

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

LUIS OLIVEIRA LOPES

TRATAMENTO SELETIVO NA SECAGEM DE VACAS LEITEIRAS

UBERLÂNDIA

2018

LUIS OLIVEIRA LOPES

TRATAMENTO SELETIVO NA SECAGEM DE VACAS LEITEIRAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como exigência parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Saúde Animal

Orientadora: Profa. Dra. Anna Monteiro Correia Lima.

UBERLÂNDIA, MG

JULHO/2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

L864t Lopes, Luis Oliveira, 1983
2018 Tratamento seletivo na secagem de vacas leiteiras [recurso eletrônico] / Luis Oliveira Lopes. - 2018.

Orientador: Anna Monteiro Correia Lima.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2018.500>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Veterinária. 2. Leite - Qualidade. 3. Mastite. 4. Microorganismos.
I. Lima, Anna Monteiro Correia, (Orient.) II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



Ata da defesa de **TESE DE DOUTORADO** junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: **TESE DE DOUTORADO Nº PPGCV/014/2018**

Data: 10/07/2018

Discente: **Luis Oliveira Lopes** – Matrícula – 11413MEV015

Título da Tese: **TRATAMENTO SELETIVO NA SECAGEM DE VACAS LEITEIRAS**

Área de concentração: **SAÚDE ANIMAL**

Linha de pesquisa: **CLÍNICA MÉDICA E INVESTIGAÇÃO ETIOLÓGICA**

Projeto de Pesquisa de vinculação: **ESTUDOS DE EPIDEMIOLOGIA, DE NOVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO E PREVENÇÃO DE DOENÇAS BACTERIANAS EM ANIMAIS DOMÉSTICOS E SELVAGENS**

Aos 10 dias do mês de julho do ano de 2018 às 09:00 horas no Anfiteatro da Biblioteca – Bloco 4G – Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Comissão Julgadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, composta pelos Professores/Doutores: **Alex de Matos Teixeira** – UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA; **Leonardo de Oliveira Fernandes** –EPAMIG; **Marcos Bryan Heinemann** – UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO; **Euler Rabelo** – Rehagro Ensino e **Anna Monteiro Correia Lima** orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da comissão Dr./Dra. Anna Monteiro Correia Lima concedeu a palavra ao/a candidato(a) para a exposição do seu trabalho, contando com o tempo máximo de 50 minutos. A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a), durante o prazo máximo de (30) minutos, assegurando-se a mesma igual prazo para resposta. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Comissão Julgadora, em sessão secreta, considerou o(a) candidato(a) APROVADO.

Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme Regulamento do Programa, Legislação e a Regulamentação Interna da UFU.

Os trabalhos foram encerrados às 13 horas e 50 minutos, e para constar, lavrou-se a presente ata que será assinada pelos membros da Comissão Examinadora. Uberlândia, 10 de julho de 2018.

Prof. Dr. Alex de Matos Teixeira

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Dr. Leonardo de Oliveira Fernandes
EPAMIG - UBERABA

Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Dr. Euler Rabelo
REHAGRO ENSINO

Profa. Dra. Anna Monteiro Correia Lima

ORIENTADORA

TRATAMENTO SELETIVO NA SECAGEM DE VACAS LEITEIRAS

Tese aprovada para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, da Universidade Federal de Uberlândia, pela banca examinadora formada por:

Uberlândia, 10 de julho de 2018.

Profa. Dra. Anna Monteiro Correia Lima (Orientadora) – FAMEV/UFU

Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann

Prof. Dr. Alex de Matos Teixeira

Prof. Dr. Euler Rabelo

Prof. Dr. Leonardo de Oliveira Fernandes

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUIS OLIVEIRA LOPES - Nascido em Uberaba, Estado de Minas Gerais, em 07 de Dezembro de 1983, casado, filho de Roberto Martins Lopes e Marilda Oliveira Lopes. Médico Veterinário, graduado em dezembro de 2005 pela Universidade de Uberaba (UNIUBE). Quatro especializações concluídas, Pecuária Leiteira (REHAGRO), Bovinocultura leiteira (PUC/BETIM), Higiene e inspeção de produtos de origem animal (QUALITTAS) e manejo de pastagens (FAZU/Uberaba). Mestrado concluído na Universidade de Uberaba (UNIUBE) em 2013 na área de sanidade e produção animal. Experiência como médico veterinário de campo do período de 2006 a 2016, na Coopatos(Cooperativa), na área de clínica e cirurgia, qualidade de leite e responsável técnicos por 3 lojas agropecuárias e laticínio da empresa em Lagoa Grande. Atualmente é Professor Assistente II, na área de clínica e cirurgia em Bovinos e na área de bovinocultura de leite e de corte, do Centro Universitário de Patos de Minas-UNIPAM. Proprietário da empresa Bovina Consultoria, i9Vet e Consultor de propriedades de leite e corte na região do Alto Paranaíba.

