (28 vacas) do grupo tratamento e 48 quartos (13 vacas) do grupo controle - Rondônia, 2011.

Agente etiológico	T1 (q = 58)		T2 (q = 24)		T3 (q = 28)		Controle (q = 48)	
	Cura %	N.I %	Cur a %	N.I %	Cura %	N.I %	Cura %	N.I %
<i>Corynebacterium bovis</i>	100	1,72	100	0	100	0	66,67	8,33
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	2,08
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	2,08
<i>Staphylococcus coag. neg.</i>	100	0	100	0	100	0	100	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	100	0	100	0	0	0	25	6,25
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	100	1,72	0	0	0	3,57	0	0
<i>Staphylococcus xylosum</i>	0	3,45	0	4,17	0	0	0	0
<i>Staphylococcus hycus</i>	100	0	0	0	0	0	0	2,08
<i>Staphylococcus lutrae</i>	0	0	0	0	100	10,71	100	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1,72	0	0	75	0	0	0
<i>Staphylococcus kloosi</i>	100	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	2,08
<i>Staphylococcus cohnii</i>	0	0	0	0	0	0	100	0
<i>Streptococcus sp</i>	0	0	0	0	100	0	0	0
Total	100	8,62	100	4,17	88	14,29	55,56	27,08

q = número de quartos amostrados em cada grupo; cura = total de cura microbiológica/total de micro-organismos isolados em T1, T2, T3 e grupo controle (24/24, 6/6, 14/16 e 10/18); N.I = número de IIMs / total de quartos tratados com T1, T2, T3 e grupo controle (5/58, 1/24, 4/28 e 13/48).

No Quadro 7 são demonstrados os resultados do teste de resíduos de antibióticos em vacas e novilhas do grupo tratamento, sendo constatada a presença destes em 3,44% dos animais tratados com cloxacilina, 12,50% nos tratados com espiramicina associada à neomicina e 10% nos animais que receberam cloridrato de ceftiofur. Em relação ao total de animais avaliados, foi verificada a presença de resíduos de antibióticos em 6,38%.

Quadro 7. Resultado dos testes de resíduos de antimicrobianos em 47 amostras de leite de 19 novilhas e 28 vacas tratadas no período pré-parto - Rondônia, 2011.

Antibiótico	Período	Novilhas		Vacas		Total		
		ITC*	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
cloxacilina	60 dias		1	13	0	15	1 (3,44%)	28 (96,56%)
espiramicina								
+ neomicina	60 dias		1	0	0	7	1 (12,50%)	7 (87,50%)
ceftiofur	30 dias		1	3	0	6	1 (10%)	9 (90%)
Total			3	16	0	28	3 (6,38%)	44 (93,62%)

* intervalo entre o tratamento e a colheita das amostras após o parto.

DISCUSSÃO

Os índices de prevalência de infecções intramamárias observados neste estudo, tanto em novilhas quanto em vacas, demonstram a importância do período pré-parto e seco nessas duas categorias de animais quanto ao risco de ocorrência de mastite em um momento em que, via de regra, não recebem tratamento nem outras medidas de controle, diminuindo, conseqüentemente, a eficiência produtiva dos rebanhos leiteiros na região estudada.

A prevalência de IIMs em quartos mamários de novilhas foi baixa, seja no grupo tratado ou nos animais do grupo controle. No entanto, a ocorrência dessas infecções no início da vida produtiva contraria o conceito concebido por produtores e técnicos de que essa classe de animais é livre de IIMs.

Um índice de prevalência semelhante ao observado em vacas neste estudo foi verificado por Ocando et al. (2009), na Venezuela, ao estudarem 39 vacas no pré-parto, os quais observaram uma prevalência de 61,53% no momento da secagem. Bradley et al. (2011), em estudo realizado com 1.778 quartos mamários de 489 vacas na Inglaterra, observaram uma prevalência de IIMs em quartos no pré-parto superior à verificada no presente estudo (71,42%).

No Brasil Costa et al. (1996a), ao estudarem 120 novilhas holandesas e mestiças oriundas de diferentes propriedades leiteiras do estado de São Paulo, demonstraram um alto índice de infecções intramamárias (80%) no pré-parto quando comparado ao índice observado neste estudo.

Possivelmente, a baixa prevalência observada em quartos mamários de novilhas e vacas neste estudo em comparação aos índices observados por esses autores deve-se a uma maior resistência à mastite por parte dos animais avaliados neste experimento, em função do menor potencial produtivo da maioria dos animais estudados quando comparados a animais de alta produção. Sugere-se, ainda, que o fato de essas novilhas terem pouco acesso às instalações durante o período de pré-parto, principalmente ao ambiente de ordenha, tenha contribuído para essa baixa ocorrência de infecções intramamárias.

