

DEOLINDA MARIA VIEIRA FILHA CARNEIRO

**EFEITO DO USO DE UM SELANTE INTERNO DE TETOS NA
PROFILAXIA DE NOVAS INFECÇÕES INTRAMAMÁRIAS DURANTE
O PERÍODO SECO E NO PÓS-PARTO**

LAGES, SANTA CATARINA

2006

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA**

DEOLINDA MARIA VIEIRA FILHA CARNEIRO

**EFEITO DO USO DE UM SELANTE INTERNO DE TETOS NA
PROFILAXIA DE NOVAS INFECÇÕES INTRAMAMÁRIAS DURANTE
O PERÍODO SECO E NO PÓS-PARTO**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

**Orientador:
Prof. Dr. Adil Knackfuss Vaz**

LAGES, SANTA CATARINA

2006

DEOLINDA MARIA VIEIRA FILHA CARNEIRO

**EFEITO DO USO DE UM SELANTE INTERNO DE TETOS NA
PROFILAXIA DE NOVAS INFECÇÕES INTRAMAMÁRIAS DURANTE
O PERÍODO SECO E NO PÓS-PARTO**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Banca Examinadora:

Orientador: _____
Prof. Dr. Adil Knackfuss Vaz
CAV – UDESC

Membro: _____
Prof. Dr. André Thaler Neto
CAV – UDESC

Membro: _____
Prof. Dr. Paulo Francisco Domingues
UNESP – Botucatu

Lages, 10 de fevereiro de 2006.

DEDICATÓRIA

Ao meu marido e amor, Elinton W. Carneiro.

Aos meus filhos amados, João Victor e Nicolas.

Aos meus pais, Zaul e Deolinda Vieira.

A todas as pessoas que acreditam na educação superior como fundamental aspecto da formação ética profissional e humana. E acreditam também na necessidade de atuação do professor através de palavras e exemplos, não apenas na formação técnica mas também moral de seus alunos.

“Ainda que eu fale a língua dos homens e dos anjos [...] e conheça todos os mistérios de toda a ciência [...]; se não tiver amor, nada serei.”

(I Coríntios, 13, 1-2.)

AGRADECIMENTOS

Aos cidadãos do Estado de Santa Catarina, cujos impostos permitem manter uma Universidade “pública e gratuita”.

Ao CAV – UDESC, por mais uma oportunidade oferecida, na realização deste curso.

Ao meu orientador, Adil K. Vaz, pela paciente sabedoria.

Ao meu marido, Elinton W. Carneiro, literalmente meu “braço direito” quando o gesso não me deixava trabalhar.

Aos professores, funcionários e alunos do CAV – UDESC, parceiros neste projeto.

Aos professores (Adil K. Vaz e Ubirajara Costa) e alunos bolsistas (Aline Luciano, Camila Wolff, Estela Costa, Mariana Sousa, Wagner Portes e William Dick) do Laboratório de Imunologia e Doenças Infecto-Contagiosas do CAV-UDESC pelo apoio, trabalho, colaboração e amizade.

Aos produtores, que gentilmente disponibilizaram suas propriedades e animais para a execução deste trabalho.

Aos colegas de mestrado, especialmente Fabíola N. Flores, Cristina Perito Cardoso e Karyna Giacomini, pelos doces momentos de amizade e companheirismo.

À Cristiano Nezi e Rubsom Rocha, pelo auxílio na análise estatística.

À Vera Maria V. Martins, pelas portas sempre abertas.

RESUMO

EFEITO DO USO DE UM SELANTE INTERNO DE TETOS NA PROFILAXIA DE NOVAS INFECÇÕES INTRAMAMÁRIAS DURANTE O PERÍODO SECO E NO PÓS-PARTO

Este é o primeiro estudo desenvolvido no Brasil para demonstrar a eficácia de um selante interno de tetos na proteção de quartos mamários contra infecções intramamárias (IIM). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de um selante interno de tetos à base de subnitrito de bismuto na profilaxia de novas IIM adquiridas durante o período seco, a taxa de cura neste período e o número de IIM durante as três primeiras semanas após o parto. Foram observados os efeitos deste selante interno de tetos quando usado isoladamente ou quando em associação com um antibiótico intramamário para vacas secas à base de gentamicina e compararam-se estes efeitos com os do mesmo antibiótico utilizado isoladamente. A seleção dos animais foi baseada no “California Mastitis Test” (CMT) e análise microbiológica de amostras de leite de cada quarto mamário. Foram analisados dois grupos: G1, quartos livres de IIM (n=215) e G2, com infecção intramamária (n=105). Foram coletadas amostras de leite de 320 quartos mamários (80 vacas, seis granjas leiteiras) em quatro ocasiões: sete dias antes da secagem, à secagem, oito e 21 dias pós-parto. Todas as amostras foram analisadas por CMT e cultura microbiológica. No momento da secagem, exatamente após a última ordenha, um quarto foi infundido com o selante interno de tetos (T1, n= 80 quartos), um quarto foi infundido com o antibiótico para vaca seca à base de gentamicina e o selante interno de tetos (T2, n= 80 quartos), e dois quartos ipsilaterais foram infundidos somente com o antibiótico (T3, n= 160). A análise estatística (Teste Exato de Fischer, $P>0,05$) indicou que não houve diferença entre a ocorrência de mastite clínica no pós-parto entre T1 (1,25%, 1 quarto), T2 (0%) ou T3 (1,8%, 3 quartos). Não houve ocorrência de mastite clínica durante o período seco e no pós-parto imediato. A análise dos dados do grupo G1 indicou não haver diferença estatística na incidência de novas IIM entre os três tratamentos aos oito dias pós-parto (T1=1,8%, 1 quarto; T2=0%; T3=1,85%, 2 quartos); bem como aos 21 dias pós-parto (T1=5,35%, 3 quartos; T2=1,96%, 1 quarto; T3=9,25%, 10 quartos). No grupo G2, também não houve diferença estatística na incidência de IIM entre os tratamentos aos oito dias pós-parto (T1=8,3%, 2 quartos; T2=3,4%, 1 quarto; T3=7,7%, 4 quartos); e nem aos 21 dias pós-parto (T1=16,6%, 4 quartos; T2=10,3%, 3 quartos; T3=19,2%, 10 quartos). A taxa de cura do G2 no período seco não foi significativamente diferente entre T1 (87,5%), T2 (93,1%) e T3 (90,4%). Estes dados indicam que não houve diferença significativa entre o uso de um antibiótico para vaca seca e o selante interno de tetos na incidência de infecções intramamárias, nas condições deste estudo. Também não houve benefício aparente na aplicação simultânea do selante e do antibiótico.

PALAVRAS-CHAVE: terapia em vaca seca, selante interno de tetos, infecção intramamária, mastite

ABSTRACT

PROPHYLAXIS OF NEW INTRAMAMMARY INFECTIONS DURING THE DRY AND EARLY LACTATION PERIODS BY THE USE OF AN INTERNAL TEAT SEALANT

This is the first controlled study to demonstrate the efficacy of an internal bismuth subnitrate teat sealant in protecting quarters against IMI, under Brazilian field conditions. The objectives of this study were to determine the efficacy of an internal dry period teat sealant containing bismuth subnitrate, when used alone or in association with a dry cow antibiotic (gentamicin), and in comparison with the infusion with the dry cow antibiotic alone. It was assessed the number of new intramammary infections (IMI) acquired during the dry period, the dry period cure rate and the number of IMI during the three first weeks after calving. Selection of animals was based on the California Mastitis Test (CMT) and bacteriological culture data. Two groups were analyzed: G1, free of IMI (n=215 quarters) and G2, not free of IMI (n=105 quarters). Milk samples were taken from 320 quarters (80 cows, six herds) on four occasions: seven days before dry off, at dry off, seven days after calving and 21 days after calving. All the samples were analyzed by the CMT and bacteriological culture. Immediately after the last milking, one quarter was infused with a teat sealant (T1, n= 80 quarters), one quarter was infused with teat sealant plus a dry cow therapy antibiotic (gentamicin) (T2, n=80), and two contralateral quarters were infused with gentamicin only (T3, n=160). Data analysis (Fischer's Exact Test) indicated that there was no statistical difference in the occurrence of post-calving clinical mastitis among T1 (0,43%, 1 quarter), T2 (0%) or T3 (1,3%, 3 quarters). There was no occurrence of clinical mastitis during the dry period. Analysis of the data in the group free of IMI at drying off showed no statistical differences in the incidence of new IMI in the three groups at 8 days after calving (T1=1,8%, 1 quarter; T2=0%; T3=1,85%, 2 quarters); and neither 21 days after calving (T1=5,35%, 3 quarters; T2=1,96%, 1 quarter; T3=9,25%, 10 quarters). In the group with IMI at dry off, there were no statistical differences in the incidence of IMI between the quarters at 7 days after calving (T1=8,3%, 2 quarters; T2=3,4%, 1 quarter; T3=7,7%, 4 quarters); neither 21 days after calving (T1=16,6%, 4 quarters; T2=10,3%, 3 quarters; T3=19,2%, 10 quarters). The dry period cure rate in the G2 group was not significantly different among T1 (87,5%), T2 (93,1%) and T3 (90,4%). These findings demonstrate that there were no significant differences between the use of a dry cow antibiotic or a teat sealant at dry-off on IMI, under the conditions of this study. Furthermore, there was no apparent benefit with the simultaneous application of the teat sealant and a dry cow antibiotic.

KEY WORDS: dry cow therapy, internal teat sealant, intramammary infection, mastitis

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Distribuição dos tratamentos no momento da secagem, considerando os Grupos I e II, número de quartos mamários conforme o resultado da cultura microbiológica e respectivos patógenos 46
- Tabela 2 – Distribuição do número de novas infecções intramamárias no GI (n=215), aos oito e 21 dias pós-parto, considerando o tratamento 47
- Tabela 3 – Número de infecções intramamárias que persistiram da lactação anterior e número de novas infecções intramamárias no GII (n=105), aos oito e 21 dias pós-parto..... 49
- Tabela 4 – Taxa de cura no Grupo II, conforme os tratamentos. 53
- Tabela 5 – Número de microrganismos resistentes à gentamicina, frente ao número total (n) de microrganismos isolados nas 320 amostras de leite, considerando a época da amostragem..... 56
- Tabela 6 – Resultado do “Califórnia Mastitis Test” (CMT) realizado a partir de 320 amostras de leite de fêmeas bovinas da raça Holandesa. Número de quartos (n^o) e porcentagem de quartos (%) frente ao total de amostras em cada coleta 59
- Tabela 7 – Resultado da análise microbiológica realizada a partir das 320 amostras de leite de fêmeas bovinas da raça Holandesa, coletadas durante o período do estudo..... 62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Infusão intramamária do selante interno de tetos	41
Figura 2 – Aspecto após a infusão intramamária do selante interno de tetos	41
Figura 3 – Selante interno de tetos localizado na base da cisterna do teto, 56 dias após a secagem. (imagem radiográfica)	44
Figura 4 – Selante interno de tetos localizado na base da cisterna do teto, em quartos ipsilaterais, 56 dias após a secagem. (imagem radiográfica)	45
Figura 5 – Grupos I e II - Número de novas infecções intramamárias nos Tratamentos I, II e III, observadas nos 320 quartos de glândula mamária avaliados durante o estudo.....	50
Figura 6 – Número de novas infecções intramamárias nos Tratamentos I, II e III, observadas nos 320 quartos de glândula mamária avaliados durante o estudo.....	51
Figura 7 – Porcentagem de quartos que apresentaram crescimento de microrganismos na análise microbiológica, aos oito e 21 dias pós-parto, entre as 320 amostras de leite coletadas.	62

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 MASTITE.....	14
2.2 MECANISMOS DE DEFESA DA GLÂNDULA MAMÁRIA.....	16
2.3 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	19
2.4 TERAPIA DA VACA SECA.....	20
2.5 IMPLICAÇÕES DO USO DA ANTIBIOTICOTERAPIA.....	22
2.6 SELANTES EXTERNOS DE TETOS	23
2.7 SELANTES INTERNOS DE TETOS	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 ESTUDO PRELIMINAR.....	36
3.2 LOCAL – PROPRIEDADES	36
3.3 ANIMAIS.....	37
3.4 EXAME DA GLÂNDULA MAMÁRIA E DO LEITE	37
3.5 PROCEDIMENTOS DE COLHEITA.....	38
3.6 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	39
3.6.1 Avaliação microbiológica	39
3.6.2 Teste de sensibilidade – antibiograma	40
3.7 TRATAMENTOS	40
3.8 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS UTILIZADOS NOS TRATAMENTOS... 42	
3.8.1 Produto A: Selante de tetos.....	42
3.8.2 Produto B: Antibiótico	43

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 ESTUDO PRELIMINAR.....	44
4.2 TRATAMENTOS	45
4.2.1 Distribuição dos tratamento à secagem	45
4.2.2 Avaliação do número de novas infecções intramamárias conforme os Tratamentos – T I, T II e T III e T III.....	46
4.3 TAXA DE CURA E AUTOCURA NO PERÍODO SECO.....	52
4.4 MASTITE CLÍNICA.....	54
4.5 GENTAMICINA	56
4.5.1 Resultado do antibiograma.....	56
4.5.2 Ação do antibiótico sobre os quartos não tratados	57
4.6 CMT.....	58
4.7 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	61
4.7.1 Resultados da análise microbiológica	61
4.7.2 Tampão de queratina e <i>Corynebacterium</i> spp.	63
5. CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

1. INTRODUÇÃO

A importância do período seco nos programas de manejo da saúde do úbere já foi bem documentada, assim como a epidemiologia das infecções intramamárias que ocorrem neste período (BRADLEY, GREEN e HUXLEY, 2002; DINGWELL et al., 2002; DINGWELL, KELTON e LESLIE, 2003; ERSKINE, 2003; GREEN et al., 2002; HILLERTON e BERRY, 2005; LESLIE e DINGWELL, 2003; NICKERSON et al., 1990; SMITH, TODHUNTER e SCHOENBERGER, 1985b; SORDILLO, SHAFERWEAVER e DEROSA, 1997; SORDILLO e STREICHER, 2002; TIMMS, 2004).

A transmissão de agentes patogênicos para a glândula mamária é muito comum no início e no final do período seco. Esta transmissão ocorre principalmente durante as três primeiras semanas deste período, e nos dez dias anteriores ao parto. Foi demonstrado que o canal do teto permanece aberto após a secagem por um período maior do que se acreditava (WILLIAMSON, WOOLFORD e DAY, 1995; LIM e LESLIE, 2002). Assim, seis semanas após a secagem, 24% das vacas ainda têm canais do teto abertos, facilitando a entrada de bactérias. O tratamento atualmente mais preconizado para tentar contornar este problema é o uso de antibióticos (GREEN et al., 2002; BERRY e HILLERTON, 2002a; HASSAN et al., 1999; LESLIE, 2004; SMITH, TODHUNTER

e SCHOENBERGER, 1985). Entretanto, o tratamento com antibióticos é eficaz no primeiro destes períodos, mas não alcança os dez dias anteriores ao parto (DINGWELL, KELTON e LESLIE, 2003). Além disso, o uso de antibióticos em animais sem infecção anterior pode estimular desnecessariamente a resistência bacteriana (HILLERTON e BERRY, 2005).

O selante interno de tetos (SIT) é aplicado em vacas leiteiras no momento da secagem, para selagem do canal do teto, em um mecanismo que mimetiza o mecanismo fisiológico de fechamento deste canal. O produto cria então um tampão, bloqueando o canal do teto e impedindo assim a entrada de microrganismos na glândula mamária durante o período seco, auxiliando o controle da mastite (O'ROURKE, 2005). Não se constitui em um tratamento de infecções pré-existentes, nem trata infecções novas. Sua ação é puramente mecânica, não tendo efeito terapêutico (O'ROURKE, 2005).

O SIT demonstrou fornecer uma alternativa segura para o uso de antibióticos na terapia da vaca seca. Quando usado isoladamente, o SIT tem demonstrado ser tão efetivo quanto um antibiótico de longa ação em controlar o nível de novas infecções durante o período seco. (BERRY e HILLERTON, 2002a e 2002b; HUXLEY et al., 2002).

Busca-se assim um tratamento alternativo ao uso de antibióticos, preconizando a profilaxia da mastite de uma maneira mais natural, evitando o uso desnecessário de antibióticos e o conseqüente desenvolvimento de resistência.

Considerando a profilaxia de infecções intramamárias durante o período seco e no pós-parto, destacam-se os objetivos deste estudo:

- Testar a eficácia de um selante interno de tetos;

- Comparar a eficácia de um selante interno de tetos quando utilizado isoladamente ou quando utilizado em associação com um antibiótico;

- Comparar a eficácia do selante usado isoladamente ou em associação a um antibiótico, com a eficácia do antibiótico quando utilizado isoladamente.

Dessa forma, este é o primeiro estudo desenvolvido no Brasil com o objetivo de investigar os efeitos de um selante interno de tetos.

Hipóteses:

O selante interno de tetos é tão eficaz na prevenção de novas infecções intramamárias durante o período seco e no pós-parto quanto um antibiótico.