"Insanidade é continuar fazendo sempre a mesma coisa e esperar resultados diferentes"

Albert Einstein

*Aos pais pelo incentivo aos estudos,
Aos meus filhos pela motivação e razão da busca contínua,
A esposa pelo companheirismo e paciência.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo o dom da vida e saúde,

Aos meus pais pelo incentivo aos estudos, desde pequeno e esforço de me tornar um bom profissional.

Aos meus filhos Luis Artur e Luiza Clara pela compreensão da minha ausência em alguns momentos.

A minha esposa Kathia pela cumplicidade e amor em todos os momentos .

A minha eterna querida amiga e orientadora Anna Monteiro Correia Lima, que me acolheu, ensinou com sua humildade e bondade.

Aos professores, técnicos e amigos da Universidade Federal de Uberlândia que contribuíram para realização deste trabalho.

A equipe do LADOC pelo apoio ao projeto de pesquisa.

A UNIPAM pelo incentivo aos estudos.

As minhas colegas de Doutorado e trabalho, Nadia Grandi Bombonato e Mariana Assunção de Souza pelo companheirismo e amizade.

A professora Camila Raineri pela paciência e colaboração durante o trabalho.

A CAPES pelo apoio a pesquisa.

Aos professores que aceitaram compor esta banca de defesa, Dr. Marcos Bryan Heinemann, Dr. Alex de Matos Teixeira, Dr. Euler Rabelo, Dr. Leonardo de Oliveira Fernandes. Obrigado por se disponibilizarem a realizar a leitura, correções, críticas e avaliação deste trabalho.

Muito obrigado a todos!

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS | |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 OBJETIVOS..... | 17 |
| 2.1 Objetivo Geral..... | 17 |
| 2.2 Objetivos Específicos..... | 17 |
| 3 REVISÃO DE LITERATURA..... | 18 |
| 3.1 Caracterização da mastite..... | 18 |
| 3.2 Epidemiologia e controle da mastite..... | 19 |
| 3.3 Diagnóstico da mastite..... | 20 |
| 3.4 Tratamento da mastite..... | 21 |
| 3.5 Métodos de secagem de vacas leiteiras..... | 23 |
| 3.6 Tratamento seletivo na secagem de vacas leiteiras..... | 24 |
| 3.7 Uso do selante no período seco..... | 25 |
| 4 REFERÊNCIAS..... | 27 |
| CAPÍTULO 2 – Indicadores de infecção da glândula mamária no final da lactação em vacas leiteiras..... | 37 |
| CAPÍTULO 3 – DECISÃO RACIONAL SOBRE O USO DE ANTIBIÓTICOS NO PERÍODO DE SECAGEM EM VACAS LEITEIRAS..... | 56 |
| CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 84 |
| ANEXO I..... | 85 |

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

| | | |
|--|----|----|
| Tabela 1. Frequência de microrganismos isolados em vacas no final da lactação coletadas | no | D- |
| 70..... | | 54 |
| | | |
| Tabela 2. Média e desvio padrão do número de partos, produção, ECS, CCS e HQ entre os tetos positivos e negativos nos resultados da cultura microbiológica do leite, em amostras coletadas no | no | D- |
| 70..... | | 54 |
| | | |
| Tabela 3. Resultado da Sensibilidade (S) e Especificidade (E) do teste de CMT em relação à cultura microbiológica do leite em tetos nas amostras coletadas no D-70 | | 55 |

| | | | |
|--|-----------|----|----|
| Tabela 4. Resultado da Sensibilidade (S) e Especificidade (E) do teste de CCS em relação à cultura microbiológica do leite quanto ao número de animais nas amostras | coletadas | no | D- |
| 70..... | | | 55 |

| | |
|---|----|
| Tabela 5. Comparação de resultados dos exames de CCS, cultura e CMT entre número de vacas e tetos coletados no | D- |
| 70..... | 55 |

CAPÍTULO 3

| | | | |
|---|----|------|----|
| Tabela 1. . Média e Desvio Padrão do teste de CMT e HQ em cada grupo de tratamento | no | D-70 | e |
| D14..... | | | 68 |

| | | | |
|--|----|------|----|
| Tabela 2. Número de microrganismos isolados em amostras de leite em relação aos grupos de tratamentos | no | D-70 | e |
| D14..... | | | 70 |

| | | |
|---|-------|----|
| Tabela 3. Custo estimado do tratamento seletivo na secagem de vacas leiteiras conforme cada método de diagnóstico em tetos positivos e negativos | | 76 |
|---|-------|----|

LISTA DE FIGURAS**CAPÍTULO 3**

Figura 1. Descrição dos procedimentos realizados antes (D-70 D-60) e após o parto

(D14).....63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Português

CCS- contagem de células somáticas
CMT- California Mastitis Test
D14- 14 dias após o parto
D-70- 70 dias antes da previsão do parto
ECS- Escore de Células Somáticas
HQ- Hiperqueratose
TCT- Teste da Caneca Telada (TCT)