A maior ocorrência de espécies de *Staphylococcus* coagulase negativo na etiologia de IIMs em novilhas e vacas durante o pré-parto observada nesse estudo concorda com Fox et al. (1995) ao estudarem novilhas com idade entre 8 e 38 meses pertencentes a 28 rebanhos nos Estados Unidos, os quais verificaram uma predominância de SCN dentre os micro-organismos isolados (27,1%), sendo demonstrada a ocorrência de *Staphylococcus aureus* em menos de 3% das infecções. Costa et al. (1999b), ao examinarem 179 amostras de secreção mamária de 45 novilhas da raça holandesa coletadas no período pré-parto, observaram também uma maior ocorrência destes micro-organismos na etiologia das IIMs, seguidos por *Streptococcus sp.* (5,03%) e *Corynebacterium sp.* (2,23%).

Borm et al. (2006), em estudo realizado com 561 novilhas no pré-parto pertencentes a 9 propriedades nos EUA e no Canadá, verificaram uma predominância de SCN em 74,8% das infecções intramamárias. Outros micro-organismos, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* ambientais e coliformes, foram responsáveis por 24,5% das IIMs.

Petzer et al. (2009), em estudo realizado com vacas de alta produção leiteira na África do Sul, verificaram a prevalência destes patógenos como causa de infecções em amostras coletadas no pré-parto.

A maior ocorrência de espécies de *Staphylococcus* coagulase positivo (SCP), observada no grupo tratamento durante o pós-parto nas duas categorias de animais avaliados, pode estar associada a uma maior resistência deste aos antimicrobianos empregados neste experimento em comparação a micro-organismos de menor patogenicidade e virulência, como o *Corynebacterium sp* e o SCN, que apresentaram uma redução significativa em vacas e novilhas no pós-parto neste estudo. Além disso, possíveis falhas na higiene de ordenha no

início da lactação podem ter sido a causa de uma maior ocorrência de novas infecções por esses patógenos, principalmente por *Staphylococcus aureus*.

A alta taxa de cura microbiológica em novilhas e vacas do grupo tratamento e a menor incidência de novas infecções em relação aos animais do grupo controle no presente estudo demonstraram a importância da realização da terapia antimicrobiana para o controle das IIMs nos períodos avaliados, resultando, conseqüentemente, em uma melhoria da saúde da glândula mamária e, possivelmente, em um aumento da produção de leite.

Sugere-se, portanto, que esses resultados devam-se ao baixo uso de antimicrobianos nos rebanhos pesquisados, principalmente no que diz respeito ao tratamento da mastite, resultando provavelmente em alta sensibilidade dos patógenos tratados frente aos antibióticos utilizados neste estudo.

Uma taxa de cura de IIMs inferior (53,27%) foi observada em estudo semelhante realizado por Sampimom et al. (2009) com 392 novilhas leiteiras de 13 rebanhos na Holanda, utilizando-se cloxacilina no período de 8 a 10 semanas antes do parto. Borm et al. (2006) observaram uma taxa de cura de 79,9% em quartos de novilhas tratados de 10 a 21 dias antes do parto com uma cefalosporina de 1ª geração para vacas em lactação (200 mg de cefapirina sódica - cefa-lak), sendo verificada, a exemplo do nosso estudo, uma menor taxa de novas infecções (2,6%) nos animais tratados em relação aos não tratados (7,8%).

Em estudo realizado por Hallberg et al. (2006) com 431 vacas de 21 rebanhos nos Estados Unidos, também verificou-se uma taxa de cura microbiológica inferior à observada no presente estudo (65,3%) em 81 animais tratados com 125 mg de cloridrato de ceftiofur no momento da secagem e avaliados de 3 a 5 dias pós-parto.

No Brasil, um estudo realizado por Costa et al. (1996b) no estado de São Paulo demonstrou uma taxa de cura de 75% após tratamento de quartos mamários de 46 vacas com cloxacilina benzatina depois do parto e uma taxa de novas infecções de 12,50%. Shephard et al. (2004), avaliando a eficácia da terapia antimicrobiana no período seco em vacas com altas CCSs pertencentes a 8 rebanhos na Austrália, demonstraram uma taxa de cura de 80,3% após tratamento com cephalonium (cefalosporina de quarta geração) e 70,7% em animais tratados com cloxacilina.