O selante interno de tetos é tão eficaz na prevenção de novas infecções intramamárias durante o período seco e no pós-parto quando utilizado isoladamente como quando utilizado em associação com um antibiótico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MASTITE

A mastite continua sendo um dos maiores problemas encontrados pela indústria leiteira, sendo a doença mais importante do rebanho leiteiro sob o ponto de vista econômico (BRADLEY, 2002; CRAVEN, 1987), a despeito de todos os avanços tecnológicos no setor (BOOTH, 1997; FETROW et al., 2000).

A mastite é o processo inflamatório da glândula mamária que afeta, qualitativa e quantitativamente, a produção de leite. Observa-se um menor teor de lactose, caseína, gordura, cálcio e fósforo e um aumento nas imunoglobulinas, cloretos e lipases, sendo a última responsável pela rancificação do leite. Com estas alterações, o leite pode tornar-se impróprio para o consumo e para a produção de derivados (COSTA, 1998).

A mastite subclínica é considerada o tipo de mastite mais importante sob o ponto de vista econômico devido aos efeitos a longo prazo dos processos crônicos (OTT, 1999). Ela afeta de 10 a 15% do rebanho, produzindo aumento na Contagem de Células Somáticas (CCS), reduzindo a produção leiteira e, principalmente, reduzindo o valor nutritivo e monetário do leite (BARBANO, 2004). A prevalência deste tipo de infecção representa um significativo risco para os animais não infectados (HILLERTON e BERRY, 2005).

Em um levantamento realizado nos estados de São Paulo e Minas Gerais, o índice de mastite clínica foi de 17,45% e de 46% para a mastite subclínica. De todos os animais examinados, 72% apresentaram pelo menos um quarto afetado (COSTA et al., 1995).

Mais de 137 microrganismos (entre espécies, subespécies e sorovariedades) já foram identificados como agentes causais da mastite bovina, incluindo vírus, bactérias, micoplasmas, leveduras e algas (WATTS, 1988). Embora 20 a 30% das mastites sejam de etiologia desconhecida (WELLENBERG, VAN DER POEL e VAN ORSCHOT, 2002), acredita-se que geralmente estas sejam de origem bacteriana, tanto contagiosa quanto ambiental.

As formas contagiosas são causadas por organismos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus. agalactiae*, as quais são adaptadas à sobrevivência no úbere, causando principalmente infecções subclínicas (FOX et al., 1995; BRADLEY e GREEN, 2001). As formas ambientais são causadas por *Streptococcus uberis* ou enterobactérias como *Escherichia coli*, as quais não são bem adaptadas a sobreviver no úbere e então se multiplicam rapidamente, evocando uma resposta inflamatória rápida que as elimina (SMITH, TODHUNTER e SCHOENBERGER, 1985a e 1985b; BRADLEY, 2002). Estas podem infectar a glândula mamária através do solo, equipamentos de ordenha, instalações, entre outros (SANDOHOLM, KAARTNEN e PYORALA, 1990).

A introdução do “Plano dos Cinco Pontos” desenvolvido inicialmente no Reino Unido (SMITH et al., 1967), possibilitou algum sucesso no controle da mastite clínica e subclínica (BERRY, 2002; BERRY e HILLERTON, 2002a e 2002b). Este plano sugeria que o controle da doença poderia ser alcançado adotando-se cinco estratégias: 1.Rotina de manutenção das ordenhadeiras; 2.Desinfecção dos tetos

após a ordenha; 3.Rápida identificação e tratamento dos casos clínicos; 4.Rotina da secagem de todas as vacas com uso de antibióticos; 5.Exclusão das vacas cronicamente infectadas. A partir de então, obteve-se sucesso na redução da incidência da doença e da prevalência da infecção da glândula mamária, principalmente nos países mais desenvolvidos (HILLERTON e BERRY, 2005). A partir do estabelecimento deste manejo, iniciou-se uma mudança na etiologia das infecções intramamárias, com redução das mastites contagiosas através do uso da antibioticoterapia terapêutica e profilática. Um dos principais passos para este progresso foi o uso do tratamento profilático com antibióticos intramamários no final de cada lactação (HILLERTON e BERRY, 2005).

Alguns dados sugerem que a frequência de mastite por patógenos ambientais ou por patógenos menores como alguns estafilococos coagulase-negativos e *Corynebacterium bovis* está aumentando rapidamente. Infecções com *Streptococcus*, *Klebsiella*, e *Enterobacter* ocorrem mais freqüentemente no início do período seco, enquanto que infecções por *E. coli* tendem a ocorrer imediatamente antes ou após o parto (SMITH, TODHUNTER e SCHOENBERGER, 1985a e 1985b; SCHUKKEN et al., 1989; MYLLYS et al., 1998).

2.2 MECANISMOS DE DEFESA DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A defesa da glândula mamária bovina é mediada por uma variedade de mecanismos específicos e não-específicos que atuam sozinhos ou em conjunto para proteger o úbere de infecções. Com poucas exceções, os microrganismos geralmente penetram na glândula mamária através do canal do teto; as propriedades inerentes a este, que atuam no sentido de impedir a entrada destes microrganismos, constituem a vanguarda de defesa do úbere. Os microrganismos

que conseguem ultrapassar a barreira do teto são confrontados por sistemas humorais e celulares de defesa. A falha dos sistemas de defesa pré-existentes da glândula mamária normal em eliminar a infecção nos seus estágios iniciais é caracterizada por uma resposta inflamatória com conseqüente influxo de proteínas séricas e células inflamatórias. Na fase aguda, as células polimorfonucleares migram dos capilares para o sistema de ductos lácteos. Se a infecção não é debelada pela atividade fagocítica destas células, inicia-se o processo crônico de infecção (CRAVEN e WILLIAMS, 1985).

As últimas três décadas consolidaram a informação de que a glândula mamária está mais suscetível a infecções durante os 10 primeiros dias e as duas últimas semanas do período seco, e que a maioria das mastites clínicas no pós-parto resultam disto (BURTON et al., 2001; ERSKINE, 2003; NICKERSON et al., 1990; SORDILLO et al., 1997; TIMMS, 2004). Alguns fatores que afetam esta susceptibilidade é a produção leiteira no momento da secagem, rapidez da involução do úbere, condição e nível de contaminação dos tetos (DINGWELL et al., 2003a; LAEVENS et al., 1997; OLIVER e SORDILLO, 1988; SHELDRAKE, HOARE e MCGREGOR, 1983; WILLIANSON, WOOLFORD e DAY, 1995). Alguns autores descrevem ainda que as maiores razões para este aumento da susceptibilidade do período pré-parto incluem: a) o leite vai se acumulando em elevadas quantidades, levando à distensão do teto e do úbere, encurtando o teto e favorecendo a penetração de microrganismos. b) o leite é rico em sólidos, e sua retenção na glândula e sua temperatura fazem-no um grande incubador, e c) embora as células somáticas (imunidade local) estejam em níveis altos, estão ocupadas na fagocitose dos componentes do próprio leite e não estão eficientes na ação contra as bactérias (ERSKINE et al., 2004; NICKERSON et al., 1990; SORDILLO et al., 1997).

Constatou-se que novas infecções durante o período seco ocorrem em uma taxa 10 vezes maior que novas infecções durante a lactação. Entretanto, a mastite clínica é rara durante este período (CRISPIE et al., 2004); há então um alto risco de casos subclínicos que poderão se tornar clínicos após o parto (GREEN et al., 2002).

Estudos demonstraram que a glândula mamária é altamente suscetível a novas infecções durante as transições da lactação para a involução e desta, para a colostrogênese (BURTON e ERSKINE, 2003; DUTT, EBERHART e WILSON, 1986; NICKERSON, 1989; OLIVER e SORDILLO, 1988). Esta afirmação pode ser explicada pela relação citrato: lactoferrina que está elevada durante a colostrogênese, havendo uma maior quantidade de citrato que serve de substrato para o crescimento bacteriano; além disso, a capacidade fagocitária está deprimida devido à grande quantidade de gordura que inibe a ação dos leucócitos (FAGUNDES, 2003; BRADLEY e GREEN, 2004).

Em nível de quartos individuais, os principais fatores afetando a susceptibilidade da glândula mamária a infecções são as populações bacterianas presentes na extremidade do teto (OLIVER e SORDILLO, 1988) e a integridade desta extremidade quanto a lesões e hiperqueratose, assim como tempo de formação do tampão de queratina. Nas vacas secas, um tampão de queratina se forma naturalmente no canal do teto após a secagem, e este é o processo fisiológico através do qual o canal do teto permanece fechado durante o período seco e parece ser o maior mecanismo de defesa da glândula mamária contra infecções neste período (WILLIAMSON, WOOLFORD e DAY, 1995; ERSKINE, 2003; DINGWELL et al.; 2003b).

A taxa de formação do tampão de queratina nos tetos não tem sido extensivamente estudada. Em estudos histológicos usando fragmentos de tetos, a

formação dos tampões de queratina foi observada em torno do 16º dia após a secagem. Um destes estudos, realizado na Nova Zelândia, documentou a taxa de formação natural, e a influência do fechamento do canal em novas infecções intramamárias(IIM) (WILLIAMSON, WOOLFORD e DAY, 1995).

Há descrições de que a taxa de oclusão do canal do teto após a secagem varia grandemente de vaca para vaca, com 50% dos tetos permanecendo “abertos” 10 dias após a secagem (WILLIAMSON, WOOLFORD e DAY, 1995). No final de seis semanas, 23,4% dos tetos ainda estão abertos (LIM e LESLIE, 2002), o que pode levar a um aumento de novas infecções, com 97% das mastites clínicas no período seco ocorrendo nos quartos abertos (WILLIAMSON, WOOLFORD e DAY, 1995).

Outros estudos sob a involução do canal do teto (COMALLI et al., 1984) indicaram que o canal se fechou por uma massa sólida de queratina ao redor de 30 dias ou mais, embora isto tenha ocorrido já aos 16 dias em alguns animais. Neste mesmo estudo, colônias bacterianas foram observadas aderidas à massa de queratina em alguns tetos, confirmando a função de proteção do tampão. Alguns autores afirmam que o tampão de queratina não consiste exclusivamente em uma barreira física, mas que a presença de ácidos graxos esterificados e não esterificados na queratina é fator inibitório para o crescimento de bactérias (HOGAN, PANKEY e DUTHIE, 1987; HOGAN et al., 1988).

2.3 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Ao pensar na seleção de tratamentos ou medidas preventivas para as infecções intramamárias no período seco, deve-se partir da formação do quadro

epidemiológico da propriedade, reunindo a maior quantidade possível de dados disponíveis, compondo assim um quadro de evidências que possa auxiliar na seleção do produto a ser utilizado (THURMOND, 1993). A contagem de células somáticas (CCS) do tanque de expansão da propriedade pode fornecer informações quanto à ocorrência de mastite subclínica, enquanto os sintomas característicos de mastite clínica são indicadores da sua ocorrência. É importante conhecer os patógenos envolvidos em mastites subclínicas na propriedade (RUEGG, 2003). Amostragens de casos clínicos no início da lactação darão um indicador da causa de novas IIM durante o período seco, e amostragens de casos de recidivas no final da lactação são úteis para indicar quais patógenos podem estar envolvidos nas infecções subclínicas na secagem (THURMOND, 1993).

O “California Mastitis Test” (CMT) é um dos testes mais correntemente utilizados para triagem dos animais com mastite subclínica. É um procedimento prático, de fácil execução e o resultado é rápido, além de apresentar um baixo custo (DINGWELL et al., 2003b; MARSHALL, EDMONDSON e STEVENS, 1993).

Ainda que a terapia da vaca seca seletiva possa ser utilizada, e sejam selecionadas somente as vacas que apresentem IIM no momento da secagem (SCHUKKEN, VANVLIET e VANDEGEER, 1993; RINDISING, RODEWALD e SMITH, 1978), deve-se considerar o risco de novas infecções durante o período seco (PÿORÄLA, 2002). Com este objetivo, o selante de tetos (ST) fornece uma medida auxiliar atrativa tanto para a terapia da vaca seca padrão ou seletiva.

2.4 TERAPIA DA VACA SECA

As infecções do período seco podem persistir da última lactação ou podem ser conseqüência de infecções adquiridas durante o próprio período seco. Além

disso, novas infecções durante o período seco ocorrem em uma taxa 10 vezes maior que novas infecções durante a lactação (CRAVEN e WILLIAMS, 1985), e embora a mastite clínica seja rara durante o período seco, há um alto risco de casos subclínicos tornarem-se clínicos após o parto (GREEN et al., 2002).

A terapia da vaca seca é preconizada por vários autores, como Parkinson, Vermunt e Merral (2000), que verificaram uma eficiência de 100% na prevenção das infecções durante o período seco ao utilizarem três tipos de antibióticos administrados em 493 vacas.

Muitas investigações têm demonstrado que a incidência de novas infecções intramamárias (IIM) aumenta quando vacas secas não infectadas deixam de ser tratadas. Isto demonstra que o tratamento com antibióticos é necessário durante o período seco, exceto que novas alternativas sejam desenvolvidas (BERRY, 2002; BERRY e HILLERTON, 2002a; RUEGG, 2005).

Com o uso de antibióticos na terapia da vaca seca, o objetivo é alcançar altas concentrações de antibiótico no úbere, resultando em uma rápida eliminação de patógenos existentes, seguido por um período prolongado de liberação do antibiótico para prevenir novas IIM (GREEN et al., 2002). As formulações para vacas secas, usando doses mais elevadas de antibióticos em meios mais oleosos ou em veículos de depósito, são projetados para a produção de intervalos prolongados de concentrações antibióticas efetivas (SMITH e HOGAN, 1993).

A função primária da terapia da vaca seca era o tratamento de IIM existentes, entretanto mais recentemente passou a ser a prevenção de novas IIM (HASSAN et al., 1999; BERRY e HILLERTON, 2002a e 2002b; LESLIE, 2004), assim como cresceu a preocupação quanto ao desenvolvimento de estratégias mais voltadas para a prevenção das IIM adquiridas no pré-parto, período em que esta terapia não

tem se mostrado eficaz. Como os antibióticos atualmente disponíveis para uso em vacas secas não persistem completamente por todo o período seco (DINGWELL, KELTON e LESLIE, 2003), a terapia com antibióticos à secagem não é efetiva na prevenção de novas IIM que ocorrem próximo ao parto; e tratamentos múltiplos de antibióticos para vacas não-lactantes durante o período seco não aumentam a efetividade do tratamento (NICKERSON, 1998).

O manejo estratégico de secagem precisa considerar os riscos de infecção durante todo o período desde a última ordenha de uma lactação à primeira da próxima lactação (SMITH, TODHUNTER e SCHOENBERGER, 1985a e 1985b; SCHUKKEN et al., 1989; MYLLYS et al., 1998). O efeito da antibioticoterapia pode ser notado somente no início do período seco (SMITH, TODHUNTER e SCHOENBERGER, 1985a). Baseado neste conhecimento há a necessidade do desenvolvimento de manejos estratégicos para garantir proteção para o úbere durante o período pré-parto.

2.5 IMPLICAÇÕES DO USO DA ANTIBIOTICOTERAPIA

Embora altamente efetiva, apesar de não alcançar o final do período seco com a concentração inibitória mínima (BRADLEY e GREEN, 2004), a antibioticoterapia da vaca seca tem ainda algumas desvantagens, como a presença de resíduos no leite na ocasião do parto das vacas tratadas (CRAVEN, 1987; COELHO, 2003; FAGUNDES, 2003). Adicionalmente, há muita inquietação sobre o uso excessivo e indiscriminado de antibióticos, e como isto pode contribuir para o aumento alarmante da resistência aos antibióticos que muitos organismos têm desenvolvido (CRISPIE et al., 2004; HILLERTON e BERRY, 2005), embora muitos autores discordem deste fato (ERSKINE et al., 2004; MACKIE et al., 1988;

MAKOVEC e RUEGG, 2003).

Resíduos de antibióticos têm uma influência sobre as propriedades tecnológicas do leite usado para a fabricação de derivados lácteos, além de serem tóxica ou imunologicamente significantes para o consumidor (SCHÄELLIBAUM, 2000). A era do aumento da consciência do consumidor, e também da alimentação segura, instiga a busca na redução do uso de antibióticos na cadeia alimentar, particularmente o uso profilático.

Limitar o tratamento às vacas infectadas ou aos quartos infectados (terapia seletiva da vaca seca), é um dos métodos através dos quais o uso de antibióticos tem sido reduzido (BROWNING et al., 1990). Alguns pesquisadores afirmam que a taxa de cura obtida com o uso de antibióticos na terapia da vaca seca é alta (BRADLEY e GREEN, 2004), e que este continua sendo a melhor alternativa até que outras surjam.

Além da eliminação dos fatores predisponentes que causam mastite, o uso de antibióticos para a prevenção e tratamento de infecções intramamárias é a maior ferramenta para o controle da doença (SCHÄELLIBAUM, 2000). O vasto e nem sempre controlado e justificado uso de antibióticos para tratamento intramamário ou parenteral aumenta os riscos de ocorrência de resíduos no leite (SCHÄELLIBAUM, 2000). Estes fatos levam à conclusão da necessidade de uma reavaliação dos tratamentos utilizados e da essencialidade do desenvolvimento de novas alternativas para a profilaxia de novas infecções intramamárias no período seco.