Inglês

BDCT-Blanket Dry Cow Therapy
HK- Hyperkeratosis
SCC- Somatic Cell Count
SCS- Somatic Cell Score
SCT- Strip Cup Test
SDCT- Selective Dry Cow Therapy

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES GERAIS

**NORMAS CONFORME ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS
(ABNT)**

1 INTRODUÇÃO

A mastite ainda é um grande problema que causa diversos prejuízos na produção leiteira mundial. Além da diversidade de agentes envolvidos nas infecções intramamárias (IMI) que dificulta o tratamento imediato, ao longo do tempo intensificou a produção leiteira, aumentando o desafio em relação ao ambiente. Além do ambiente e diversidade de agentes, existe a preocupação com a saúde do animal, principalmente de forma preventiva, que influencia diretamente no sistema imune dos animais (OVERTON; MCART; NYDAM, 2017).

Com a necessidade de animais cada vez mais produtivos e com criações intensivas, aumenta o risco de infecção, exigindo assim mais cuidados com o manejo dos animais dentro da propriedade leiteira (RUEGG, 2017).

O Brasil foi considerado o quinto maior produtor de leite do mundo (FAO, 2016) com volume de produção de 36,27 bilhões de litros de leite cru e resfriado em 2016. Com a necessidade de animais cada vez mais produtivos e com criações intensivas, aumenta o risco de contaminações, exigindo assim mais cuidados com o manejo dos animais dentro da propriedade leiteira (STEVENS; PIEPERS; DE VLIEGHER, 2016).

Existem recomendações de vários órgãos oficiais de saúde em todo o mundo, com objetivo de diminuir o uso de antibióticos na produção animal, para diminuir o risco de resistência bacteriana a antibióticos, e possível presença de resíduos nos produtos de origem animal (BRESSMANN, 2004; DAS; PATRA, 2017; KELLY et al., 2016; REARDON, 2014; SHARLAND et al., 2018; VAN PUYVELDE; DEBORGGRAEVE; JACOBS, 2018; WELLS; PIDDOCK, 2017).

Existe uma grande pressão da sociedade para melhorar a qualidade dos alimentos, sem antibióticos e medicamentos mais naturais, dentre estes, o leite. Como, na atualidade,

as pessoas como consumidoras de bens de consumo e alimentos tem grande poder de persuasão sobre a indústria e sobre os produtores de alimento de modo geral, foi lançado no Brasil o Programa Nacional de Qualidade do Leite (PNQL) para melhoria na qualidade do leite produzido (BRASIL, 2011), o leite contaminado por resíduos de antibióticos é considerado impróprio para consumo humano, representando riscos para a saúde pública.

A antibioticoterapia no período pré-parto para controle e profilaxia da mastite tem sido adotada indiscriminadamente no momento da secagem de vacas leiteiras, sendo imprescindível analisar os efeitos dessa prática sobre a qualidade do leite (VAN PUYVELDE; DEBORGGRAEVE; JACOBS, 2018). Sabe-se que conforme o manejo pré-parto, com influência do ambiente, pode se alterar a incidência de infecções nos animais, necessitando de ferramentas de controle preventivo (RUEGG, 2017).

O uso do tratamento seletivo de tetos no momento da secagem, com ou sem antibióticos, tem sido amplamente utilizada e estudada no mundo todo, como medida de controle e prevenção de mastite no período seco entre lactações, portanto sem uma definição prática sobre o assunto, necessitando de mais estudos para padronizar a condutas de secagem de vacas, com objetivo de diminuir o uso de antibióticos, em tetos sem mastite subclínica (GUIMARÃES et al., 2017; HIGGINS et al., 2017a, 2017b).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o uso do tratamento seletivo de tetos no processo de secagem em vacas leiteiras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o uso do tratamento seletivo de tetos no processo de secagem em vacas leiteiras.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o uso do tratamento seletivo de tetos no processo de secagem em vacas leiteiras.
- Avaliar testes de diagnóstico que deve ser utilizado para detectar mastite subclínica no final da lactação.
- Avaliar a necessidade do uso de antibióticos em vacas no período de secagem.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Caracterização da mastite

A palavra mastite ou mamite bovina origina-se do grego “*mastos*” (mama) e *ite* (inflamação). O termo designa a inflamação da glândula mamária, provocada por causas físicas, químicas e biológicas, tais como: traumatismos ou lesões no úbere, e patógenos. Essa enfermidade acarreta alteração no aspecto físico-químico do leite, além de poder causar transtornos à saúde humana (POIZAT et al., 2017).

Possivelmente ocorre a perda da funcionalidade do quarto mamário atingido e manifesta-se sob duas maneiras: mastite clínica e subclínica. A mastite pode apresentar edema mamário, presença de coágulos, sangue e exsudato no leite, além de dor e hipertermia local (SANTMAN-BERENDS et al., 2016).

O efeito de animal dentro de rebanho, como ordem de parto e período de lactação também influenciam na variação da CCS de vacas leiteiras de rebanhos comerciais (GUIMARÃES et al., 2017; RUEGG, 2017; ZHANG et al., 2016).