No presente estudo, a taxa de cura espontânea observada em novilhas sem tratamento foi semelhante à cura microbiológica verificada nos animais tratados. Possivelmente esse resultado decorra de um baixo percentual de IIMs em quartos mamários, sendo esses microorganismos eliminados provavelmente durante o início da lactação pela rotina de ordenha,

corroborando Nickerson et al. (2009) e Costa et al. (2004), que relatam que o tratamento de infecções intramamárias em novilhas com terapia de vaca seca apresenta uma relação custo/benefício favorável apenas quando empregado em rebanhos com alta prevalência de mastite.

Os três tratamentos avaliados neste estudo resultaram em uma baixa persistência de resíduos de antibióticos no leite dos animais tratados. Entretanto, foram superiores aos resultados observados por Oliver et al. (1984) em estudo realizado com 186 vacas pertencentes a cinco rebanhos nos Estados Unidos, onde avaliou-se a persistência de resíduos de 5 diferentes antibióticos aprovados para vaca seca, sendo observada a ausência de resíduos no leite em 34 animais tratados com cloxacilina benzatina durante a secagem e avaliadas 4 dias após o parto. Oliver et al. (1992), avaliando 33 novilhas Jersey tratadas 7 dias antes do parto com cloxacilina e cefapirina sódica (produtos para lactação) e reexaminadas 7 dias após o parto, também constataram a ausência de resíduos no leite. No entanto, Raia et al. (2001) observaram uma persistência de resíduos após 65 dias em 28,3% das vacas tratadas no período seco com um antibiótico aminoglicosídeo (gentamicina) de ação semelhante à neomicina utilizada neste estudo e em 21,9% quando uma cefalosporina (cefalônio) foi utilizada, portanto superiores aos índices observados neste experimento.

Sugere-se com os nossos resultados que o tratamento 30 dias pré-parto com produtos de vacas em lactação e de 60 dias pré-parto com formulações específicas para vacas secas constitui uma alternativa viável para a remoção da maior parte das IIMs em novilhas e vacas nesses períodos, além de representar um intervalo de tempo seguro quanto à presença de resíduos no leite. Por outro lado, o tratamento com produtos de lactação nesse intervalo estudado pode resultar em uma baixa persistência do antibiótico na glândula mamária próximo ao parto, comprometendo a eficácia do produto frente às infecções intramamárias, como relatado por Oliver et al. (1992), sendo, portanto, a provável causa da ocorrência de 12,50% de novas infecções intramamárias por *Staphylococcus aureus* em novilhas tratadas com cloridrato de ceftiofur no pré-parto, conforme demonstrado no Quadro 5.

Portanto, o intervalo utilizado entre o tratamento pré-parto e a liberação do leite para o consumo humano sugerido neste estudo com produtos para vacas em lactação e para vacas secas mostra-se vantajoso quando se busca a ausência de substâncias antimicrobiana no leite, corroborando os resultados obtidos por Fagundes et al. (2004), que, em estudo realizado no estado de São Paulo com tratamento de novilhas no pré-parto, demonstraram que um período de tempo superior a 65 dias foi seguro para o consumo do leite desses animais.

CONCLUSÕES

A presença de infecções intramamárias em novilhas no período pré-parto e vacas secas, demonstrada no presente trabalho, aponta para a necessidade do controle destas através da antibioticoterapia, objetivando a minimização dos danos ao tecido secretor, a redução dos casos de mastite durante a lactação e o conseqüente aumento da produção leiteira.

Quanto à etiologia, foi observada uma maior ocorrência de micro-organismos do gênero *Staphylococcus spp* nos dois grupos avaliados, e dentre estes *Staphylococcus coagulase negativo* (SCN) predominou nos animais que receberam tratamento no período pré-parto. As infecções causadas por SCN e, principalmente, por *Corynebacterium bovis* apresentaram uma redução estatisticamente significativa no pós-parto, não sendo observado o mesmo com os animais do grupo controle. Os tratamentos realizados demonstram eficácia na promoção da cura microbiológica e prevenção de novas infecções nas duas classes de animais avaliadas. Foi observado um baixo percentual de resíduos de antimicrobianos no leite de animais tratados, revelando a segurança dos intervalos avaliados quanto à liberação do leite para consumo.

Esses dados justificam a realização da antibioticoterapia nos períodos avaliados para o tratamento da mastite, sobretudo em rebanhos com alta prevalência de IIMs, sendo fundamental a adoção de outras medidas complementares de manejo nos rebanhos leiteiros para o controle dessa doença, principalmente na região estudada, que carece de programas de controle de mastite.