2.6 SELANTES EXTERNOS DE TETOS

Alguns autores indicam o uso de selantes externos de tetos na redução de

novas infecções intramamárias no período seco (TIMMS, 1997 e 2000; LESLIE et al., 1999; LIM et al., 2000). Quando aplicados, estes produtos atuam formando um envoltório de látex, acrílico ou outro filme baseado em polímeros, que recobre o teto evitando a penetração de bactérias no canal do teto. Timms (1997) descreve que um produto persistiu por mais de 3 dias em 98% dos tetos e que a reaplicação periódica implicaria na redução de 68% de novas infecções intramamárias ao parto. Acuña et al. (2005c) descreve um estudo com uso de selante externo com sucesso na prevenção de novas IIM no período seco e pós-parto em novilhas.

Entretanto, os selantes externos de tetos já demonstraram não ser efetivos como um tratamento a longo período (LESLIE et al., 1999; HEMLING et al., 2000). Um estudo conduzido por Corbellini et al. (2002) comparou a incidência de novas IIM em vacas tratadas com um selante externo e um grupo controle. Os autores concluíram que o selante externo foi eficiente na prevenção de mastites ambientais, mas não das contagiosas. Além disso, os autores citam que a persistência do produto nos dias 4 e 5 após a colocação foi de 50%, havendo a necessidade da reaplicação, o que poderia inviabilizar o manejo (CORBELLINI et al., 2002). Estes dados concordam com as afirmações de outros autores, de que o produto tem uma durabilidade limitada e requer reaplicações (ACUÑA, 2005a; HEMLING, 2000; TIMMS, 1997).

Um dos maiores aspectos considerados nos selantes externos é a sua capacidade de aderência. Foram observados vários tempos de aderência, e a partir de 24 horas da aplicação, 42% dos quartos apresentaram evidências de descamação do selante (FARNSWORTH, WYMAN e HAWKINSON, 1980; MATTHEWS et al., 1988). Estudos dos fatores de risco afetando a aderência foram descritos recentemente (CREASEY et al., 2002; LIM et al., 2000). Estudos

preliminares demonstraram que alterações anatômicas e lesões no teto podem afetar a aderência dos selantes externos (LESLIE et al., 1999). Mas é justamente no trabalho extra gerado pela necessidade de freqüentes reaplicações que os selantes externos têm seu uso limitado. Estudos realizados na Nova Zelândia e na Austrália recomendam seu uso e justificam a necessidade de reaplicação como um benefício para um maior acompanhamento e controle das vacas secas, embora isto não seja prático ou econômico a nível de campo (HASSAN et al., 1999; WOOLFORD et al., 1998)

Pesquisas sobre produtos de látex demonstraram que o número de novas IIM no parto, em quartos que foram imersos em um produto germicida contendo látex, foi semelhante ao dos controles onde não se fazia a imersão, sugerindo não haver qualquer benefício na imersão dos tetos antes do parto; fato também constatado na imersão dos tetos em produtos de látex durante os primeiros e os últimos sete dias do período seco (PHILPOT e NICKERSON, 2002).

Acuña et al. (2005a, 2005c) descreve algumas desvantagens no seu uso, como os erros de aplicação por falhas do pessoal encarregado da tarefa, assim como leve ressecamento dos tetos nos períodos quentes e secos. Afirma persistirem as vantagens na redução do risco de mastites causadas por patógenos ambientais (*Streptococcus uberis* e coliformes) no final do período seco e início da lactação, desde que haja a reaplicação a cada três dias.

Ao comparar os selantes externos aos internos, alguns autores afirmam que ambos os tipos de selantes parecem prover substancial benefício quando adequadamente usados, e são uma boa alternativa no controle da mastite em vacas secas. Os selantes diferem na forma física, método de aplicação, custo e fatores de risco associados com o uso inadequado (BATHINA, JANOWICZ e HEMLING, 2004)

2.7 SELANTES INTERNOS DE TETOS

Os selantes internos formulados com subnitrato de bismuto foram primeiramente testados na Irlanda, em 1976 (MEANEY, 1976 e 1977), com objetivo de reduzir as IIM no período seco. Mais recentemente, produtos semelhantes vêm sido testados em todo o mundo (ACUÑA et al., 2005b; BERRY e HILLERTON, 2002a e 2002b ; COOK et al., 2004; DINGWELL et al., 2003a; HUXLEY et al., 2002; GODDEN et al., 2003; SANFORD et al., 2004; O'ROURKE, 2005; WOOLFORD et al., 1998)

O selante interno de tetos (SIT) consiste em um sal inorgânico pesado (subnitrato de bismuto) em uma base de parafina (DINGWELL, KELTON e LESLIE, 2003). Os selantes internos são compostos inertes, e o bismuto já é correntemente utilizado em muitos processos industriais, farmacêuticos e cosméticos (EMEA, 1999); atuam evitando o acesso físico das bactérias ambientais aos tetos das vacas durante o período seco, mimetizando a defesa natural do tampão de queratina. Quando infundidos assepticamente logo após a última ordenha, bloqueiam imediatamente o canal do teto por se infiltrar nas fissuras do canal e da cisterna do teto, mantendo-o fechado por todo o período seco (O'ROURKE, 2005).

Vários estudos recentes comprovam que o selante interno de tetos é eficaz na prevenção de novas IIM durante o período seco e de mastite clínica durante a lactação seguinte (WOOLFORD et al., 1998; HUXLEY et al., 2002; HUXLEY, GREEN e BRADLEY, 2004; SANFORD et al., 2004b e 2004c; COOK et al., 2004).

Em alguns estudos, o selante de tetos demonstrou obter sucesso em prevenir novas infecções durante o período seco tanto em desafios experimentais quanto em exposições naturais em vacas com baixa contagem de células somáticas (MEANEY, 1977; WOOLFORD et al., 1998; HUXLEY et al., 2002), ou com elevada CCS

(BERRY e HILLERTON, 2002b).

Outros pesquisadores comprovaram que o efeito do uso de um selante interno de tetos associado com um antibiótico de rotina na terapia da vaca seca, teve um melhor efeito na redução de novas infecções intramamárias no período seco quando comparado ao uso exclusivo de antibiótico (GODDEN et al., 2003; ACUÑA et al., 2005c).

O selante de tetos (SIT) persiste na cisterna do canal do teto em quantidades variáveis até o final do período seco (pelo menos 100 dias) (WOOLFORD et al., 1998). O material do SIT é visível em todos os quartos tratados, após o parto, com flocos persistindo por até três semanas em alguns quartos (BERRY e HILLERTON, 2002b), e é removido pela sucção dos bezerros ou na ordenha manual. Embora alguns bezerros possam ter dificuldades em sugar os tetos tratados, o produto passa pelo aparelho digestório dos mesmos sem problemas. Pequenos flocos do material não chegam a alcançar o tanque de leite se houver filtro (WILLIAMSON, 2001). Após passar pelo filtro, o nível de bismuto no tanque tem sido descrito em 10 partes por milhão no primeiro dia da lactação, declinando para menos de uma parte por milhão no 5º dia (WOOLFORD et al., 1998). O material residual não causa nenhum problema às ordenhadeiras. Para minimizar o material residual no leite, os autores recomendam ordenhar todos os quartos das vacas recém-paridas para retirar o selante (usando luvas) e reter o colostro pelas habituais 96 horas (8 ordenhas).

Na Nova Zelândia, uma versão do selante foi testada para avaliar sua habilidade em prevenir o desenvolvimento de novas IIM durante o período seco e de mastite clínica durante a lactação seguinte (WOOLFORD et al., 1998). Quatro semanas antes da secagem, as vacas foram avaliadas com base na contagem de células somáticas (CCS) e bacteriologia. Foram selecionadas para o experimento

somente as vacas com uma CCS <200,000 células/ml e com pelo menos três quartos livres de infecção, resultando num total de 528 vacas. Foi estabelecido um delineamento estatístico em que a taxa de novas IIM foi comparada entre os quartos adjacentes de cada vaca. Isto assegurou que os tratamentos fossem avaliados em cada vaca selecionada para o estudo. Os quartos foram tratados na secagem com um dos seguintes tratamentos: 505 quartos com o selante de tetos (SIT); 505 quartos com o SIT e antibiótico (cloxacilina 600mg), 528 quartos com antibiótico (Cefalônio 250mg), e 528 quartos como controle não tratado. Em comparação ao grupo controle, os três grupos testados apresentaram uma considerável redução em novas IIM durante o período seco e no pós-parto. Os pesquisadores constataram neste estudo que a infusão de um antibiótico juntamente ao selante não representou uma redução maior nas novas IIM; os quartos tratados com antibiótico tiveram aproximadamente o mesmo nível de infecção no período seco e no pós-parto em comparação aos outros dois tratamentos. A incidência de novas mastites clínicas nos primeiros dois meses de lactação foi similar nos três grupos tratados. É importante destacar que o selante permaneceu no teto por mais de 100 dias no período seco e foi particularmente efetivo em reduzir a incidência de infecção causada por *Streptococcus uberis*, o agente causador de mastite predominante na Nova Zelândia (WOOLFORD et al., 1998). Assim, os autores concluíram que o selante de tetos era tão efetivo quanto um antibiótico de longa ação em prevenir a mastite tanto durante o período seco como durante os primeiros 60 dias da lactação.

Em um estudo similar, realizado no Reino Unido, Huxley et al. (2002), compararam um antibiótico para vacas secas contendo cefalosporina com um selante de tetos. As vacas escolhidas para este estudo não apresentavam nenhum sinal de doença clínica, tinham todos os quartos funcionais, estavam livres de

qualquer tratamento com antibióticos e antiinflamatórios por pelo menos 30 dias, apresentavam um nível de CCS de 200 células/ml e apresentavam histórico de serem livres de mastite clínica na lactação precedente. Usando este critério, 605 vacas foram selecionadas para o estudo: destas, 252 foram infundidas com o SIT e 253 com uma preparação de antibiótico de longa-ação (Cefalônio 250mg). Os resultados demonstraram que os quartos tratados com o SIT adquiriram significativamente menos IIM causadas por *E. coli*, por todas as enterobactérias e por patógenos maiores, combinados por durante todo o período seco. Apesar do número significativamente maior de novas IIM adquiridas pelas vacas tratadas com o antibiótico, não houve aumento significativo no desenvolvimento de mastite clínica nestes quartos nos 100 primeiros dias de lactação. Os autores concluíram que, sob as condições do Reino Unido, o selante interno de tetos provou ser tão efetivo quanto um antibiótico, realçando novamente o potencial desta nova terapia como uma alternativa efetiva para o tratamento com antibióticos.

Em outro estudo, a eficácia do SIT em prevenir infecção em um desafio artificial com *Streptococcus dysgalactiae* foi avaliado por Meaney et al. (dados não publicados; apud CRISPIE et al., 2004). Neste estudo, 62 quartos livres de infecção em 17 vacas leiteiras foram selecionados na secagem. Após a última ordenha da lactação, 31 quartos foram infundidos com um ST e os restantes 31 foram usados como controles não tratados. Três dias após a infusão, todos os tetos foram inoculados com 1.200 ufc (unidades formadoras de colônias) de *Streptococcus dysgalactiae* dentro do canal do teto em uma profundidade de 17mm. As vacas foram então observadas nos próximos sete dias para sinais clínicos de mastite. Durante este período, 20 casos de mastite clínica se desenvolveram nos quartos não tratados e oito nos quartos infundidos com o selante. Adicionalmente, as novas

infecções apareceram mais rapidamente nos quartos não tratados do que naqueles infundidos com o selante. Estes dados indicam que o SIT provê proteção significativa contra um desafio artificial com *Streptococcus dysgalactiae*, apoiando os estudos com desafio natural (WOOLFORD et al., 1998; HUXLEY et al., 2002).

Cook et al. (2004), conduziram um experimento utilizando um selante interno de tetos, analisando seu efeito quando utilizado em associação a um antibiótico intramamário, em comparação ao uso exclusivo do mesmo antibiótico, em um total de 608 vacas. O resultado obtido com o uso do selante foi positivo, pois o índice de redução de novas IIM foi de 59% e 62% em duas propriedades. As taxas de mastite clínica foram menores no grupo em que o SIT foi utilizado, em comparação ao grupo antibiótico. Os autores observaram ainda que a CCS não diferiu entre os dois grupos na secagem, entretanto, houve 25% de redução da CCS no grupo com o selante interno.

Um experimento conduzido na Argentina por Acuña et al. (2005b), dividido em três estudos, obteve resultados semelhantes aos anteriormente citados. Em um primeiro estudo, três grupos de vacas holandesas foram avaliados, um com aplicação de um selante interno a base de subnitrito de bismuto associado a um antibiótico para vaca seca (GTR, n=6), o grupo controle recebeu somente o antibiótico (GC, n=10) e o grupo testemunha não recebeu nenhum tratamento (GTE, n=9). A redução de novas IIM para patógenos maiores (*Streptococcus uberis* e bactérias coliformes) foi de 16,7% para GTR versus GC, e de 24,7% para GTR versus GTE. Em um segundo estudo, foram utilizadas 56 vacas saudáveis, sem histórico de mastite, com um número de lactações menor que 3 e resultado de cultura microbiológica negativa. O 1º grupo (GTR, n=112 quartos) foi tratado com um selante interno de tetos associado a um antibiótico intramamário para vaca seca,

enquanto o 2º grupo (GC, n=112 quartos) recebeu somente o antibiótico. Os resultados de GTR vs. GC foi para *Staphylococcus aureus* 11.54% vs. 29.46% , para bactérias coliformes 16.07 % vs. 33.03 %, e para *Staphylococcus* coagulase negativa 6.7 % vs. 18.75 %. No terceiro estudo, estes autores avaliaram a incidência de mastite clínica aos 4, 7, 30 e 100 dias de lactação; os resultados foram: 7.41 % vs. 8.44 %; 11.11 % vs. 13.64 %; 14.81 % vs. 19.81 %; 23.07 % vs. 30.52 %, para o GTR (n=54) vs. o GC (n = 616), respectivamente. Estes estudos demonstram que o uso de selante interno em associação a um antibiótico intramamário para vacas secas reduz as novas IIM durante o período seco e a incidência de mastite clínica na lactação seguinte.

Nos estudos descritos acima, o SIT demonstrou obter sucesso em prevenir novas infecções durante o período seco tanto em desafios experimentais quanto em exposições naturais (MEANEY, 1977; WOOLFORD et al., 1998; HUXLEY et al., 2002). Entretanto, todas as vacas destes experimentos tinham baixa contagem de células somáticas (CCS). Isto levanta uma pergunta: o selante de tetos seria igualmente efetivo em prevenir a mastite no período seco de vacas realmente infectadas no momento da secagem?

Alguns pesquisadores procuraram responder esta questão. Berry e Hillerton (2002b) incluíram em seu estudo duas propriedades leiteiras padrão, duas propriedades comerciais completamente orgânicas e três propriedades em conversão ao *status* orgânico. Os quartos de úbere não infectados das vacas de todas as sete propriedades foram designados ao acaso para o SIT ou para controle (não tratados). Quartos infectados de vacas em quatro das sete propriedades também foram designados para o SIT ou controle. Amostras foram coletadas das 398 vacas em uma semana antes da secagem, na secagem, no parto, e

aproximadamente uma semana após o parto (BERRY e HILLERTON, 2002b). Como resultado do processo de casualização, não houve diferenças significativas na distribuição para a ocorrência de infecção entre os dois grupos de tratamento no momento da secagem. Houve, entretanto, uma diferença significativa na ocorrência de infecção ao parto entre os dois grupos, onde as vacas tratadas com o SIT foram 0.27 vezes menos prováveis de desenvolver uma nova infecção ao parto que o grupo controle. Houve também uma diferença estatística significativa na incidência de mastite clínica durante o período seco. Os sintomas clínicos foram detectados em 10 quartos do grupo não tratado e não houve casos clínicos no grupo com SIT ($p=0.001$). Novamente, ao parto, os quartos não tratados tinham significativamente mais novas IIM que o grupo tratado, embora a incidência do organismo predominante causador de novas infecções, *Streptococcus uberis*, não diferiu entre os grupos. Nos quartos que estavam infectados ao parto, surgiram mais casos de mastite clínica no grupo não tratado; mas não houve diferença entre os grupos para os quartos que desenvolveram mastite no período. A eficácia do SIT foi demonstrada contra uma variedade de desafios ambientais, tanto em instalações de inverno quanto em pastagens de verão (BERRY e HILLERTON, 2002b).

Em um experimento realizado com 883 vacas, no Canadá, Sanford et al. (2004b), compararam o efeito do uso de um selante interno de tetos associado ou não com o uso de um antibiótico de rotina na terapia da vaca seca. As vacas com cultura negativa na secagem receberam o selante em dois quartos e o antibiótico nos quartos ipsilaterais, integrando o grupo I. As vacas com cultura positiva na secagem receberam o SIT associado ao antibiótico em dois quartos e o antibiótico nos quartos ipsilaterais, integrando o grupo II. Resultados preliminares demonstraram que os quartos que receberam o selante apresentaram um índice

menor de novas IIM no período seco e no pós-parto, em ambos os grupos, assim como um menor índice de mastite clínica.