Infecções por *Staphylococcus aureus* possui uma grande capacidade de penetração na glândula mamária, podendo formar formação de tecido fibroso, formando “bolsões” de bactérias, que limita a ação dos antibióticos, caracterizando a infecção como de longa duração, crônica, baixa taxa de cura, seja espontânea ou por antibióticos (TAPONEN et al., 2017).

O grau de susceptibilidade varia conforme o rebanho e conforme a espécie do *Staphylococcus spp.* (BERCHTOLD et al., 2014). As duas mais comuns fontes de introdução do *Staphylococcus aureus* são aquisição de animais infectados e ordenhadores carregando a bactéria para a fazenda (BERCHTOLD et al., 2014; RUEGG, 2017).

A produção da coagulase por *Staphylococcus aureus* constitui um importante determinante fenotípico, uma vez que está associada à virulência desses microrganismos

(BERCHTOLD et al., 2014). Métodos de sequenciamento genético permitem a identificação de vários patógenos bacterianos (WANG et al., 2016), porém por outro lado existe a necessidade de testes de baixo custo, que na maioria das vezes, não estão na rotina diagnóstica de laboratórios na área veterinária (CANTEKIN et al., 2015; MAHMMOD et al., 2013; STEELE et al., 2017).

Os *Staphylococcus coagulase negativos* (SCN) ou *Staphylococcus* não aureus (SNA), são grupos de bactérias importantes causadoras de mastite, essas bactérias geralmente estão presentes na pele do teto (CONDAS et al., 2017; STEVENS et al., 2018). O termo coagulase negativo refere-se ao teste laboratorial que difere do *Staphylococcus aureus*.

As espécies mais comuns de SCN são os *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* e *Staphylococcus xylosus* (CONDAS et al., 2017; VANDERHAEGHEN et al., 2015)

Infecções intramamárias são a maior causa de aumento de CCS, com a bactéria *Streptococcus agalactiae*, geralmente com altos valores de CCS (BOBBO et al., 2017), mas com alta taxa de cura no tratamento durante a lactação e período seco (ZHANG et al., 2018b).

3.2 Epidemiologia e controle da Mastite

A mastite é a doença infectocontagiosa mais comum em rebanhos bovinos destinados à produção de leite, sendo caracterizada pela inflamação da glândula mamária, em resposta à invasão de micro-organismos contagiosos ou ambientais. A enfermidade pode manifestar-se de forma clínica ou subclínica, causando alterações físico-químicas e microbiológicas no leite (VARGAS et al., 2014).

É uma patologia de grande perda econômica para a bovinocultura de leite no mundo inteiro (GUIMARÃES et al., 2017). Os prejuízos são na maior parte na perda de produção leiteira devido a mastite subclínica (OLIVARES-PÉREZ et al., 2015). A transmissão de mastite geralmente se deve a deficiência de equipamento de ordenha, mãos do ordenhador como fonte de infecção, contaminação da pele do teto ou contaminação no ambiente (RUEGG, 2017).

Adequado pavimento, limpeza regular do piso, regular dipping do teto durante a ordenha, o tratamento imediato de novos casos clínicos, a identificação da mastite subclínica e terapia da vaca seca podem reduzir a prevalência de mastite (LITWIŃCZUK; KRÓL; BRODZIAK, 2015)

Embora as perdas sejam aparentemente maiores no caso de mastite clínica, a prevenção e o controle da mastite subclínica devem merecer especial atenção dos produtores de leite, pois, por sua ocorrência não ser tão evidente como a da mastite clínica, pode resultar em prevalências mais altas, acarretando grandes ônus, seja pela diminuição da produção de leite ou por risco de contaminações (PETERS; SILVEIRA; FISCHER, 2015).

Os principais fatores de risco para ocorrência de mastite subclínica em vacas leiteiras são geralmente as características dos animais, o manejo inadequado, inexistência de treinamento dos ordenhadores, a não utilização de serviços laboratoriais para identificação dos patógenos e o uso de equipamentos de ordenha sem manutenção periódica (LITWIŃCZUK; KRÓL; BRODZIAK, 2015).

3.3 Diagnóstico da mastite

Para o diagnóstico da mastite clínica é usado na rotina diária do manejo de ordenha o teste da caneca telada, que avalia a presença de grumos nos primeiros jatos de leite, antes do processo inicial de ordenha.

Para o diagnóstico de mastite subclínica é utilizado os exames para detecção direta dos microrganismos, como o PCR (reação em cadeia polimerase) e exame de cultura microbiológica (STEELE et al., 2017), e para a detecção indireta são utilizados os exames de CCS, CMT e condutividade elétrica (BHUTTO; MURRAY; WOLDEHIWET, 2012).

A cultura de microrganismos tem sido muito utilizada no diagnóstico de mastite subclínica e clínica, identificando o agente causador, facilitando assim o tratamento do animal afetado, com possibilidade de realizar o Teste de Sensibilidade à Antibióticos (TSA) (HERTL et al., 2014).