REFERÊNCIAS

- Bhutto, A.L., Murray, R.D. & Woldehiwet, Z. 2011. The effect of dry cow therapy and internal teat-sealant on intra-mammary infections during subsequent lactation. *Res. Vet. Sci.* 90:316-320.
- Blowey, R. & Edmondson, P. Treatment and dry cow therapy. 2010, In: *Mastitis Control in Dairy Herds*, Cab. org. 2th ed. 194-218.
- Borm, A.A., Fox, L.K., Leslie, K.E., Hogan, J.S., Andrew, S.M., Mayes, K.M., Oliver, S.P., Schukken, Y.H., Hancock, D.D., Gaskins, C.T., Owens, W.E. & Norman, C. 2006. Effects of prepartum intramammary antibiotic therapy on udder health, milk, production, and reproductive performance in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 89:2090-2098.
- Bradley, A.J., Breen, J.E., Payne, B. & Green, M.J. 2011. A comparison of broad-spectrum and narrow-spectrum dry cow therapy used alone and in combination with a teat sealant. *J. Dairy Sci.* 94:692-704.
- Costa, E.O., Melville, P.A., Ribeiro, A.R., Watanabe, E.T., Viane, F.C. & White, C.R. 1996a. Prevalence of intramammary infections in primigravid Brazilian dairy heifers. *Prev. Vet. Medicine.* 29:151-155.
- Costa, E.O., Ribeiro, A.R., Watanabe, E.T., Sá, R., Silva, J.A., Garino JR, F. 1996b. Evaluation of dry cow treatment on bovine mastitis: Cure rate and New infection rate. *Proceedings IXX World Buiatrics Congress, Edinburgh.* 193-195.
- Costa, E.O., Raia, R.B., Garino JR, F., Watanabe, E.T., Ribeiro, A.R. & Groff, M.R. 1999a. Presença de resíduos de antibióticos no leite de pequena mistura de propriedades leiteiras. *Rev. Napgama, São Paulo.* 2:10-13.
- Costa, E.O., Melville, P.A., Ribeiro, A.R. & Watanabe, E.T. 1999b. Infecções intramamárias em novilhas primíparas no período pré ao pós parto e sua importância no controle de mastite. *Rev. Napgama, São Paulo.* 2:16-20.
- Costa, E.O., Raia, R., Watanabe, E.T., Garino JR, F., Coelho, V. 2000. 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 e tratados. *Rev. Napgama, São Paulo.* 3:14-17.
- Costa, E.O., Garino JR, F., Fagundes, H., Raia, R., Arcaro, J.P. & Mármore, C. 2004. Comparação do nível de ocorrência de infecções intramamárias em novilhas de primeira

- cria em duas propriedades leiteiras e avaliação do custo/benefício da antibioticoterapia. *Rev. Napgama, São Paulo.* 7:14-19.
- DeGraves, F. J. & Fetrow, J. 1993. Economics of mastitis and mastitis control. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 9:421-434.
- Dodd, F.H., Westgarth, D.R., Neave, F.K. & Kingwill, R.G. 1969. Mastitis – the strategy of control. *J. Dairy Sci.* 52:689-695.
- Erskine, R.J., Wagner, S. & Degraves, F.J. 2003. Mastitis therapy and pharmacology. *Vet. Clin. North. Am. Food Animl Pract.* 19:109-138.
- Fagundes, H; Garino JR, F. & Costa, E.O. 2004. Primigravid heifers pré-partum: efficacy and antimicrobial Milk residue risk. *Rev. Napgama, São Paulo.*7:6-12.
- Fox, L.K., Chester, S.T., Hallberg, J.W., Nickerson, S.C., Pankey, J.W. & Weaver, L.D. 1995. Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition. *J. Dairy Sci.* 78:1619-1628.
- Fox, L.K. 2009. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. *Vet. Microbiol.* 134:82-88.
- Hallberg, J.W., Wachowski, M., Moseley, W.M., Dame, K.J., Meyer, J. & Wood, S.L. 2006. Efficacy of intramammary infusion of ceftiofur hydrochloride at drying of for treatment and prevention of bovine mastitis during the nonlactating period. *Vet. Therapeutics.* 7:35-42.
- Hillerton, J.E., Halley, Ben, I., Neaves, p. & Rose, D.M. 1999. Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using delvotest microbial inhibitor tests. *J. Dairy Sci.* 82:704-711.
- IBGE, 2009. Produção de origem animal por tipo de produto. Acesso: www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=74&z=t&o=23&i=p. (capturado em 10 de jan. 2011).
- Mármore, C., Raia, R., Santos, F.G., Peres, A.A., Mota, R., Melville, P.A. & Costa, E.O. 2005. Influence on Yoghurt production of antibiotic residues and the clinical and subclinical mastitis natural inhibitors in milk. *Rev. Napgama, São Paulo.* 8:8-13.
- Meaney, W.J. 1981. Mastitis levels in spring-calving dairy heifers. *Irish Vet. Journal.* 35:205-209.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A.; Tenover, F.C. & Tenover, R.H. 1999. *Manual of Clinical Microbiology.* American Society for Microbiology. 7ed. Washington. D.C. 325-337.