Godden et al. (2003), na América do Norte, estudaram a efetividade do uso de um selante interno de tetos com um antibiótico para prevenir novas IIM durante o período seco. Para serem selecionadas para este estudo, as vacas deviam ter quatro quartos funcionais livres de mastite clínica no dia da secagem, e não deveriam ter recebido tratamento com antiinflamatório, ou antibiótico intramamário ou parenteral, por pelo menos 30 dias antes da secagem. Um total de 437 vacas foi selecionado. Após a ordenha final, todos os quatro quartos de cada vaca foram tratados com um antibiótico (cloxacilina) comercial de longa ação para vaca seca. Um SIT foi destinado a dois quartos de cada vaca, e os dois quartos contralaterais serviram de controle. Os selantes foram removidos na primeira ordenha da nova lactação e foram coletadas amostras de todos os quartos para CCS e cultura (GODDEN et al., 2003). Foram colhidas amostras na secagem, entre o primeiro e terceiro dias de lactação (DDL), e entre o sexto e oitavo DDL. A proporção de quartos com presença de IIM entre a secagem e a lactação foi 29.1% para o grupo controle (somente antibiótico) versus 22.8% para o grupo tratado (SIT e antibiótico) – uma diferença estatística significativa ($P > 0.05$). Similarmente, entre o sexto e oitavo DDL a proporção de quartos com IIM apresentaram uma diferença significativa de 25.9% para o grupo controle versus 20.6% para o grupo tratado. Os quartos tratados com o SIT demonstraram uma prevalência menor de IIM causada por patógenos maiores e menores, incluindo estreptococos ambientais, para os primeiros seis dias de lactação. O tratamento com o SIT foi também associado a uma significativa redução do risco de desenvolvimento de novas IIM tanto por patógenos maiores quanto por estreptococos ambientais (GODDEN et al., 2003). Finalmente, a

proporção de quartos com mastite clínica entre a secagem e os 60 dias da nova lactação foi menor para os quartos tratados (5.9%) que os controles (8.0%). Houve uma redução de aproximadamente 30% de novas IIM em todos os períodos analisados, nos quartos que receberam o selante. A conclusão é que a adição de antibiótico ao selante de tetos pode aumentar sua eficácia e segurança (GODDEN et al., 2003).

Huxley, Green e Bradley (2004), conduziram um experimento que visava comparar o efeito do selante interno de tetos na CCS da lactação seguinte. Foram utilizadas 401 vacas, 198 vacas receberam o selante de tetos e 203 vacas receberam o antibiótico (250mg de cefalônio). As vacas eram selecionadas para o estudo por não apresentarem mastite clínica, CCS igual ou menor que 200.000 céls/ml e na análise microbiológica eram tolerados patógenos menores. O resultado encontrado foi que o CCS no pós-parto imediato foi maior nas vacas que receberam o selante (39,600 céls/ml vs. 30,400 céls/ml, $P < 0.05$), embora duas outras amostragens no decorrer da lactação não apresentassem diferença estatística significativa na CCS (32.300 vs 30.200, e 32.600 vs 30.000). Os autores explicam ainda que o grupo de animais que recebeu o selante era composto por vacas mais velhas (HUXLEY, GREEN e BRADLEY, 2004). Estes dados discordam dos resultados obtidos em um estudo similar realizado por Sanford et al. (2004c), no qual as vacas selecionadas apresentaram cultura microbiológica negativa à secagem, e durante os sete dias pós-parto os quartos que receberam o selante apresentaram CCS menor que os quartos tratados com antibiótico.

Foi realizado um estudo com 255 quartos mamários de novilhas, investigando a prevalência de IIM no pré-parto, o efeito de um selante interno de tetos na prevalência de IIM no pós-parto e a incidência de mastite nas duas primeiras

semanas após o parto. Os autores concluíram que a IIM no pré-parto está positivamente associada com a prevalência de IIM no pós-parto e a incidência de mastite clínica em novilhas. A infusão de um SIT no pré-parto reduz a prevalência de IIM subclínica no pós-parto (PARKER et al., 2004).

Os selantes de teto baseados em bismuto são biologicamente inertes, e a introdução de um selante de tetos sem propriedades antibacterianas na glândula mamária não é livre de riscos. Indubitavelmente, patógenos podem ser introduzidos no quarto durante a infusão (ACUÑA, 2005b), ou o próprio selante pode estar contaminado, conduzindo a uma infecção. Milnes e Platter (2003) descrevem um caso de mastite gangrenosa seguida de óbito em uma vaca que recebeu a infusão de um selante de tetos armazenado em um balde contendo água contaminada com *Pseudomonas aeruginosa*. Deve-se, portanto, sempre lembrar da importância de seguir as instruções de uso do fabricante, assim como da necessidade de medidas higiênicas adequadas.

É bastante claro que a aplicação de selantes internos de tetos tem se mostrado efetiva na redução de novas IIM no período seco, assim como na redução da ocorrência de mastite clínica na lactação subsequente. E é notório que o assunto tem despertado interesse em todas as regiões do mundo. Na Europa, já há um produto comercialmente aprovado para uso como alternativa à antibioticoterapia na secagem de vacas não infectadas (baixa SCC). Na América do Norte, um produto comercial já está disponível há algum tempo, e é indicado para associação à antibioticoterapia. Ao passar do tempo, conforme forem desenvolvidos métodos mais práticos, rápidos e seguros de diagnóstico de IIM, é de se esperar que o produto seja cada vez mais utilizado (LESLIE, 2004; LESLIE e DINGWELL, 2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ESTUDO PRELIMINAR

No período de setembro a novembro de 2004, foi realizado um estudo preliminar. Foram utilizadas duas vacas da raça Holandesa, oriundas do tambo do Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV (Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC). No momento da secagem, após a realização do CMT e cultura microbiológica, ambas receberam a infusão do selante interno de tetos em dois quartos ipsilaterais de glândula mamária. No período pré-parto, aos 56 dias depois da secagem, os úberes destas vacas foram radiografados para a observação da presença do produto. Aos oito dias pós-parto, procedeu-se ao CMT e a coleta de amostras de leite para cultura microbiológica.

3.2 LOCAL – PROPRIEDADES

O presente experimento foi realizado de janeiro a outubro de 2005, na Região Oeste do Estado de Santa Catarina, em seis propriedades rurais particulares, que possuem plantéis criados em sistema semi-intensivo, enquadradas no nível de produção empresarial ou familiar.

Todas as propriedades utilizam sistema de ordenha mecânica com duas

ordenhas diárias. A rotina de higienização pré-ordenha é idêntica, com limpeza dos tetos com água, secagem com papel toalha individual para cada teto, teste da caneca de fundo escuro diariamente e CMT semanalmente, pré-dipping com solução de hipoclorito de sódio (1%) e pós-dipping com solução iodada (1%).

É padrão também a utilização de antibióticos em todas as vacas no momento da secagem.

3.3 ANIMAIS

Foram utilizadas 80 vacas da raça Holandesa, independente da idade, do número de lactações e do “status” produtivo, no período final de lactação.

Todas as vacas incluídas no experimento estavam em boas condições de saúde, com úbere e tetos íntegros, participando da rotina de ordenha das propriedades. Não eram utilizadas no experimento vacas que apresentassem mastite clínica em pelo menos um dos quartos mamários.

Os animais sofreram o método de secagem abrupta.

Era premissa que as vacas não houvessem recebido qualquer tratamento medicamentoso nos 30 dias anteriores ao início do experimento, assim como durante o período de realização do mesmo (salvo tratamento para mastite clínica).

3.4 EXAME DA GLÂNDULA MAMÁRIA E DO LEITE

O úbere das vacas foi avaliado por inspeção e palpação, observando-se o parênquima, tetos e estruturas internas (*ductus papilares*, *sinus papilares* e *sinus latifer*).

Após o exame físico da glândula mamária, a secreção láctea de cada teto foi submetida ao “teste da caneca de fundo preto” (FONSECA e SANTOS, 2000), observando-se a cor e a consistência da secreção e a presença de massas ou grumos, a fim de detectar a ocorrência de mastite clínica. Os animais com mastite clínica eram prontamente descartados, não sendo incluídos no experimento.

A seguir, foi realizado o CMT, cujo resultado obtido era anotado. Segundo Schalm e Norlander (1957), o CMT - “California Mastitis Test” - é um teste capaz de detectar a ocorrência de mastite pelo aumento de células somáticas, principalmente polimorfonucleares por mililitro de leite, e apresenta excelente correlação com a Contagem de Células Somáticas. De cada glândula mamária colhe-se uma amostra de 2,0ml de leite, adicionado na mesma proporção de um detergente aniônico (alquil-lauril sulfato de sódio) capaz de emulsificar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite, com conseqüente liberação de material nucléico, sendo que o DNA liberado produz uma viscosidade que caracteriza esta reação. Foram dados escores de acordo com a ausência de reação (0), presença de traços ou 1+, 2+ ou 3+ no referido teste, que correspondiam à intensidade do processo inflamatório (RADOSTIS *et al.*, 1994; THIERS *et al.*, 1999).

3.5 PROCEDIMENTOS DE COLHEITA

As amostras de leite foram coletadas seguindo o mesmo padrão, após a higienização do úbere, seguindo a rotina da propriedade.

A extremidade e o orifício externo do teto eram higienizados com gaze embebida em álcool 70%, com especial atenção ao óstio do *ductus papilares*. Coletou-se uma amostra de leite de cada quarto mamário, diretamente em frascos

estéreis, identificados e mantidos com gelo em caixas isotérmicas, posteriormente congeladas e encaminhadas ao laboratório para o processamento.

A seqüência de amostragem seguiu o padrão do manejo de secagem das vacas da propriedade, assim como a data dos partos, sendo que a primeira coleta foi realizada uma semana antes da secagem, a segunda coleta no momento da secagem, a terceira coleta em 8 (oito) dias pós-parto e a quarta coleta em 21 (vinte e um) dias pós-parto.

As vacas que apresentassem resultado negativo na análise microbiológica à coleta (no momento da secagem) eram utilizadas no experimento, entrando no grupo de animais livres de infecção (GI).

As vacas que apresentassem resultado positivo na análise microbiológica à coleta (no momento da secagem) eram utilizadas no experimento, entrando no grupo de animais com presença de infecção (GII).

3.6 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

3.6.1 Avaliação microbiológica

A determinação do “status” de infecção do quarto de glândula mamária foi feita baseando-se no guia do NMC (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1999), através de análises microbiológicas por semeadura em placas de ágar sangue, Sabouraud e McConckey, incubadas a 37°C por 24-48 horas.

Se três ou mais espécies bacterianas fossem observadas em uma amostra, a amostra era considerada contaminada.

As bactérias foram coradas pela técnica de Gram, e conforme o caso,

submetidas às provas de catalase. Tal procedimento foi realizado no Laboratório de Doenças Infecciosas do Centro de Ciências Agroveterinárias, UDESC.

Adotou-se como padrão a divisão dos agentes em *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e leveduras.

Os quartos foram divididos em duas categorias de acordo com seu “status” de infecção: negativos ou positivos a patógenos.

3.6.2 Teste de sensibilidade – antibiograma

Dos microrganismos isolados foi realizado o estudo de sensibilidade à gentamicina.

O método utilizado foi o de difusão em ágar Mueller-Hinton. Coletou-se uma colônia bacteriana, que foi diluída em TSB (“Trypticase Soy Broth”), nesta solução foi umedecido um swab estéril e semeado no ágar. O disco com 10 mcg de Gentamicina foi fixado. Após incubação por 24hs, mediu-se em milímetros o halo de inibição, obtendo-se assim a medida padrão de susceptibilidade ou resistência. Para a gentamicina, caracteriza-se como um halo de sensibilidade $\geq 15\text{mm}$.

3.7 TRATAMENTOS

Após a ordenha mecânica, os animais eram ordenhados manualmente até o completo esgotamento da glândula, realizava-se a assepsia com gaze embebida em álcool 70%, higienizando criteriosamente o óstio do *ductus papilares*. Seguia-se então a infusão intramamária dos tratamentos:

- Tratamento I: selante interno de tetos (constituído de parafina e subnitrito

de bismuto, em um total de 4g) (Fig. 1 e 2).



Figura 1 – Infusão intramamária do selante interno de tetos

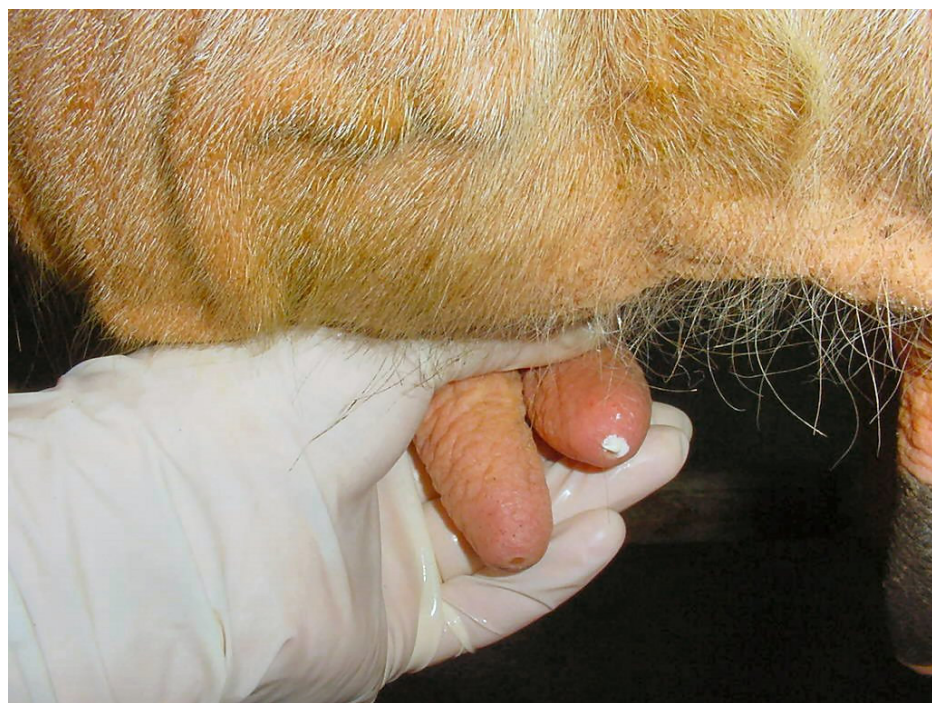


Figura 2 – Aspecto após a infusão intramamária do selante interno de tetos

- Tratamento II: selante interno de tetos, precedido da aplicação de um antibiótico formulado para aplicação em vacas secas, à base de gentamicina (Mastifin Vaca Seca, Ourofino) .

- Tratamento III: antibiótico formulado para aplicação em vacas secas, à base de Gentamicina (Mastifin Vaca Seca, Ourofino).

Cada quarto de úbere foi considerado individualmente. O Tratamento I e o Tratamento II foram aplicados em quartos ipsilaterais, e a distribuição dos tratamentos entre quarto anterior e posterior foi ao acaso. Os dois quartos restantes receberam ambos, o Tratamento III.

Os tratamentos eram aplicados no momento da secagem, após a última ordenha.

Após a aplicação dos tratamentos, os tetos recebiam o pós-dipping (solução iodada a 1%), e as vacas eram encaminhadas para áreas destinadas exclusivamente às vacas secas, de onde saíam somente no pré-parto imediato.

3.8 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS UTILIZADOS NOS TRATAMENTOS

3.8.1 Produto A: Selante de tetos – produto ainda não disponível no mercado, em desenvolvimento no Laboratório de Imunologia e Doenças Infecto-Contagiosas do CAV/UEDESC em Lages, SC, em parceria com o laboratório IRFA (RS) e testado neste experimento. Descrição do produto: selante interno de tetos, constituído de uma pasta inerte para uso intramamário em vacas secas, sem propriedades antibacterianas. Formulação: subnitrato de bismuto (65g), parafina e conservantes. Indicação: Profilaxia de novas infecções intramamárias no período

seco, usado no momento da secagem promovendo uma ação de oclusão do canal do teto (mimetizando a ação do tampão fisiológico que se forma neste local), impedindo a penetração de microrganismos. Modo de aplicação: no momento da secagem, após higiene dos tetos e desinfecção com álcool 70%, aplica-se o conteúdo da seringa, sem massagem posterior. Apresentação: seringas plásticas de aplicação intramamária, com cânula curta, contendo 4 gramas de produto. Modo de conservação: temperatura ambiente, local seco.

3.8.2 Produto B: Antibiótico: Nome comercial: Mastifin Vaca Seca (Ouro Fino) - Formulação: Gentamicina: Equivalente a 400mg de gentamicina base. Seguiram-se as recomendações do fabricante para a aplicação.

3.9 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao Teste Exato de Fischer (PIMENTEL – GOMES, 2001), utilizando o SAS Versão 8.0 (Statistical Analysis System). Verificou-se a relação existente entre os tratamentos e as variáveis analisadas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ESTUDO PRELIMINAR

Os resultados do CMT e cultura microbiológica foram negativos na secagem e aos oito dias pós-parto.

À cisternografia, no pré-parto, observou-se a presença do produto, com característica bastante radiopaca, localizado na porção distal da cisterna do teto, funcionando como um verdadeiro tampão (Fig. 3 e 4).