O exame de PCR para diagnóstico da mastite subclínica ainda é pouco usado no campo, é mais usado para trabalho de pesquisa, principalmente pelo preço elevado do equipamento e pessoas treinadas a trabalhar com a tecnologia, porém com sensibilidade e especificidade maior que qualquer outro teste de diagnóstico (CANTEKIN et al., 2015; STEELE et al., 2017).

As células somáticas (CCS) são as células de defesa do animal originadas do sangue que migram para o úbere e também as células de descamação da glândula mamária, que aumentam em sua maioria quando microrganismos invadem a glândula mamária (MORE et al., 2013). Uma alta CCS no leite de uma vaca indica que provavelmente existe infecção em pelo menos um quarto mamário do úbere, os valores de CCS considerado normais, em várias pesquisas no mundo são abaixo 200.000 cels/mL leite (CAMERON et al., 2015; DOWN et al., 2016; GOLDER; HODGE; LEAN, 2016; JASHARI; PIEPERS; DE VLIEGHER, 2016; PETZER et al., 2017; SCHERPENZEEL et al., 2014).

3.4 Tratamento da mastite

Há mais de 40 anos, os antimicrobianos são utilizados em animais destinados à produção de alimentos, em bovinos, aves e suínos. Consoante a Organização Mundial da

Saúde (OMS), antibióticos são fármacos produzidos por microrganismos ou seus equivalentes sintéticos, capazes de inibir o crescimento ou destruir os patógenos, mesmo em doses mínimas (POIZAT et al., 2017).

A diminuição estratégica do uso de antibióticos e os resultados no tratamento da mastite estão diretamente relacionados com a resposta imune do animal aos microrganismos, e com influência direta com o manejo e desafios no ambiente (TREVISI et al., 2014).

A aplicação de antimicrobianos para a mastite pode ser intramamária ou parenteral (THOMAS et al., 2015). A aplicação intramamária é mais indicada no caso de mastite subclínica (STEVENS et al., 2018) e associada com antibiótico via parenteral em mastite clínica (TOMAZI et al., 2018).

Existem diversos antibióticos disponíveis no mercado, mas as principais classes empregadas em medicina veterinária são: os betalactâmicos, os macrolídeos e os aminoglicosídeos (STEVENS et al., 2018). Diversos betalactâmicos são utilizados em vacas de aptidão leiteira, como as penicilinas, cloxacilina, amoxicilina e ampicilina (RUNCIMAN; MALMO; DEIGHTON, 2010; SADASHIV; KALIWAL, 2015).

Existe a necessidade da realização periódica de testes de sensibilidade *in vitro*, pois existem variações no perfil de sensibilidade e resistência que podem comprometer o tratamento do animal bem como os programas de controle da mastite bovina causada pelo *Staphylococcus* spp. (THIRAN et al., 2018).

Entretanto ainda existem produtores rurais ou até mesmo médicos veterinários que não tem cuidado para indicar e utilizar antimicrobianos. Scherpenzeel et al., (2018) avaliaram na Holanda a indicação de médicos veterinários aos produtores, e observaram que está evoluindo o uso consciente de antibióticos. Higgins et al. (2017b) relataram a

necessidade do médico veterinário liderar a mudança sobre o uso racional de antibiótico no Reino Unido.

3.5 Métodos de secagem de vacas leiteiras

A secagem de vacas leiteiras é muito importante para a recuperação da saúde da glândula mamária da vaca para o próximo parto (DE VRIES et al., 2015). A secagem de vacas leiteiras em lactação ocorre entre 45 a 60 dias antes do parto previsto ou devido a uma baixa produção de leite na lactação (GOLDER; HODGE; LEAN, 2016).

A forma mais usada para secagem é a abrupta, com aplicação do antibiótico intramamário e associado ao selante interno, após a última ordenha (GOTT et al., 2017). Mas a forma de secagem gradual é indicado para primíparas, com produção maior no próximo parto, e menor risco de infecções intramamárias (IMI) (GOTT et al., 2016).

A base do antibiótico intramamário a ser utilizado varia conforme cada propriedade leiteira, sendo utilizada para tratar uma possível mastite subclínica e evitar uma nova infecção no quarto mamário. Geralmente é usado sem critério técnico, sendo usado em todos os tetos (VANHOUDT et al., 2018). Fármacos para o tratamento de vacas no período seco devem ser empregados apenas neste período, porque são formulados para atuarem por mais tempo no úbere, com maior concentração do antibiótico (WEBER et al., 2015).

A terapia vaca seca é necessária para o controle de infecções intramamárias no rebanho, porém deve se estudar qual fármaco usar na propriedade, pois podem ter diferentes resultados (SANTMAN-BERENDS et al., 2016). Níveis terapêuticos dos antibióticos na secagem podem persistir em média 14 a 28 dias após a aplicação, sendo incapazes de proteger o úbere durante todo o período seco (KUIPERS; KOOPS; WEMMENHOVE, 2016).