- Nickerson, S.C. 2009. Control of heifer mastitis: Antimicrobial treatment-An overview. *Vet. Microbiol.* 134:128-135.
- Nickerson, S.C., Owens, W.E. & Boddie, R.L. 1995. Mastitis in Dairy Heifers: Initial Studies on Prevalence and Control in Symposium: Mastitis in Dairy Heifers. *J. Dairy Sci.* 78:1607-1618.
- Ocando, J.B., Neri, R.V., Bustos, A.O., Villalobos, A.S., Ramírez, D.P., Bracho, D.G., González, L.H. & Barrientos, M.P. 2009. Potential pathogen bacteria during the dry period in dual purpose cows with subclinical mastitis. *Rev. Científica, FCV-LUZ. Maracaibo.* 19:277-283.
- Oliver, S.P. & Mitchell, B.A. 1983. Intramammary infections in primigravid heifers near parturition. *J. Dairy Sci.* 66:1180-1183.
- Oliver, S.P., Duby, R.T., Prange, R.W. & Tritschler, J.P. 1984. Residues in colostrum following antibiotic dry cow therapy. *J. Dairy Sci.* 67:3081-3084.
- Oliver, S.P., Lewis, M.J., Gillespie, B.E. & Dowlen, H.H. 1992. Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early lactation. *J. Dairy Sci.* 75:406-414.
- Oliver, S.P. 2000. Mastitis in heifers: Prevalence, strategy for control during the periparturient period, and economic implications. *Proc. British Mastitis Conf. Shepton Mallet Institute for Animal Health/Milk Development Council.* 1-13.
- Oliver, S.P., Lewis, M.J., Gillespie, B.E., Dowlen, H.H., Jaenicke, E.C. & Roberts, R.K. 2003. Prepartum antibiotic treatment of heifers: Milk production, milk quality and economic benefit. *J. Dairy Sci.* 86:1187-1193.
- Owens, W.E., Nickerson, S.C., Boddie, R.L., Tomita, G.M. & Ray, C.H. 2001. Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. *J. Dairy Sci.* 84:814-817.
- Pankey, J.W., Drechsler, P.A. & Wildman, E.E. 1991. Mastitis prevalence in primigravid at parturition. *J. Dairy Sci.* 74:1550-1552.
- Petzer, I.M., Lourens, D.C., Van der Schans, T.J., Watermeyer, J.C., Van Reenen, R., Rautenbach, G.H. & Thompson, P. 2009. 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. *JS. Afr. Vet. Assoc.* 80:23-30.

- Raia JR, R.B. 2001. Influência da mastite na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite. Dissertação de Mestrado – Toxicologia e Análises toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 87p.
- Sampimon, O.C., De Vliegner, S., Barkema, H.W., Sol, J. & Lam, J.G.M. 2009. Effect of prepartum dry cow antibiotic treatment in dairy heifers on udder health and milk production. *J. Dairy Sci.* 92:4395-4403.
- Sears, P. 2008. Treating subclinical mastitis based on milk culture results in Michigan Dairy Review. Acesso: www.msu.edu/mdr/vol13no3/sears.html. (capturado em 16 mar. 2011).
- Shephard, R.W., Burman, S. & Marcun, P.A. 2004. Comparative Field Trial of cephalonium and cloxacillin for dry cow therapy for mastitis in Australian dairy cows. *Aust. Vet. Journal.* 82:624-629.
- Stalbelforth, A.W., Edwards, S.J. & Minett, F.C. 1935. Studies on bovine mastitis. *J. Comp. Path. Ther.* 48:300-315.
- Tenhagen, B.A., Hansen, I., Reinecke, A. & Heuwieser, W. 2009. Prevalence of pathogens in milk samples of dairy cows with clinical mastitis and in heifers at first parturition. *J. Dairy Res.* 76:179-187.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River: Prentice Hall. 4 th. ed. 663p.
- Ziv, G., Storper, M. & Saran, A. 1981. Comparative efficacy of three antibiotic products for the treatment and prevention of subclinical mastitis during the dry period. *Vet. Q.* 3:74-79.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Objetivo e política editorial