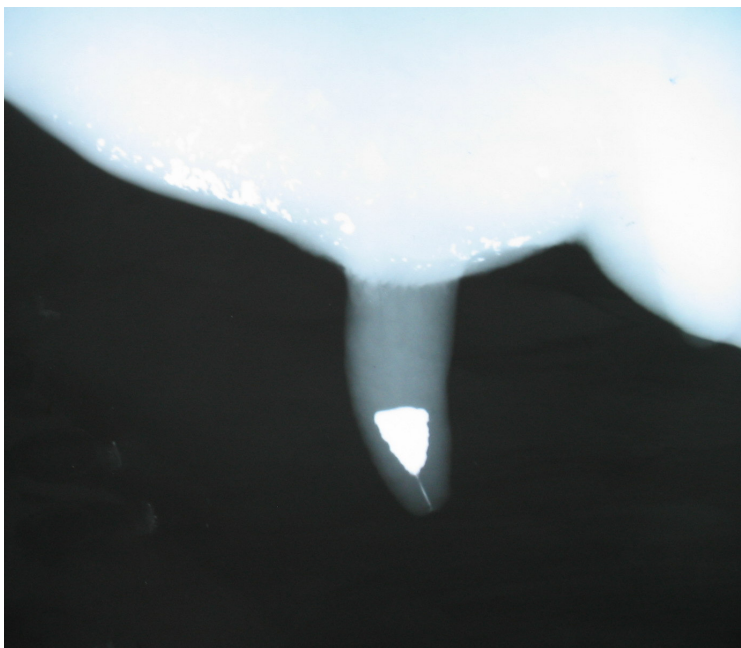


Figura 3 - Selante interno de tetos localizado na base da cisterna do teto, 56 dias após a secagem (imagem radiográfica).



Figura 4 - Selante interno de tetos localizado na base da cisterna do teto, em quartos ipsilaterais, 56 dias após a secagem. (imagem radiográfica).

Verifica-se pelas Figuras 3 e 4 que o selante interno distribuiu-se de forma adequada na extremidade inferior da cisterna do teto, como desejado. Woolford et al. (1998) descreveram a permanência de um selante interno de tetos neste local por até 100 dias, em um grupo de 19 vacas.

4.2 TRATAMENTOS

4.2.1 Distribuição dos Tratamentos à Secagem

Como a segunda amostragem se deu no momento da secagem, a interpretação da cultura microbiológica foi realizada após a aplicação dos tratamentos. Conseqüentemente era desconhecido o “status” de infecção dos quartos no momento da infusão dos tratamentos e a distribuição destes se deu ao acaso, desde que se ignorava a presença ou não de patógenos, e a que espécie estes poderiam pertencer. No momento da infusão do tratamento era apenas premissa a aplicação de TI(selante interno de tetos) e TII (Selante + antibiótico) em quartos ipsilaterais, de vacas que não apresentassem mastite clínica em nenhum

quarto mamário.

Estipularam-se então dois grupos, conforme o resultado da análise microbiológica da amostragem do momento da secagem: Grupo I: quartos mamários com cultura microbiológica negativa no momento da secagem, e Grupo II: quartos mamários com cultura microbiológica positiva no momento da secagem. A distribuição dos tratamentos de acordo com o Grupo, assim como os patógenos envolvidos no momento da aplicação dos tratamentos podem ser vistos na Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos tratamentos no momento da secagem, considerando os Grupos I e II, número de quartos mamários conforme o resultado da cultura microbiológica e respectivos patógenos.

Patógenos isolados	TI	TII	TIII	Total
Grupo I				
Cultura microbiológica negativa	56(26%)	51(23,7%)	108(50,3%)	215
Grupo II				
<i>Staphylococcus</i> spp.	11	14	26	51
<i>Corynebacterium</i> spp.	8	11	17	36
<i>Streptococcus</i> spp.	4	3	8	15
leveduras	1	-	1	2
<i>Corynebacterium</i> spp.+ <i>Staphylococcus</i> spp.	-	1	-	1
<i>Total Grupo II</i>	24(22,9%)	29(27,6%)	52(49,5%)	105
Total	80	80	160	320

Grupo I – quartos com cultura microbiológica negativa no momento da secagem.

Grupo II – quartos com cultura microbiológica positiva no momento da secagem.

TI: selante. TII: selante + antibiótico. TIII: antibiótico.

4.2.2 Avaliação do número de novas infecções intramamárias conforme os tratamentos – TI, TII E TIII

Considerou-se uma nova infecção intramamária quando um quarto que não apresentava patógenos à secagem passou a apresentá-los em algum momento no pós-parto, ou quando um quarto infectado com um patógeno passa a apresentar, em

uma próxima cultura microbiológica, outro patógeno diferente do primeiro.

Quanto ao Grupo I (quartos mamários com cultura microbiológica negativa no momento da secagem), vê-se na Tabela 2 o número de novas infecções intramamárias.

Tabela 2 –Distribuição do número de novas infecções intramamárias no GI (n=215), aos oito e 21 dias pós-parto, considerando o tratamento.

G I Tratamento	- Novas IIM -		Total % (nº. quartos)
	8 dias % (nº. quartos)	21 dias % (nº. quartos)	
TI (selante, n=56 quartos)	1,8% (1)	5,35% (3)	7,14% (4)
TII (selante + antibiótico, n=51 quartos)	0% (0)	1,96% (1)	1,96% (1)
TIII (antibiótico, n=108 quartos)	1,85% (2)	9,25% (10)	11,11% (12)
Total (n= 215 quartos)	1,4% (3)	6,5% (14)	7,9% (17)

IIM: infecções intramamárias. Grupo I – quartos com cultura microbiológica negativa no momento da secagem. Não há diferença estatística entre os tratamentos, pelo Teste Exato de Fischer a 5%.

À análise da Tabela 2, pode-se observar o efeito dos tratamentos de acordo com a ocorrência de novas IIM no Grupo I (livre de patógenos à secagem). O Tratamento I (selante) apresentou quatro novas IIM, até aos 21 dias pós-parto. Eberhart (1986), afirma que a taxa esperada de novas IIM em quartos bacteriologicamente negativos, e que não receberam antibióticos na secagem, é geralmente de 10 a 12%, concordando com taxas sugeridas por outros autores, de 3,8%; 7%; 9%; 12,3% e 14% nos quartos não tratados (NATSKE, EVERETT e BRAY, 1975; BROWNING et al., 1990; SCHUKKEN, VANVLIET e VANDEGEER, 1993; WILLIAMSON, WOOLFORD e DAY, 1995); estes dados levam à conclusão de que os resultados obtidos com o uso do selante, neste estudo, foram bastante satisfatórios.

Como o Grupo I era livre de infecção no momento da secagem, todos os quartos que apresentaram resultado positivo na análise microbiológica aos oito e aos 21 dias pós-parto (Tab. 2) podem ser caracterizados como portadores de novas infecções intramamárias.

Não houve diferença significativa entre os resultados (Teste Exato de Fischer, $P>0,05$), mas o Grupo I apresentou os melhores resultados numéricos na prevenção de novas IIM, sendo que o Tratamento II (selante + antibiótico) teve o melhor desempenho, com a ocorrência de somente um caso de nova IIM entre os 56 quartos que receberam o tratamento. O bom desempenho da associação entre um antibiótico e o selante já foi descrito por outros autores (COOK et al., 2004; GODDEN et al., 2003), ao comparar o efeito do uso de um antibiótico ao efeito da associação deste antibiótico a um selante de tetos, em quartos não infectados.

Não houve diferença significativa entre os resultados (Teste Exato de Fischer, $P>0,05$), embora o Tratamento I do Grupo I, tenha obtido o segundo melhor desempenho numérico, com apenas quatro casos de novas IIM, em 51 quartos analisados. Estudos realizados na Nova Zelândia e no Reino Unido demonstraram que os efeitos do selante de tetos como único tratamento de quartos livres de infecção, foram no mínimo iguais, se não melhores, ao efeito da antibioticoterapia (WOOLFORD et al., 1998; BERRY e HILLERTON, 2002b; HUXLEY et al., 2002).

O tratamento III, ainda no Grupo I, apresentou 12 novas IIM (11,11% em 108 quartos que receberam este tratamento). Entretanto, não houve diferença estatística significativa (Teste Exato de Fischer, $P>0,05$) entre estes resultados (Tab. 2). Porém, Leslie (2004) encontrou diferenças significativas na diminuição de novas IIM durante o período seco, onde um selante de tetos teve melhor desempenho que a antibioticoterapia com cefalônio.

No Grupo II, por se tratar dos quartos mamários que apresentaram resultado positivo à análise microbiológica realizada no momento da secagem, se faz necessária a diferenciação entre as novas infecções intramamárias e as que persistiram durante o período seco (Tab. 3). Foram caracterizados como apresentando IMI persistentes os quartos cujo resultado à microbiologia apresentou o mesmo agente patógeno à secagem e aos sete dias pós-parto. Não se pode, porém, eliminar a possibilidade de se tratar de uma nova infecção por um patógeno do mesmo gênero. Esta diferenciação seria possível, por exemplo, através da ribotipagem das amostras isoladas (BUZZOLA et al., 2001).

Tabela 3 – Número de novas infecções intramamárias e número de infecções intramamárias que persistiram da lactação anterior no GII (n=105), aos oito e 21 dias pós-parto.

GII Tratamento	- Novas IIM -		IIM Persistentes	Total
	8 dias % (nº. quartos)	21 dias % (nº. quartos)	8 dias % (nº. quartos)	
TI (selante, 24 quartos)	8,3% (2)	16,6% (4)	4,2% (1)	29,2%(7)
TII (selante + antibiótico, 29 quartos)	3,4% (1)	10,3% (3)	6,9% (2)	20,7% (6)
TIII (antibiótico, 52 quartos)	7,7% (4)	19,2% (10)	5,8% (3)	32,7%(17)
Total (105 quartos)	6,7% (7)	16,2% (17)	5,7% (6)	28,6%(30)

IIM: infecções intramamárias. Quartos: quartos mamários. Grupo II – quartos com cultura microbiológica positiva no momento da secagem.

*Total de quartos que não apresentaram persistência de infecção da lactação anterior.

Não há diferença estatística entre os tratamentos, pelo Teste Exato de Fischer (P>0,05).

Entre as infecções caracterizadas como persistentes, não houve diferença entre os tratamentos (Tab. 3), embora fosse esperado que os quartos que receberam os Tratamentos II e III (antibiótico) apresentassem proporcionalmente um menor número de quartos com infecções persistentes.

No Grupo II os tratamentos também não diferiram significativamente pelo teste Exato de Fischer ($P>0,05$). Neste caso foram observadas apenas quatro novas IIM para o tratamento II, seguido de seis novas IIM no tratamento I e 14 novas IIM para o tratamento III (Tab. 3), o que corresponde a 26,9% dos quartos que receberam este tratamento (Fig. 5). Observa-se que os tratamentos comportaram-se de forma semelhante ao Grupo I.

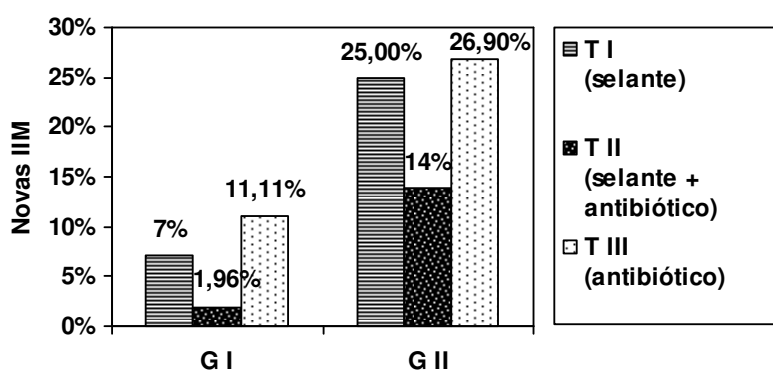


Figura 5 – Grupos I e II - Porcentagem de novas infecções intramamárias nos Tratamentos I, II e III, observadas nos 320 quartos de glândula mamária avaliados durante o estudo.
 Grupo I – quartos com cultura microbiológica negativa no momento da secagem.
 Grupo II – quartos com cultura microbiológica positiva no momento da secagem.
 (Não há diferença entre os tratamentos, pelo Teste Exato de Fischer a 5%).

Uma dúvida freqüente é se o uso de um selante interno de tetos em um quarto infectado não poderia apresentar resultados indesejáveis. Alguns autores afirmam que o SIT não tem efeito de impacto sobre uma infecção já existente. E que, neste caso, o resultado da aplicação não seria diferente em uma vaca que formasse o tampão de queratina naturalmente, e depois desenvolvesse mastite (BERRY, JOHNSTON e HILLERTON, 2002; O'ROURKE, 2005). O fato da não ocorrência de mastites clínicas em número significativo neste estudo concorda com estas afirmações.

Ao comparar os resultados entre o Grupo I e o Grupo II, percebe-se que o Grupo II apresentou um número maior de novas infecções intramamárias ($P<0,01$)

que o Grupo I (Fig. 5). Estes dados sugerem que quartos infectados no momento da secagem têm maior risco de desenvolver uma IIM durante o período seco e a subsequente lactação, concordando com as observações de vários autores (BERRY, JOHNSTON e HILLERTON, 2002; DINGWELL, KELTON e LESLIE, 2003; GREEN et al., 2002). Analisando-se as diferenças da incidência de novas infecções intramamárias entre os Grupos I e II, observa-se que em ambos houve uma incidência maior aos 21 dias pós-parto (Tab. 2 e 3).

O Tratamento II apresentou um melhor resultado numérico, porém não há diferença significativa no efeito dos tratamentos (na profilaxia de novas IIM) entre si, lembrando que TI= 80 quartos, TII= 80 quartos e TIII= 160 quartos, pelo Teste Exato de Fischer ($P>0,05$).

Considerando-se os Grupos I e II conjuntamente, conclui-se que não há diferença entre o uso do selante interno de tetos associado ou não a um antibiótico com o uso do antibiótico isolado, ou seja, não há diferença entre os tratamentos (Fig. 6). Não há evidência estatística, à luz da amostragem estudada, que possa distinguir os tratamentos como diferentes (SAMPAIO, 2002).

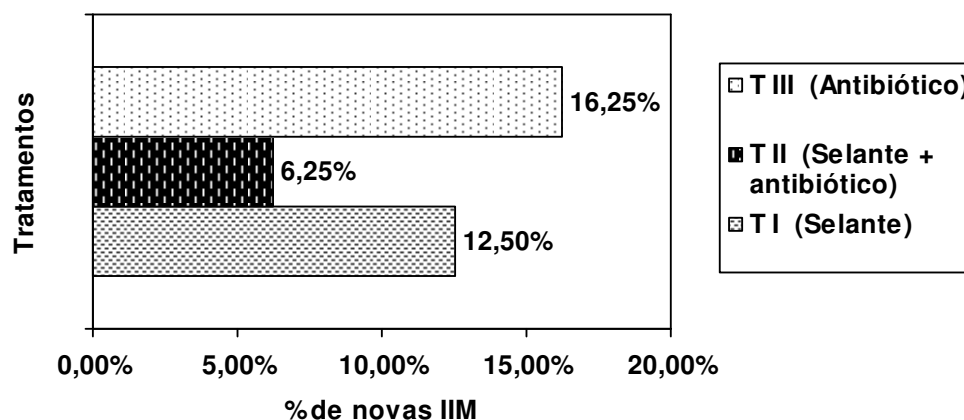


Figura 6 – Porcentagem de novas infecções intramamárias nos Tratamentos I, II e III, observadas nos 320 quartos de glândula mamária avaliados durante o estudo.

T I: 80 quartos, T II: 80 quartos, T III: 160 quartos.

(Não há diferença entre os tratamentos, pelo Teste Exato de Fischer, $P>0,05$).

Um aspecto a considerar é que, se o antibiótico utilizado mantém seus níveis de concentração inibitória mínima em torno de quatro semanas, a partir de então os quartos mamários estariam sem a ação protetora antibiótica, o que coincide com um dos períodos de maior susceptibilidade da glândula. Então, neste período, somente o selante estaria atuando, e os quartos que não receberam selante estariam mais expostos à infecção.

RUEGG (2005) afirma que, atualmente, o uso de antibióticos intramamários de longa ação continua a ser fundamental na produção de leite de alta qualidade. Esta autora enfatiza que o uso combinado de selantes internos de tetos associados a antibióticos pode reduzir as novas IIM durante o período seco.

Tecnicamente, todas as vacas podem se beneficiar de estratégias de prevenção, enquanto tratamentos devem ser aplicados a algumas, e isto é particularmente aplicável em propriedades com baixo “status” de infecção e bons programas de controle e manejo. Em propriedades em que ainda não há um controle mais adequado, a utilização de estratégias de profilaxia aliadas às de tratamento são as mais aplicáveis, garantindo a cura de quartos possivelmente infectados, e provendo a proteção de novas infecções.

Sabe-se que o risco de desenvolvimento de IIM no período seco é resultado de uma interação complexa entre o hospedeiro, o meio ambiente, e os patógenos. A identificação dos riscos associados ao desenvolvimento de novas IIM durante o período seco permitiria o desenvolvimento de decisões racionais e a implementação de estratégias efetivas de controle em nível de propriedade.