Terapia da vaca seca com antibióticos pode diminuir a incidência de infecções existentes na secagem e reduzir a incidência de novas infecções durante o período seco (SCHERPENZEEL et al., 2016b). Utiliza-se antibióticos intramamários, com ação prolongada para prevenir ou tratar uma infecção preeexistente (WITTEK et al., 2018). O antibiótico a ser utilizado deve ser baseado no histórico de resistência de mastite clínica e subclínica de cada propriedade (STEELE et al., 2017).

Atualmente com as limitações do uso de antibióticos na saúde animal por diversos órgãos de saúde mundial, recomenda-se o uso racional e responsável de antibióticos, e com melhor manejo profilático dos animais (MARTIN et al., 2018; STEVENS; PIEPERS; DE VLIEGHER, 2016; VAN PUYVELDE; DEBORGGRAEVE; JACOBS, 2018; ZHANG et al., 2018b). A tendência no manejo de secagem de vacas leiteiras é usar antibiótico apenas em vacas com mastite, e utilizando outra substância, geralmente inerte, funcionando como um tampão no teto, chamado de selante interno de teto (GOLDER; HODGE; LEAN, 2016).

3.6 Tratamento seletivo na secagem de vacas leiteiras

O tratamento seletivo na secagem de vacas leiteiras (SDCT) está sendo muito discutido atualmente devido a proibições do uso preventivo de antibiótico na mastite de vacas leiteiras na Europa (SCHERPENZEEL; SANTMAN-BERENDS; LAM, 2018). O SDCT faz uma avaliação prévia das vacas no final da lactação, com variação de metodologia a serem empregadas (SCHERPENZEEL; SANTMAN-BERENDS; LAM, 2018)

. A maioria dos pesquisadores na avaliação do SDCT, trabalham com seleção por animal, com seu histórico de CCS durante a lactação, geralmente com ponto de corte de 150×10^3 cels/mL de leite para primíparas e 200×10^3 para multíparas (CAMERON et al., 2014, 2015; HIGGINS et al., 2017a; SCHERPENZEEL et al., 2016b).

O tratamento seletivo de tetos usando antibióticos apenas nas vacas com mastite subclínica, tem como objetivo diminuir o uso de antibióticos, visando a segurança alimentar, com consequente diminuição da resistência dos microrganismos aos antibióticos usados, que muitas vezes, semelhantes aos usados no ser humano (SCHERPENZEEL et al., 2017).

A maioria dos antibióticos utilizados são beta-lactâmicos, como a penicilina e neomicina (SCHERPENZEEL et al., 2014) e cefalosporina (OSPINA et al., 2016; VASQUEZ et al., 2018) e cloxacilina (JOHNSON et al., 2016). A utilização do antibiótico para a secagem de vacas deve ser com base no histórico de cultura e antibiogramas de cada propriedade, pois pode variar a resistência de microrganismos aos diferentes antibióticos (STEELE et al., 2017).

Em países da Europa foi proibido o uso de antibióticos na prevenção de mastite no período seco, visando maior segurança alimentar e menor resistência bacteriana aos fármacos (BRITT et al., 2018; FITCHETT; ATUN, 2016; KELLY et al., 2016; REARDON, 2014; RENAULT et al., 2018; TACCONELLI et al., 2017; VAN PUYVELDE; DEBORGGRAEVE; JACOBS, 2018).

3.7. Uso do selante interno no período seco

O selante interno geralmente usado é a base de um produto inerte, que funciona como uma barreira mecânica, contra a entrada de microrganismos na glândula mamária durante o período seco (MACHADO; BICALHO, 2018).

Comercialmente a base mais utilizada é o subnitrato de bismuto, com indicação de ser realizado após a aplicação do antibiótico no quarto mamário na secagem de vacas leiteiras (GOLDER; HODGE; LEAN, 2016).

Usado na prevenção da mastite, o selante evita contaminação de origem ambiental devendo ser usado em conjunto com antibiótico nos tetos com mastite subclínica (RUEGG, 2017). Em casos de tratamento seletivo de tetos, nos quartos mamários sem infecção, poderá ser aplicado somente o selante, evitando a contaminação no período seco (POIZAT et al., 2017).

As vacas próximas ao parto tem imunidade menor, apresentando alta incidência de casos de infecções intramamárias (CROOKENDEN et al., 2017), com possibilidade de agravar caso o animal não tenha um bem estar adequado (OVERTON; MCART; NYDAM, 2017). O selante interno impede a entrada de agentes, garantindo a saúde da glândula mamária para a próxima lactação (HIGGINS et al., 2017a).

REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS

- AKERS, R. M. A 100-Year Review: Mammary development and lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10332–10352, dez. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12983>
- ALEKISH, M. O. et al. Bacteriological cure rate and changes in milk composition in mastitis vaccinated ewes affected with subclinical mastitis. **Veterinary World**, v. 11, n. 2, p. 125–129, fev. 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12983>
- ALMEIDA, R. A. et al. Role of Streptococcus uberis adhesion molecule in the pathogenesis of Streptococcus uberis mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 179, n. 3–4, p. 332–335, set. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.005>
- BARNUM, D. A.; NEWBOULD, F. H. The Use of the California Mastitis Test for the Detection Of Bovine Mastitis. **The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire canadienne**, v. 2, n. 3, p. 83–90, mar. 1961. PMID: 17421323
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Somacount 2000 Operator's Manual**. Chaska: [s.n.].
- BERCHTOLD, B. et al. Genotype-specific risk factors for *Staphylococcus aureus* in Swiss dairy herds with an elevated yield-corrected herd somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 8, p. 4886–4896, 2014. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7760>
- BHUTTO, A. L.; MURRAY, R. D.; WOLDEHIWET, Z. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. **Research in veterinary science**, v. 92, n. 1, p. 13–7, fev. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.006>
- BIJL, E. et al. Protein, casein, and micellar salts in milk: Current content and historical perspectives. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 9, p. 5455–5464, 2013. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6497>
- BLAGITZ, M. G. et al. Flow cytometric analysis: Interdependence of healthy and infected udder quarters. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 4, p. 2401–2408, 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8727>
- BOBBO, T. et al. Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein composition, and cheese-making traits in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4868–4883, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8727>
- BRAGGINTON, E. C.; PIDDOCK, L. J. V. UK and European Union public and charitable funding from 2008 to 2013 for bacteriology and antibiotic research in the UK: An observational study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 14, n. 9, p. 857–868, 1 set. 2014. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70825-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70825-4)
- BRASIL. Instrução Normativa N° 62 de 31 de dezembro de 2011. . 2011.
- BRESSMANN, T. Self-inflicted cosmetic tongue split: a case report. **Journal (Canadian Dental Association)**, v. 70, n. 3, p. 156–7, mar. 2004. [https://doi.org/10.1074/JBC.274.42.30033.\(51\)](https://doi.org/10.1074/JBC.274.42.30033.(51))

BRITT, J. H. et al. Invited review: Learning from the future—A vision for dairy farms and cows in 2067. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3722–3741, maio 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14025>

BROGAN, D. M.; MOSSIALOS, E. A critical analysis of the review on antimicrobial resistance report and the infectious disease financing facility. **Globalization and Health**, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12992-016-0147-y>

CAMERON, M. et al. Evaluation of a 3M Petrifilm on-farm culture system for the detection of intramammary infection at the end of lactation. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 111, n. 1–2, p. 1–9, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.03.006>

CAMERON, M. et al. Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: risk of postcalving intramammary infection and clinical mastitis in the subsequent lactation. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 1, p. 270–84, jan. 2014. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7060>

CAMERON, M. et al. Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Milk yield and somatic cell count in the subsequent lactation. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 4, p. 2427–36, abr. 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8876>

CANTEKIN, Z. et al. Comparison of PCR and culture methods for diagnosis of subclinical mastitis in dairy cattle. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 21, n. 2, p. 277–282, 2015. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2014.12309>

CONDAS, L. A. Z. et al. Distribution of non-aureus staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 7, p. 5613–5627, jul. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12479>

COUNCIL, N. R. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2001.

CROOKENDEN, M. A. et al. Effects of precalving body condition and prepartum feeding level on gene expression in circulating neutrophils. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 2310–2322, mar. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12479>

DALEN, G. et al. Transmission dynamics of intramammary infections caused by Corynebacterium species. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 1, p. 472–479, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13162>

DAS, B.; PATRA, S. Antimicrobials: Meeting the Challenges of Antibiotic Resistance Through Nanotechnology. In: **Nanostructures for Antimicrobial Therapy: Nanostructures in Therapeutic Medicine Series**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 1–22.

DE VRIES, R. et al. Effect of shortening or omitting the dry period of Holstein-Friesian cows on casein composition of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 12, p. 8678–8687, 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9544>

DOLDER, C. et al. Quarter- and cow-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci species in Swiss dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5653–5663, jul. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11639>

DOWN, P. M. et al. A Bayesian micro-simulation to evaluate the cost-effectiveness of

interventions for mastitis control during the dry period in UK dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 133, p. 64–72, 1 out. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.09.012>

DOWN, P. M. et al. Factors affecting the cost-effectiveness of on-farm culture prior to the treatment of clinical mastitis in dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 145, p. 91–99, 15 set. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.07.006>

DOWN, P. M.; GREEN, M. J.; HUDSON, C. D. Rate of transmission: A major determinant of the cost of clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6301–6314, 2013. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6470>

EQUIPE ESTATCAMP. **Software Action**. São Carlos - SP, BrasilEstatcamp - Consultoria em estatística e qualidade, , 2014. Disponível em: <www.portalaction.com.br>

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). **Milk and milk products**. Food outlook. **Anais...The Food and Agriculture Organization**, 2016Disponível em: <<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-and-milk-products/en/#.V4FoULgrLIU>>. Acesso em: 11 fev. 2018