O objetivo da revista Pesquisa Veterinária Brasileira é contribuir, através da publicação dos resultados de pesquisa e sua disseminação, para a manutenção da saúde animal que depende, em grande parte, de conhecimentos sobre as medidas de profilaxia e controle veterinários. Com periodicidade mensal, a revista publica trabalhos originais e artigos de revisão de pesquisa no campo da patologia veterinária no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica e de interesse para a saúde pública. Apesar de não serem aceitas comunicações ("Short communications") sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve porém conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Os trabalhos, em 3 vias, escritos em português ou inglês, devem ser enviados, junto com disquete de arquivos (de preferência em Word 7.0), ao editor da revista Pesquisa Veterinária Brasileira, no endereço abaixo. Devem constituir-se de resultados ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, os editores, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Apresentação de manuscritos 1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, Abstract, Resumo, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões (ou combinações destes três últimos), Agradecimentos e Referências: a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; b) um Abstract, um resumo em inglês, deverá ser apresentado com os elementos constituintes observados nos artigos em português, publicados no último número da revista, ficando em branco apenas a paginação, e, no final, terá indicação dos index terms; c) o Resumo deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, dando os mais importantes resultados e conclusões; será seguida da indicação dos termos de indexação; nos trabalhos em inglês, Resumo e Abstract trocam de posição e de constituição (veja-se como exemplo sempre o último fascículo da revista); d) a Introdução deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho; e) em Material e Métodos devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores; f) em Resultados deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos; quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições; é conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos, ao invés de apresentá-los em quadros extensos;

g) na Discussão os resultados devem ser discutidos diante da literatura; não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los; h) as Conclusões devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho; i) os Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé; j) a lista de Referências, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando os nomes de todos os autores, o título de cada publicação e, por extenso ou abreviado, o nome da revista ou obra, usando as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT, Style Manual for Biological Journals (American Institute for Biological Sciences) e/ou Bibliographic Guide for Editors and Authors (American Chemical Society, Washington, D.C.).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as normas abaixo:

a) os trabalhos devem ser apresentados em uma só face do papel, em espaço duplo e com margens de, no mínimo, 2,5 cm; o texto será escrito corridamente; quadros serão feitos em folhas separadas, usando-se papel duplo ofício, se necessário, e anexados ao final do trabalho; as folhas, ordenadas em texto, legendas, quadros e figuras, serão numeradas seguidamente;

b) a redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados um pouco acima da linha de escrita, após a palavra ou frase que motivou a nota; essa numeração será contínua; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada; todos os quadros e todas as figuras serão mencionados no texto; estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes; Resumo e Abstract serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional do(s) autor(es);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita pelo acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos; todos os trabalhos citados terão suas referências completas incluídas na lista própria (Referências), inclusive os que tenham sido consultados indiretamente; no texto não se fará menção do trabalho que tenha servido somente como fonte; este esclarecimento será acrescentado apenas ao final das respectivas referências, na forma: "(Citado por Fulano 19...)"; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita, de preferência, no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es); nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará

apenas por vírgulas, exemplo: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b, Perreau et al. 1968, Hanson 1971); f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último fascículo da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos. 3. As figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior (cerca de 150%) do que aquele em que devam ser impressas, com todas as letras ou sinais bem proporcionados para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho desejado; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; cada figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; fotografias deverão ser apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em diapositivos (slides) coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope. 4. As legendas explicativas das figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis e serão apresentadas em folha separada que se iniciará com o título do trabalho. 5. Os quadros deverão ser explicativos por si mesmos; cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para agrupamento de colunas; não há traços verticais; os sinais de chamada serão alfabéticos, começando de a em cada quadro, e as notas serão lançadas logo abaixo do quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto, à esquerda.

Embrapa-CNPAB/PSA
Km 47 - Seropédica 23851-970
Rio de Janeiro RJ Brasil
Tel.: +55 21 2682-2940
Tel./Fax: +55 21 2682-1081

e-mail: colegio@cbpa.org.br