4.3 TAXA DE CURA E AUTOCURA NO PERÍODO SECO

O termo cura refere-se à ausência de crescimento no pós-parto de um

patógeno que havia sido observado na secagem (Tab. 4).

Tabela 4 – Taxa de cura no Grupo II, conforme os tratamentos.

Grupo II	T I	T II	T III
Quartos infectados à secagem	24	29	52
Quartos infectados aos 8 dias	3	2	5
Taxa de cura	87,5%	93,1%	90,4%

Não há diferença estatística entre os tratamentos, pelo Teste Exato de Fischer a 5%.

A taxa de cura neste estudo, de 90,4% nos quartos que receberam o antibiótico exclusivamente (TIII) foi um pouco inferior à observada por Huxley et al., (2002) utilizando cefalônio (93,6%).

Godden et al. (2003), relataram que em seu estudo não houve diferença significativa na taxa de cura entre os quartos tratados com antibiótico (88,2%) e os quartos tratados com antibiótico (cloxacilina) e selante (91,3%). Resultados semelhantes foram encontrados no presente estudo, com uma taxa de cura de 90,4% para os quartos que receberam o antibiótico (gentamicina), e 93,1% para os quartos que receberam o antibiótico e o selante.

Os quartos que receberam o T I (selante) e, portanto não receberam antibiótico, apresentaram uma taxa de autocura (cura espontânea, já que o selante não tem ação bactericida ou bacteriostática) em torno de 87,5%. Huxley et al. (2002) encontraram uma taxa de cura de 57% para o selante interno de tetos, em seu estudo.

Segundo Costa (1998), a infecção uma vez estabelecida pode ser eliminada por três formas: cura espontânea, que ocorre em aproximadamente 20% dos casos;

terapia com sucesso, onde mais de 30% dos quartos são curados pela antibiotico-terapia durante a lactação e aproximadamente 20% durante o período seco. A cura espontânea é resultante da eficiência da interação dos mecanismos de defesa do úbere e do processo inflamatório.

Portanto, no presente estudo, observou-se uma tendência de que o melhor resultado obtido na cura de infecções intramamárias existentes no período seco tenha sido para o Tratamento II, onde houve 93,1% de cura. Mas não há diferença significativa nestes dados ($P > 0,05$).

Provavelmente a interação entre a ação curativa do antibiótico e a presença profilática do selante determinem esta tendência. O efeito protetor adicional observado no uso do SIT com o antibiótico ao invés do antibiótico isolado pode ser devido a vários fatores (GODDEN et al., 2003). Primeiro, o selante oferece uma barreira à entrada de bactérias logo no início do período seco quando o tampão de queratina pode ainda não haver se formado adequadamente. Segundo, no final do período seco, quando a concentração de antibiótico pode haver caído abaixo de níveis terapêuticos, o selante permanece em sua função de barreira. Finalmente, durante todo o período seco, o selante de tetos promove uma barreira contra muitas espécies de bactérias que podem ser insensíveis ao antibiótico que está sendo utilizado (GODDEN et al., 2003).

4.4 MASTITE CLÍNICA

Não foi observada a ocorrência de mastite clínica durante o período seco, bem como do pós-parto imediato até aos oito dias pós-parto.

Desde os oito aos os 21 dias após o parto, foram observados quatro quartos com mastite clínica, três dos quais estavam sob o TIII (antibiótico), e um sob o TI

(selante), todos tendo como patógeno o *Staphylococcus* spp..

Pela análise estatística observou-se que não há diferença na ocorrência de mastites clínicas no pós-parto entre os quartos que receberam o TI (0,43%, um quarto), TII (0%) ou TIII (1,3%, três quartos) (Teste Exato de Fischer, $P > 0,05$).

A incidência de mastite durante o período seco foi de 0%, e este achado é muito menor do que o descrito em outros relatos (BERRY e HILLERTON, 2002b; HASSAN et al., 1999). Woolford et al. (1998), explicam que a identificação de novas infecções durante o período seco pode ser realizada pela palpação periódica do úbere; mas isto se tornaria inviável no presente experimento, por exigir uma maior demanda de mão-de-obra por parte dos produtores e encarregados, o que nem sempre era possível; portanto os rebanhos eram apenas visualmente vistoriados periodicamente. A não ocorrência de mastite clínica durante o período seco e sua baixa incidência no pós-parto coincidem com os achados de outros autores, que encontraram menos casos de mastite clínica nos quartos que receberam o selante associado a um antibiótico quando comparados aos quartos que receberam apenas o antibiótico (COOK et al., 2004; GODDEN et al., 2003).

Todos os casos de mastite clínica observados ocorreram após duas semanas pós-parto. O caso de mastite do Grupo I, que recebeu o TI (Tab. 13), pode ser definida como uma nova infecção intramamária, visto que a cultura microbiológica das amostragens anteriores, para este quarto, foram negativas. Ao comparar quartos não tratados a quartos que receberam o selante interno de tetos, alguns pesquisadores encontraram uma significativa redução de novas IIM nos quartos com selante (WOOLFORD et al., 1998).

Dois dos quartos do Grupo II que apresentaram mastite clínica por *Staphylococcus* spp., haviam tido cultura microbiológica anterior positiva para

Corynebacterium spp., caracterizando assim também novas infecções intramamárias. Somente um dos quartos do GII que apresentou mastite clínica por *Staphylococcus* spp., havia apresentado o mesmo patógeno em cultura microbiológica anterior, embora não necessariamente tenha ocorrido a permanência do agente no quarto durante o período seco, mesmo que o resultado do antibiograma tenha revelado sensibilidade do microrganismo à gentamicina.

4.5 GENTAMICINA

4.5.1. RESULTADOS DO ANTIBIOGRAMA

O GI (livre de infecção à secagem) não apresentou microrganismos no pós-parto que pudessem ser resistentes à gentamicina. O GII (com presença de infecção à secagem) apresentou crescimento de microrganismos resistentes à gentamicina (Tab. 5).

Tabela 5 – Número de microrganismos resistentes à gentamicina, frente ao número total (n) de microrganismos isolados nas 320 amostras de leite, considerando a época da amostragem.

Agente	- Época -			Total Agentes	% Resistência
	Secagem	8 dias	21 dias		
	<i>R(n)</i>	<i>R(n)</i>	<i>R(n)</i>	<i>R(n)</i>	
<i>Corynebacterium</i> spp.	10(37)	0(1)	0(3)	10(41)	24,4
<i>Streptococcus</i> spp.	4(15)	1(2)	0(4)	5 (21)	23,8
<i>Staphylococcus</i> spp.	8(52)	2(7)	8(17)	18(76)	23,7
Total	22(104)	3(10)	8(24)	33(138)	23,9

R: número de agentes resistentes. n total de microrganismos.

Segundo LANGONI et al. (1999 e 2000), a gentamicina continua sendo um

antibiótico eficaz para o tratamento das mastites bovinas de origem bacteriana. Vários autores verificaram altos índices de sensibilidade de estafilococos isolados de casos de mastite a este antibiótico (COSTA et al., 1985; COSTA et al., 2000b; BRITO et al., 2001; BYARUGABA, 2004; WATANABE et al., 2001). Entre os patógenos encontrados nas amostras do presente estudo, observou-se uma média de resistência de 23,9% (Tab. 12), subentendendo-se uma sensibilidade em torno de 76,1%, o que difere dos resultados encontrados pelos pesquisadores acima citados. Este nível de susceptibilidade poderia intervir nos resultados, desde que não houvesse uma distribuição homogênea entre os patógenos e os tratamentos (Tab. 1).

Como a susceptibilidade dos microrganismos à gentamicina (VAKULENKO e MOBASHERY, 2003) foi um dado complementar neste estudo, seria pertinente uma investigação mais abrangente para estabelecer um nível de resistência com uma maior margem de segurança, relacionado à Região Oeste do Estado de Santa Catarina.

4.5.2 AÇÃO DO ANTIBIÓTICO SOBRE OS QUARTOS NÃO TRATADOS.

Uma questão a analisar, no presente experimento, é: ao infundir gentamicina intramamária em 3 quartos, deixando o 4º teto sem infundir, qual será a influência do seu princípio ativo sobre a glândula não tratada? O conteúdo do veículo altamente apolar promove uma lenta liberação do fármaco (GRUET et al., 2001), acrescido do fato que o princípio ativo está na forma dispersa no produto utilizado no presente experimento. Este conjunto de características físico-químicas leva a uma formulação de longa ação (4 semanas). Baseando-se na farmacocinética do produto, por se tratar de um antibiótico de pouca absorção combinado a um veículo que ajuda a

manter o produto a nível da glândula mamária tratada, sua baixa absorção não permitiria que o nível deste antibiótico chegasse em níveis importantes no quarto mamário não tratado (GRACIOLLI, 2005 – mensagem pessoal).

No final do período seco, os níveis de antibiótico caem abaixo da concentração inibitória mínima na glândula em que são aplicados (BRADLEY e GREEN, 2004), e embora haja a presença de resíduos em quartos não tratados, esta concentração é insuficiente para inibir o desenvolvimento bacteriano (COELHO, 2003; COSTA et al., 2000a; EGAN e MEANEY, 1985; RAIÁ et al, 1999; ZIV, GORDIN e BECHAR, 1974).

Outros autores (HUXLEY et al., 2002; GODDEN et al., 2003; SANFORD et al., 2004b e 2004c) utilizam o tratamento com antibióticos de um ou mais quartos em estudos semelhantes a este, sem citar a interferência sobre os quartos adjacentes.

4.6 CMT

O resultado do CMT pode ser visualizado na Tabela 6.

Observou-se que não ocorreu uma relação entre a intensidade da reação ao CMT e o isolamento bacteriano, especialmente no momento da secagem, e esta tendência também é observada na coleta realizada uma semana antes do parto. Apesar do fato de que o CMT seja uma ferramenta largamente utilizada para identificação de infecções no início da lactação (SARGEANT et al., 2001; SCHUKKEN, VANVLIET e VANDEGEER, 1993), não é um exame indicado para o final da mesma (SANFORD, 2004a). Conforme descreve Gilson (1995), falsas reações positivas ocorrem frequentemente em vacas próximas à secagem; não sendo, portanto, um teste adequado para a triagem dos animais no momento da secagem (RUEGG, 2005). Sanford et al. (2004a) relatam em seu estudo haver

encontrado uma sensibilidade do CMT em vacas na secagem, em torno de 49,9% para todos os patógenos.

Tabela 6 – Resultado do “California Mastitis Test” (CMT) realizado a partir de 320 amostras de leite de fêmeas bovinas da raça Holandesa. Número de quartos (nº) e porcentagem de quartos (%) frente ao total de amostras em cada coleta.

Coleta	ESCORE CMT			
	0	1+*	2+	3+
1ª nº(%)	65 (20,3)	112 (35)	113 (35,3)	30 (9,4)
2ª nº(%)	26 (8,1)	57 (17,8)	104 (32,5)	133 (41,5)
3ª nº(%)	284 (88,8)	22 (6,9)	8 (2,5)	6 (1,9)
4ª nº(%)	201 (62,8)	77 (24)	27 (8,5)	15 (4,7)
Total (%)	45	20,9	19,7	14,4

Coleta: momento das coletas. (1ª : sete dias antes da secagem. 2ª: no momento da secagem. 3ª: aos oito dias pós-parto. 4ª: aos 21 dias pós-parto).
*: inclui traços.

A baixa relação entre o CMT e a cultura microbiológica no momento da secagem permitiu observar que o CMT não é o teste mais adequado para fazer a triagem dos animais para o tratamento com o selante interno de tetos. Sabe-se da importância de debelar qualquer infecção intramamária, e que o período seco é o melhor momento para isto, e em caso de não haver confirmação do “status” de infecção da glândula, é mais adequada a utilização do selante associado a um antibiótico com formulação específica para vaca seca.

No momento da primeira coleta pós-parto, houve uma elevada relação entre o resultado do CMT e a análise microbiológica, indicando que realmente este teste tem grande aplicabilidade neste período. Em dois estudos (ROSENBERG et al., 2003; VOLTOLINI et al., 2001), para as amostras de leite obtidas no parto, aproximadamente metade dos quartos com CMT positivo apresentaram bacteriologia negativa, contra-indicando este período para a realização do CMT.

Sargeant et al. (2001) determinaram que a melhor estratégia de amostragem baseada no CMT para selecionar quartos infectados para cultura microbiológica era o terceiro dia pós-parto, quando observaram uma maior correlação entre o CMT e a análise microbiológica; enquanto Dingwell et al. (2003a) demonstraram que houve uma especificidade de 80,6% para o CMT no quarto dia pós-parto.

Os resultados positivos no CMT, mas negativos no exame microbiológico, podem indicar um processo inflamatório de etiologia não bacteriana, pois segundo COSTA *et al.* (1996), o CMT é um método auxiliar de boa correlação com o exame microbiológico. Porém o processo inflamatório pode não ser de origem infecciosa. Isto é válido tanto para o CMT, quanto para a CCS, e o fator mais importante é o “status” de infecção da glândula mamária, embora existam outros fatores que possam interferir no resultado, como variação diurna, estágio de lactação e estresse (RENEAU, 1986; HARMON, 1994).

A maioria das investigações sobre o efeito de selante de tetos citadas anteriormente neste estudo tem em sua metodologia a análise de CCS. Entretanto, para este estudo, optou-se por não realizar a CCS. Devido ao fato do mesmo ser realizado em propriedades leiteiras particulares, na linha de ordenha de rotina, e nestas não haver coletores individuais de leite por quarto mamário, ficaria difícil a coleta de uma amostra homogênea por quarto, que possibilitasse a avaliação fidedigna do status de CCS de cada um destes quartos, como seria desejável.

Infelizmente, atualmente ainda não há um teste rápido, prático e de resultado imediato, com adequada sensibilidade e especificidade, para determinar o status de infecção do quarto mamário. As tentativas de utilizar o CMT e CCS (isolados ou em combinação), não têm tido muito sucesso (POUTREL e RAINARD, 1981; KIRK et al., 1996; MCDERMOTT et al., 1982; THIERS et al., 1999); são testes para serem

usados apenas como uma confirmação, paralelos à cultura microbiológica (BERRY, 2003). Ao passar do tempo, espera-se que sejam desenvolvidos métodos mais práticos, rápidos e seguros de diagnóstico de IIM (LESLIE, 2004; LESLIE e DINGWELL, 2003).

4.7 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

4.7.1 Resultados da análise microbiológica

Ao compararmos o resultado das análises do CMT com o resultado do isolamento microbiológico, conclui-se que a amostragem bacteriológica, com o isolamento e identificação bacteriana, parece ser o método mais assertivo para identificar quartos infectados, concordando com alguns autores (RYAN et al., 1999; TWOMEY et al., 2000). Infelizmente, como este método consome tempo e é oneroso, permanece como uma desvantagem para uso na rotina da terapia de vaca seca.

Não foi objetivo deste estudo caracterizar os patógenos envolvidos na etiologia da mastite na região oeste do Estado de Santa Catarina. Mas pode-se observar que o *Staphylococcus* spp. é o microrganismo predominante, seguido por *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp. e leveduras (Tab. 7). Vários autores, descrevendo a etiologia das mastites em várias regiões do Brasil, encontraram resultados semelhantes (COSTA et al., 1986; COSTA, BENITES e MELVILLE, 1995; DOMINGUES et al., 1999; LANGONI et al., 1991; LAFFRANCHI, 2001; RIBEIRO et al., 1999), coincidindo com dados de outros países (DINGWELL et al., 2002).

O resultado da análise microbiológica das 320 amostras de leite, para as quatro coletas de amostras realizadas, pode ser visto na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultado da análise microbiológica realizada a partir das 320 amostras de leite de fêmeas bovinas, durante o período do estudo.

Patógeno	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4
Negativo	266	215	307	282
<i>Staphylococcus</i> spp.	23 (42,6)*	51 (48,6)	9 (69,2)	28 (73,7)
<i>Corynebacterium</i> spp.	20 (37)	37 (35,2)	2 (15,4)	4 (10,5)
<i>Streptococcus</i> spp.	9 (16,7)	15 (14,3)	2 (15,4)	6 (15,8)
leveduras	2 (3,7)	2 (1,9)	-	-
Total + (% em 320 quartos)	54 (16,7)	105 (32,8)	13 (4)	38 (11,9)

Coleta 1: sete dias antes da secagem. Coleta 2: momento da secagem. Coleta 3: oito dias pós-parto. Coleta 4: 21 dias pós-parto.

*os números entre parênteses correspondem à proporção de cada patógeno no total de patógenos isolados em cada amostra.

Na análise microbiológica das 320 amostras de leite de glândulas mamárias bovinas aos oito dias pós-parto, observa-se que para o Tratamento I houve o isolamento de microrganismos em 3 amostras, 2 amostras para o T II e 5 amostras para o T III. Aos vinte e um dias pós-parto, os quartos que apresentaram cultura microbiológica positiva, que receberam T I foram nove, para T II foram seis e para T III foram 23 (Fig. 7).

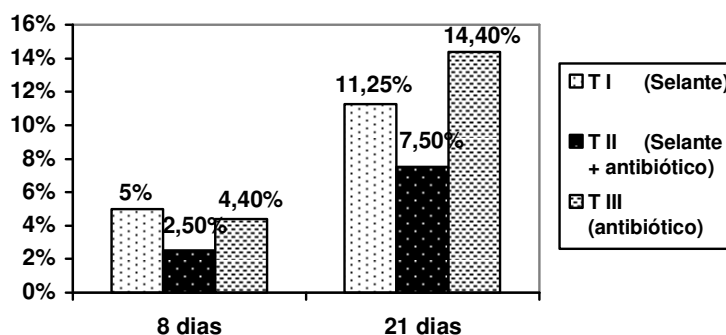


Figura 7 – Porcentagem de quartos que apresentaram crescimento de microrganismos na análise microbiológica, aos oito e 21 dias pós-parto, entre as 320 amostras de leite coletadas de fêmeas bovinas.

Estas proporções não diferem pelo Teste Exato de Fischer ($P > 0,05$).

4.7.2 Tampão de queratina e *Corynebacterium* spp.

Em um estudo (WILLIAMSON, WOOLFORD e DAY, 1995) em propriedades orgânicas onde foi observada uma grande proporção de tetos abertos, aliado ao achado de que a terapia da vaca seca com antibióticos aceleraria o fechamento dos tetos, sugere o envolvimento de algum microrganismo específico. O *Corynebacterium* spp é o microrganismo mais provavelmente envolvido neste processo, devido às suas conhecidas propriedades queratinolíticas (FUNKE et al., 1997), as quais poderiam ocasionar danos ao tampão de queratina.

A ocorrência de mastites subclínicas provocadas por *Corynebacterium* spp. neste estudo, no momento da secagem, é significativa (Tab. 1), não havendo diferença da ocorrência deste agente sob efeito dos tratamentos. Das 36 amostras de leite positivas para este agente no momento da secagem, seis (17%) apresentaram isolamento de outro agente (*Staphylococcus* spp.) nas amostragens posteriores ao parto, embora não se possa estabelecer uma correlação direta entre estes dados. Entretanto, dois dos casos (50%) de mastite clínica após os oito dias pós-parto observados foram causados por *Staphylococcus* spp., em quartos infectados na ocasião da secagem por *Corynebacterium* spp. Vários autores já estudaram estas correlações (BRAMLEY, 1975; BRAMLEY, KINGWILL e GRIFFIN, 1976; DUTT, EBERHART, 1986; HARMON et al., 1986; HUXLEY et al., 2003; PANKEY et al., 1985).

A interação entre o fechamento do teto e o possível envolvimento de *C. bovis* é um assunto bastante complexo, que exige futuros estudos. Fatores de manejo específicos que influenciem a taxa de formação do tampão de queratina necessitam ser identificados.

6. CONCLUSÕES

O selante de tetos é uma possibilidade promissora como medida auxiliar à terapia da vaca seca, na prevenção de novas infecções intramamárias no período seco e na lactação seguinte.

Nas condições deste estudo, não foram observadas diferenças entre o efeito dos tratamentos (T I: selante, T II: selante + antibiótico, T III: antibiótico). O efeito do uso de um selante interno de tetos na profilaxia de novas infecções intramamárias no período seco e no pós-parto foi tão eficiente quanto o uso de um antibiótico de uso intramamário com formulação para vaca seca (gentamicina). Não foi encontrado benefício aparente na aplicação simultânea do selante e do antibiótico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACUÑA, C. N.; CASASNOVAS, G. F. **Predipping , sellado de pezones y tapon de keratina artificial para el control de patogenos ambientales.** [mensagem pessoal] <deovet@yahoo.com.br > Mensagem recebida em 8/10/2005, às 01:24 horas. 2005a.
- ACUÑA, C. N.; CASASNOVAS, G. F.; MACAZAGA, C.F. **Effectiveness in the reduction of new intramammary infections in the dry period by the use of an external teat sealant in heifers at prepartum.** [mensagem pessoal] <deovet@yahoo.com.br > Mensagem recebida em 8/10/2005, às 01:24 horas. 2005c.
- ACUÑA, C. N.; CHIAPELLO, M.C.; D'ALESSIO, L.; PEREZ, J.M.; CASASNOVAS, G. F.; FALETTI, M.F.; RODRIGUEZ, J. **Prevencion de nuevas infecciones intramamarias durante el periodo seco por el uso de sellos internos para pezones.** [mensagem pessoal] <deovet@yahoo.com.br > Mensagem recebida em 8/10/2005, às 01:24 horas. 2005b.
- BARBANO, D. The role of milk quality in Addressing Dairy Food Marketing Opportunities in a Global Economy. In: **Proceedings of the 43rd annual meeting of NMC.** Charlotte, NC. p.284-285. 2004.
- BATHINA, H.; JANOWICZ, P.; HEMLING, T. Teat sealants: comparison of external and internal sealants. **NMC Annual Meeting Proceedings.** 2004. CD ROM.
- BERRY, E.A. Recent evaluations of dry cow strategies. **NMC Annual Meeting Proceedings.** 2003. CD ROM
- BERRY, E.A. To dry treat or not? **Proceedings of the British Mastitis Conference.** Shepton Mallet., p. 37-43, 2002.
- BERRY, E.A.; HILLERTON, J.E. The effect of an intramammary teat seal on new intramammary infections. **Journal of Dairy Science.** v.85, p.2512-2520, 2002b.
- BERRY, E.A.; HILLERTON, J.E. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. **Journal of Dairy Science.** v.85, p. 112-121. 2002a.
- BERRY, E.A.; JOHNSTON, W.T.; HILLERTON, J.E. Effect of two selective dry cow strategies on quarter infection status at calving. **Proceedings of the British Mastitis Conference.** Brockworth, p.106-107, 2002.
- BOOTH, J.M. Progress in mastitis control – an evolving problem. **Proceedings of the British Mastitis Conference.** Stoneleigh, p.3-9, 1997.
- BRADLEY A.J., GREEN M.J., HUXLEY J.N. Making better use of milk samples:

Monitoring and investigating herd mastitis. **Cattle Practice**, v.10, n.2, p.105-112, 2002.

BRADLEY, A.J. Bovine mastitis: an evolving disease. **Veterinary Journal**. v.164, p. 116-128, 2002.

BRADLEY, A.J.; GREEN, M.J. A study of the incidence and significance of Gram-positive infections acquired during the dry period under UK field conditions. In: **Proceedings of the 40th Annual Meeting of the National Mastitis Council**, Reno, Nevada. Madison, WI: National Mastitis Council, p.185-186, 2001.

BRADLEY, A.J.; GREEN, M.J. The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v.20, p.547-568, 2004.

BRAMLEY, A.J. Infection of the udder with coagulase negative micrococci and *Corynebacterium bovis*. **Int. Dairy Fed. Annu. Bull.**, v.85, p.377-381, 1975.

BRAMLEY, A.J.; KINGWILL, R.G.; GRIFFIN, T.K. Prevalence of *Corynebacterium bovis* in bovine milk samples. **Vet. Rec.**, v.99, p.275, 1976.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; SILVA, M.A.S.; CARMO, R.A. Concentração mínima inibitória de antimicrobianos para amostras de *S. aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.10-17, 2001.

BROWNING, J.W.; MEIN, G.A.; BARTON, M.; NICHOLS, T.J.; BRIGHTLING, P. Effects of antibiotic therapy at drying-off on mastitis in the dry period and early lactation. **Australian Veterinary Journal**. v.67, p.440-442, 1990.

BURTON, J.L.; ERSKINE, R.J. Immunity and mastitis: some new ideas for an old disease. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v.19, p. 1-45, 2003.

BURTON, J.L.; MADSEN, S.A.; YAO, J.; SIPKOVSKI, S.S.; COUSSENS, P.M. An immunogenomics approach to understanding periparturient immunosuppression and mastitis susceptibility in dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v. 42, p. 407-424, 2001.

BUZZOLA, F. R.; QUELLE, L. S., *et al.* Molecular diversity of live-attenuated prototypic vaccine strains and clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Federation of European Microbiological Societies FEMS microbiology letters**, v.202, n.1, Aug, p.91-95. 2001.

BYARUGABA, D.K. A view on antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. **International Journal Antimicrobial Agents**, v.24, p.105-110, 2004.

COELHO, V. R. P. **Avaliação de resíduos de antimicrobianos no leite de quartos mamários não tratados de vacas com mastite tratadas por via intramamária**. Dissertação (Mestrado). Curso de Pós-Graduação em Qualidade e Produtividade Animal. FZEA-USP. São Paulo. 2003.

COMALLI, M.P.; EBERHART, R. J.; GRIEL Jr, L. C.; ROTHENBACHER, H. Changes in the microscopic anatomy of the bovine teat canal during mammary involution. **American Journal of Veterinary Research**. v.45, p.2236-2242, 1984.

COOK, N.B.; WILKINSON, A.; GAJEWSKI, K.; WEIGEL, D.; SHARP, P.; PIONEK, D. The prevention of new intramammary infections during the dry period when using an internal teat sealant in conjunction with a dry cow antibiotic. In: **World Buiatrics Congress 23**, 2004, Québec, Canadá. CD ROM.

CORBELLINI, C.N.; BENZAQUÉN, M.; WEINMAER, M.; JANOWICZ, P. Efficacy of a teat sealant applied on pre-calving cows in grazing system. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2, 2002, Ribeirão Preto, SP. **Anais...** São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2002. p.113.

COSTA, E.O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Rev. Edu. Cont.** São Paulo, v.1, n.1, p.3-9, 1998.

COSTA, E.O. Mastite: mecanismo de defesa da glândula mamária. **Pardo-Suiço em Revista** – Edição 39 – Anuário 98/99. Disponível em: <http://www.bichoonline.com.br/artigos/ps0009.htm>. Acesso em 05/03/2005, às 20:45 horas.

COSTA, E.O.; BENITES, N.R.; MELVILLE, P.A. et al. Estudo etiológico da mastite bovina. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.17, p.156-158, 1995.

COSTA, E.O.; BENITIS, N.R.; GUERRA, J.L.; GUERRA, J.L.; MELVILLE, P.A. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. Isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine**. v.47, p.99-103, 2000b.

COSTA, E.O.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W. et al. Etiologia bacteriana de mastite bovina no estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Microbiol.**, v.17, p.107-112, 1986.

COSTA, E.O.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W. et al. Sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos de bactérias isoladas de mastite bovina. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.5, p.65-69, 1985.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; WHITE, C.R.; PARDO, R.B. Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.17, n.5, p.215-217, 1995.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; VIANI, F.C.; MASCOLLI, R.; OLIVEIRA, P.J. Mastite bovina: CMT *versus* microbiológico. **Hora Veterinária**, v.15, n.89, p.53-54, 1996.

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

CRAVEN, N. Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation – a review. **British Veterinary Journal**. v.143, p.412-422, 1987.

CRAVEN, N.; WILLIAMS, M.R. Defenses of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.0, p.71-127, 1985.

CREASEY, J.; ARNOTT, G.; GREEN, M.J. et al. An investigation of the impact of application temperature on adherence of an external teat sealant. **Proceedings of the National Mastitis Council Annual Meeting**, Orlando, Florida, 2002. Madison

(WI): National Mastitis Council, p. 222-3. 2002.

CRISPIE, F.; FLYNN, J.; ROSS, R.P.; HILL, C.; MEANEY, W.J. Dry cow therapy with a non-antibiotic intramammary teat seal: a review. **Irish Veterinary Journal**. v.57, n.7, p.412-418, 2004.

DINGWELL, R. T.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K. E.; KEEFE, G.P. et al. The efficacy of intramammary tilmecocin at drying-off, and other risk factors for the prevention of new intramammary infections during the dry period. **Journal of Dairy Science**. v.85, p.3250-3259, 2002.

DINGWELL, R. T.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. Management of the dry cow in control of peripartum disease and mastitis. . **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. V.19, n.1, p.235-265, 2003.

DINGWELL, R.T.; LESLIE, K.E.; SCHUKKEN, Y.H.; SARGEANT, J.M.; TIMMS, L.L.; SHIRLEY, J.E. Evaluation of the California Mastitis Test to detect intramammary infections in early lactation. In: **Proced. 42nd Annual Meeting NMC**, 2003b. CD ROM.

DINGWELL, R.T.; TIMMS, L.L.; SARGEANT, J.M.; KELTON, D.F.; SCHUKKEN, Y.H.; LESLIE, K.E. The association of teat canal closure and other risk factors for new dry period intramammary infections. In: **Proced. 42nd Annual Meeting NMC**, 2003a. CD ROM.

DOMINGUES, P.F.; LANGONI, H.; ROCHA, N.S.; PADOVANI, C.R.; GONZALES, J.A.H.; BURINI, C.H.P. Citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) em glândula mamária de vacas com mastite subclínica. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, III, 1999, Botucatu/SP. **Anais...** Botucatu, 1999, p.142.

DUTT, K.W.; EBERHART, R.J.; WILSON, R.A. Invitro growth of mastitis pathogens in mammary secretions of the dry and peripartum periods. **Journal of Dairy Science**. v.69, n.9, p.2408-2415. 1986.

EBERHART, R. J. Management of dry cow to reduce mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.1721, 1986.

EGAN J.; MEANEY, W. J. Persistence of detectable residues of penicillin and cloxacillin in normal and mastitic quarters following intramammary infusion. **Vet. Rec.**, v. 116, n. 16, p. 436-438, 1985.

EMA – The European Agency for the Evaluation of Medical Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit. **Bismuth Subnitrate. (Extension to intramammary administration). SUMMARY REPORT (2)**. Oct. 1999. Disponível em <<http://eudra.org/emea.html>>. Acesso em 12/01/2006, às 21:00 hs.

ERSKINE, R. J. Mastitis therapy and pharmacology. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v.19, n.1, p.109-138, 2003.

ERSKINE, R.J.; CULLOR, J.; SCHAEFFELBAUM, M. et al. Bovine mastitis pathogens and trends in resistance to antibacterial drugs. In: **Proced. 43rd Annual Meeting NMC**. P.400-414, 2004.

FAGUNDES, H. **Ocorrência de resíduos de antimicrobianos utilizados no tratamento de interrupção de lactação no início da lactação subsequente em animais com período seco recomendado**. 2003, 76p. Dissertação (Mestrado). Curso de Pós-Graduação em Qualidade e Produtividade Animal. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos USP. Pirassununga, 2003.

- FARNSWORTH, R. J.; WYMAN, L.; HAWKINSON, R. Use of a teat sealer for prevention of intramammary infections in lactating cows. **JAVMA**. v.177, p. 441-444, 1980.
- FETROW, J.; STEWART, S.; EICKHER, S.; FARNSWORTH, R.; BEY, R. Mastitis: an economic consideration. In: **Proceedings of the 39th annual meeting of NMC**, Atlanta, GA. p.3-47. 2000.
- FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.
- FOX, L.K.; CHESTER, S.T.; HALLBERG, J.W.; NICKERSON, S.C.; PANKEY, J.W.; WEAVER, L.D. Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition.. **Journal of Dairy Science**. v.78, p. 1619–1628, 1995.
- FUNKE, G.; VON GRAEVENITZ, A.; CLARRIDGE, J.E.; BERNARD, K.A. Clinical microbiology of coryneform bacteria [review]. **Clin. Microbiol. Rev.** v.10, n.1, p.125-159, 1997.
- GILSON, 1995. **Interpreting and using mastitis screening tests**. University at Georgia, College of Agricultural & Environmental Sciences Bull. 913. Disponível em : <<http://ianrwww.unl.edu/pubs/dairy/g556.htm>> Acesso em 18/10/2005, às 15 horas.
- GODDEN, S.; RAPNICKI, P.; STEWART, S.; FETROW, J.; JOHNSON, A.; BEY, R.; FARNSWORTH, R. Effectiveness of an internal teat sealant in the prevention of new intramammary infections during the dry and early-lactation periods in dairy cows when used with an intramammary antibiotic. **Journal of Dairy Science**. v.86, p.3899-3911, 2003.
- GRACIOLLI, D.C. 2005 – mensagem pessoal. Ouro Fino Saúde Animal - <deovet@yahoo.com.br>. Mensagem recebida em 24/10/2005, às 09:58 hs.
- GREEN, M.J.; GREEN, L.E.; MEDLEY, G.F.; SCHUKKEN, Y.H.; BRADLEY, A.J. Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.85, p.2589-2599, 2002.
- GRUET, P., MAINCENT, P., BERTHELOT, X. AND KALTSATOS, V. Bovine mastitis and **intramammary** drug delivery: review and perspectives. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v.50, p.245-259, 2001.
- HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting SCC. **Journal of Dairy Science**.v.77, p. 2103–2112, 1994.
- HARMON, R.J.; CRIST, W.L.; HEMKEN, L.W.;LANGLOIS, B.E. Prevalence of minor udder pathogens after intramammary dry treatment. **Journal of Dairy Science**.v.69, p. 843-849, 1986.
- HASSAN, Z.; DANIEL, R.C.W.; O'BOYLE, D.O.; FROST, A.J. Effects of dry cow intramammary therapy on quarter infections in the dry period. **Vet. Rec.**, v.145, p.634-639. 1999.
- HEMLING, T.; HENDERSON, M.; LESLIE, K.E.; LIN, G.H.; TIMMS, L.L. Experimental models for the evaluation of the adherence of dry cow teat sealants. **Proceedings of 39th Annual Meeting National Mastitis Council**. Atlanta, Georgia. Madison, WI: National Mastitis council, p.248-249, 2000.
- HILLERTON, J.E.; BERRY, E.A. Treating Mastitis in the Cow – a tradition or an archaism. A Review. **Journal of Applied Microbiology**. n.98, p.1250-1255, 2005.

- HOGAN, J.S.; PANKEY, J.W.; DUTHIE, A.H. Growth inhibition of mastitis pathogens by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**. v.70, n.5, p.927-934, 1987.
- HOGAN, J.S.; SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Growth responses of environmental mastitis pathogens to long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**. v.71, n.1, p.249-249, 1988.
- HUXLEY, J.N.; GREEN, M.J.; BRADLEY, A.J. An investigation into the effects of using a dry period internal teat sealer on somatic cell count in the following lactation. In: **World Buiatrics Congress 23**, 2004, Québec, Canadá. CD ROM.
- HUXLEY, J.N.; GREEN, M.J.; GREEN, L.E.; BRADLEY, A.J. *Corynebacterium bovis* – friend or foe? **British Mastitis Conference**, Garstang. 2003.
- HUXLEY, J.N.; GREEN, M.J.; GREEN, L.E.; BRADLEY, A.J. Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. **Journal of Dairy Science**. v.85, p.551-561, 2002.
- KIRK, J.H.; BERRY, S.L.; REYNOLDS, J.P. et al. Sensitivity and specificity analysis for somatic cell count (SCC) used to predict bacteriologically positive subclinical mastitis at calving in a dairy herd with low SCC. **JAVMA**. v.288, p.1054-7, 1996.
- LAEVENS, H.; DELUYKER, H. SCHUKKEN, Y.H. et al., Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.12, p.3219-3226, 1997.
- LAFFRANCHI, A.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; DIAS, J.A.; SALVADOR, R. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**. vol.31, no.6, p.1027-1032. 2001.
- LANGONI, H.; DA SILVA, A.V. Perfil de sensibilidade de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite mastítico no estado de São Paulo. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, III, 1999, Botucatu/SP. **Anais...** Botucatu, 1999, p.164.
- LANGONI, H.; MENDONÇA, A. O.; DEVELLEY, A. Avaliação do uso da associação da bromexina com gentamicina no tratamento da mastite subclínica bovina. **Rev. NAPGAMA**, n. 1, p. 4-7, 2000.
- LANGONI, H.; PINTO, M.P.; DOMINGUES, P.F. et al. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v.43, p.507-515, 1991.
- LESLIE, K.E. New concepts on Bovine Mastitis Control. In: **World Buiatrics Congress 23**, 2004, Québec, Canadá. CD ROM.
- LESLIE, K.E.; DAY, J.K.; TENHAG, J.; KELTON, D.F.; KERBLER, T.L. Factors affecting the adherence of a dry cow sealant. **Proceedings of 38th Annual Meeting. National Mastitis Council**. Arlington, Virginia. Madison, WI: National Mastitis Council. P.136-137, 1999.
- LESLIE, K.E.; DINGWELL, R.T. Background to dry cow therapy: what, where, why – is it still relevant? **NMC Annual Meeting Proceedings** (2003). CD ROOM.
- LIM, G. H., LESLIE, K. E.; MORGAN, J.; DOW, B.; KELTON, D.; DUFFIELD, T.F.; TENHAG, J. An evaluation of the factors affecting the efficacy of a dry cow teat seal. In: **Proc. 39th Annu. Meet. of the NMC**. National Mastitis Council, Madison, WI.

p.245-246. 2000.

LIM, G.H.; LESLIE, K.E. The prophylactic Effect of a Dry Cow Teat Sealant and the Relationship to Adherence on the Teat-End. **World Buiatrics Congress**, Hannover, Germany. p.145, 2002.

MACKIE, D.P.; LOGAN, E.F.; POLLACK, D.A. et al. Antibiotic sensitivity of bovine staphylococcal and coliform mastitis isolates over four years. **Vet. Rec.** v.123, p.515-517, 1988.

MAKOVEC, J.A.; RUEGG, P.L. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8,905 samples (1994-2001). **J Am Vet Med Assoc.** v.222, p.1-8, 2003.

MARSHALL, R.T.; EDMONDSON, J.E.; STEVENS, B. 1993. Using the California Mastitis Test. Agri. pub. G 3653. Disponível em: <<http://muextension.missouri.edu/xplor/agguides/dairy/g03653.htm>> Acesso em 22/09/2005, às 21 horas.

MATTHEWS, K. R.; HARMON, R. J.; LANGLOIS, B. E. et al. Use of latex teat dip with germicide during the prepartum period. **Journal of Dairy Science**, v.71, p. 1940-6, 1988.

MCDERMOTT, M.P.; ERB, H.N.; NATZKE, R.P. Predictability by somatic cell counts related to prevalence of intramammary infection within herds. **Journal of Dairy Science.** v.65, p.1535-9, 1982.

MEANEY, W.J. Dry period teat seal. **Vet. Rec.** n.99, p.30. 1976.

MEANEY, W.J. Effect of a dry period teat seal on bovine udder infection. **Irish Journal of Agricultural Research.** v.16, p.293-299, 1977.

MILNES, A.; PLATTER, P. Gangrenous mastitis in a dairy herd. **Veterinary Record.** v.153, p.635, 2003.

MYLLYS, V.; ASPLUND, K.; BROFELDT, E.; HIRVELÄ-KOSKI, V.; HONKAREN-BAZALSKI, T.; JUNTILLA, J.; KULKANS, L.; MYLLYKANGAS, O.; NISKANEN, M.; SALONIEMI, H.; SANDHOLM, M.; SARANPÄÄ, T. Bovine mastitis in Finland in 1988 and 1995 – changes in prevalence and antimicrobial resistance. **Acta Veterinaria Scandinavica.** v.9, p.119-126, 1998.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis.** Virginia: WD Hoard & Sons Co., 1999.

NATSKE, R.P.; EVERETT, R.W.; BRAY, D.R. Effect of drying off practices on mastitis infection. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.1828-1835, 1975.

NICKERSON, S. C. Estratégias para controlar a mastite bovina. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1, 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Editora da UFPR, 1998. p. 20-27.

NICKERSON, S. C. O papel da terapia no controle da mastite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2, 2002, Ribeirão Preto, SP. **Anais...**São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2002. p.85-98.

NICKERSON, S.C. Immunological aspects of mammary involution. **Journal of Dairy Science.** v.72, p.1665-1678. 1989.

- NICKERSON, S.C.; BODDIE, R.L.; OWENS, W.E.; WATTS, J.L.. Effects of novel intramammary device models on incidence of mastitis after experimental challenge. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.10, p.2774-2784, 1990.
- O'ROURKE, D. Assessment of cows for use of a nonantimicrobial dry cow product. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p.1256-1260, 2005.
- OLIVER, S.P.; SORDILLO, L.M. Udder health in the periparturient period. **Journal of Dairy Science**. v.71, p.2584-2589, 1988.
- OTT, S. Costs of herd-level production losses associated with subclinical mastitis in US dairy cows. In: **Proceedings of the 38th annual meeting of NMC**. Arlington VA. p.152-156. 1999.
- PANKEY, J.W.; NICKERSON, S.C.; BODDIE, R.L.; HOGAN, J.S. Effects of *Corynebacterium bovis* infection on susceptibility to major mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**. v.68, p.2684-2693, 1985.
- PARKER, K.; COMPTON, C.; ANNISS, F.; HUER, C.; WEIR, A.; MCDOUGALL, S. Subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant pre-calving.. In: **World Buiatrics Congress 23**, 2004, Québec, Canadá. CD ROM.
- PARKINSON, T.J.; VERMUNT, J.J.; MERRAL, L.M. Comparative efficacy of three dry cow antibiotic formulations in spring calving New Zealand dairy cows. **N. Z. Vet. J.**, n.48, p.129-135, 2000.
- PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Editora Milkbizz: Belo Horizonte, 2002. 188p.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14ed. ESALQ: Piracicaba, 2000. 477p.
- POUTREL, B.; RAINARD, P. California Mastitis Test guide of selective dry cow therapy. **Journal of Dairy Science**. v.64, p.242-8, 1981.
- PYÖRÄLA, S. New strategies to prevent mastitis. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 37, p. 211-216, 2002.
- RADOSTITIS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. Mastitis control in dairy herds. In: RADOSTITIS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. (Eds.). **Herd health food animal production medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p.229-276.
- RAIA, R. B., COSTA, E. O., GARINO JÚNIOR, F., WATANABE, E. T., THIERS, F. O., GROFF, M. R. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **Rev. NAPGAMA**. v. 2, n. 1, p. 4 - 8, 1999.
- RENEAU, J.K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. **Journal of Dairy Science**. v.69, n.6, p.1708-1720, 1986.
- RIBEIRO, M.E.R.; SCHRAMM, M.; STUMPF JR, W.; VETROMILA, M.A.; MARTINS, P.R. Agentes causadores de mastite em vacas da raça Jersey, manejadas em estábulo "free-stall", na região de clima temperado. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, III, 1999, Botucatu/SP. **Anais...** Botucatu, 1999, p.133.
- RINDISING, R.B.; RODEWALD, R.G.; SMITH, A.R. et al. Complete versus selective dry cow therapy for mastitis control. **Journal of Dairy Science**. v. 61, p. 1483-97, 1978.

ROSENBERG, J.B.; LOVE, B.C.; PATTERSON, D.L. Bacterial cure and Somatic Cell Count response of dairy cows with a positive California Mastitis Test at calving to therapy with cephapirin sodium. In: **Proced. 42nd Annual Meeting NMC**, 2003. CD ROOM.

RUEGG, P. L. Investigation of mastitis problems on farms. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v.19, n.1, p.47-73, 2003.

RUEGG, P.L. **Managing the dry period for milk quality**. University of WI, Madison. Disponível em: <uwex.edu/milkquality/pdf/manage_dry_period_mastitis.pdf> Acesso em 05/09/2005, às 19:40 horas.

RYAN, M.P.; FLYNN, J.; HILL, C.; ROSS, R.P.; MEANEY, W.J. The natural food grade inhibitor, lactacin 3147, reduced the incidence of mastitis after experimental challenge with *Streptococcus dysgalactiae* in nonlactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.82, p.2625-2631, 1999.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3ed. FEPMVZ: Belo Horizonte, 2002. 265p.

SANDOHOLM, M.; KAARTNEN, L.; PYORALA, S. Bovine mastitis: why does antibiotic therapy not always work? An overview. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v.13, p.248-260, 1990.

SANFORD, C.; KEEFE, G.; LESLIE, K.; DOHOO, I.; BARKEMA, H Sensitivity and specificity of the califórnia mastitis test to identify the presence of intramammary infections on the day of dry off. In: **World Buiatrics Congress 23**, 2004, Québec, Canadá. CD ROM. 2004a.

SANFORD, C.; KEEFE, G.; LESLIE, K.; DOHOO, I.; BARKEMA, H.; DINGWELL, R.; DESCOTEAUX, L. Efficacy of an internal teat sealant (Orbeseal TM) for the prevention of new intramammary infections during the dry period. In: **Proced. 43nd Annual Meeting NMC**, 2004. CD ROM. 2004b.

SANFORD, C.; LESLIE, K.; KEEFE, G.; DOHOO, I.; STRYHN, H.; BASHIRI, A.; GROVES, B. The impact of an internal teat sealant, Orbeseal*, on the somatic cell counts and particles recovered in the first seven days post-calving. In: **World Buiatrics Congress 23**, 2004, Québec, Canadá. CD ROM. 2004c.

SARGEANT, J.M.; LESLIE, K.E.; SHIRLEY, J.E. et al. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. **Journal of Dairy Science**. v.84, p.2018-24, 2001.

SCHÄELLIBAUM, M. Resíduos de antibióticos no leite. In: Simpósio Internacional Sobre Qualidade do Leite, 2, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Editora da UFPR, 2000. p.89-94.

SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of California Mastitis Test. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.130, n.5, p.199-207, 1957.

SCHUKKEN, Y.; VAN DER GEER, D.; GROMMERS, F.; SMITH, J.; BRAND, A. Intramammary infections and risk factors for clinical mastitis in herds with low somatic cell counts in bulk milk. **Veterinary Record**. v.25, p. 393-396, 1989.

SCHUKKEN, Y.H.; VANVLIET, J.; VANDEGEER, D. A randomized blind trial on dry cow antibiotic infusion in a low somatic cell count herd. **Journal of Dairy Science**. v.76, p.681-684.1993.

- SHELDRAKE, R.F.; HOARE, R.J.T.; MCGREGOR, G.D. Lactation stage, parity and infection affecting somatic cells, electrical conductivity and serum albumin in milk. **Journal of Dairy Science**. v.66, p.542-547, 1983.
- SMITH, A.; WESTGARTH, D.R.; JONES, M.R.; NEAVE, F.K.; DODD, F.H.; BRANDER, G.C. Methods of reducing incidence of udder infection in cows. **Veterinary Record**. v.81, p. 504-511, 1967.
- SMITH, K.L.; HOGAN, J.S. Environmental mastitis. In: ANDERSON, K.L. Update on Bovine Mastitis. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v.9, n.3, p.489-497, 1993 .
- SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Environmental Mastitis: Cause, Prevalence, Prevention. **Journal of Dairy Science**. v.68, p.1531, 1985a.
- SMITH, K.L., TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. **Journal of Dairy Science** . v.68, p.402, 1985b.
- SORDILLO L.M., SHAFERWEAVER K., DEROSA D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**. v.80, n.8, p.1851-1865, 1997.
- SORDILLO, L.M.; STREICHER, K.L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**. v.7, p.135-146, 2002.
- THIERS, F.O.; BENITES, N.R.; RIBEIRO, A.R.; COSTA, E.O. Correlação entre contagem direta de células somáticas e o teste de “California Mastitis Test” (CMT) no leite de vacas. **NAPGAMA**, v.2, n.4, p.9-12, 1999.
- THURMOND, M. C. Epidemiologic methods in mastitis treatment and control. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v.9, n.3, p.435-468, 1993.
- TIMMS, L. Milk Quality Programs for Heifers and Transition Cows. **Advances in Dairy Technology**. v.16, p.177-192, 2004.
- TIMMS, L. L. Field trial evaluation of a persistent barrier teat dip for preventing mastitis during the dry period. **Journal of Dairy Science**, v.80 (Suppl. 1), p.225. 1997.
- TIMMS, L.L. Field trial for evaluation of a persistent barrier teat dip for preventing mastitis during the dry period, p.201. In: **IDF Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland**, Stresa. 2000.
- TWOMEY, D.P.; WHEELLOCK, A.I.; FLYNN, J.; MEANEY, W.J.; HILL, C.; ROSS, R.P. Protection against *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy cows using a bismuth-based teat seal containing the bacteriocin, lacticin 3147. **Journal of Dairy Science**. v.83, p.1981-1988, 2000.
- VAKULENKO, S.B.; MOBASHERY, S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. **Clinical Microbiology Reviews**, p.430-450, jul. 2003.
- VOLTOLINI, T.V.; SANTOS, G.T.; ZAMBOM, M.A.; RIBAS, N.P.; MULLER, E.E.; DAMASCENO, J.C.; ÍTAVO, L.C.V.; VEIGA, D.R. Influência dos estádios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. **Acta Scientiarum**. Maringá, v. 23, n. 4, p. 961-966, 2001.

WATANABE, E.T.; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.B.; GARINO JUNIOR, F.; COSTA, E.O. Avaliação *in vitro* e *in vivo* da eficiência dos antimicrobianos no tratamento de casos de mastite clínica bovina. **Rev. NAPGAMA**, v.4, n.1, p.9-14, 2001.

WATTS, J.L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**. v.16, p.41-46, 1988.

WELLENBERG, G.L.; VAN DER POEL, W.H.M.; VAN ORSCHOT, J.T. Viral infections and bovine mastitis: a review. **Veterinary Microbiology**. v.88, p. 27-45, 2002.

WILLIAMSON, J.H. Strategies for protecting the teat at dry-off. . In: **Proceedings of the 40th Annual Meeting of the National Mastitis Council**, Reno, Nevada. Madison, WI: National Mastitis Council, p.88-94, 2001.

WILLIAMSON, J.H.; WOOLFORD, M.W.; DAY, A.M. The prophylactic effect of a dry cow antibiotic against *Streptococcus uberis*. **New Zealand Veterinary Journal**. v.43, p.228-234, 1995.

WOOLFORD, M.W.; WILLIAMSON, J.H.; DAY, A.M.; COPERMAN, P.A.J. The prophylactic effect of a teat sealer on mastitis during the dry period and the following lactation. **New Zealand Veterinary Journal**. v.46, p.12-19, 1998.

ZIV, G.; GORDIN, S.; BECHAR, M. S. Mode of antibiotics from treated to nontreated quarters in dairy cows. **Am. J. Vet. Res.**, v. 35, n. 5, p. 643-647, 1974.