FITCHETT, J. R.; ATUN, R. Antimicrobial resistance: Opportunity for Europe to establish global leadership. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p. 388–389, abr. 2016. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00410-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00410-7)

GARCIA, M. L.; MORENO, B.; BERGDOLL, M. S. Characterization of staphylococci isolated from mastitic cows in Spain. **Applied and environmental microbiology**, v. 39, n. 3, p. 548–53, mar. 1980. [PMID:7387155](#)

GINDONIS, V. et al. Occurrence and characterization of methicillin-resistant staphylococci from bovine mastitis milk samples in Finland. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 55, n. 1, p. 61, 2013. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-61>

GOLDER, H. M.; HODGE, A.; LEAN, I. J. Effects of antibiotic dry-cow therapy and internal teat sealant on milk somatic cell counts and clinical and subclinical mastitis in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 9, p. 7370–7380, 1 set. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11114>

GONÇALVES, J. L. et al. Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. **Veterinary Journal**, v. 209, p. 87–92, ago. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11114>

GOTT, P. N. et al. Intramammary infections and milk leakage following gradual or abrupt cessation of milking. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 4005–4017, maio 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10348>

GOTT, P. N. et al. Effect of gradual or abrupt cessation of milking at dry off on milk yield and somatic cell score in the subsequent lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 2080–2089, mar. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11114>

GUARÍN, J. F.; RUEGG, P. L. Short communication: Pre- and postmilking anatomical characteristics of teats and their associations with risk of clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 10, p. 8323–8329, out. 2016.

<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10093>

GUIMARÃES, J. L. B. et al. Estimate of the economic impact of mastitis: A case study in a Holstein dairy herd under tropical conditions. **Preventive veterinary medicine**, v. 142, p. 46–50, 1 jul. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.04.011>

HADRICH, J. C. et al. Estimating milk yield and value losses from increased somatic cell count on US dairy farms. **Journal of Dairy Science**, p. 1–9, 2018. <https://doi.org/>

HEMRAJ, V.; DIKSHA, S.; AVNEET, G. A review on commonly used biochemical test for bacteria. **Innovare Journal of Life Science**, v. 1, n. 1, p. 1–7, 2013.

HERTL, J. A. et al. Pathogen-specific effects on milk yield in repeated clinical mastitis episodes in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1465–1480, 2014. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7266>

HIGGINS, H. M. et al. Understanding veterinarians' prescribing decisions on antibiotic dry cow therapy. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 2909–2916, 1 abr. 2017a. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11923>

HIGGINS, H. M. et al. Understanding how new evidence influences practitioners' beliefs regarding dry cow therapy: A Bayesian approach using probabilistic elicitation. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 139, p. 115–122, 1 abr. 2017b. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.08.012>

JASHARI, R.; PIEPERS, S.; DE VLIEGHER, S. Evaluation of the composite milk somatic cell count as a predictor of intramammary infection in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 11, p. 9271–9286, nov. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10753>

JOHNSON, A. P. et al. Randomized noninferiority study evaluating the efficacy of 2 commercial dry cow mastitis formulations. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 1, p. 593–607, jan. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10190>

KELLY, R. et al. Public funding for research on antibacterial resistance in the JPIAMR countries, the European Commission, and related European Union agencies: A systematic observational analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p. 431–440, 1 abr. 2016. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00350-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00350-3)

KUIPERS, A.; KOOPS, W. J.; WEMMENHOVE, H. Antibiotic use in dairy herds in the Netherlands from 2005 to 2012. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 2, p. 1632–1648, 2016. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00350-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00350-3)

LAPAGE, S. P. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. In: **Journal of Clinical Pathology**. [s.l.] Williams and Wilkins, 1976. v. 29p. 958–958. <https://doi.org/10.1136/jcp.29.10.958-c>

LITWIŃCZUK, Z.; KRÓL, J.; BRODZIAK, A. Factors determining the susceptibility of cows to mastitis and losses incurred by producers due to the disease - A review. **Annals of Animal Science**, v. 15, n. 4, p. 819–831, 2015. <https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0035>

LOPEZ-BENAVIDES, M. et al. Interpreting Bacteriological Culture Results to Diagnose Bovine Intramammary Infections. **National Mastitis Council**, p. 2, 2011.

MACHADO, V. S.; BICALHO, R. C. Prepartum application of internal teat sealant or intramammary amoxicillin on dairy heifers: Effect on udder health, survival, and performance. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 1388–1402, 2018.
<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13415>

MAHMMOD, Y. S. et al. Bayesian estimation of test characteristics of real-time PCR, bacteriological culture and California mastitis test for diagnosis of intramammary infections with *Staphylococcus aureus* in dairy cattle at routine milk recordings. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 112, n. 3–4, p. 309–317, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.07.021>

MARTIN, P. et al. Symposium review: Novel strategies to genetically improve mastitis resistance in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, p. 1–13, 2018.
<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13554>

MARTINS, C. M. M. R. et al. Efficacy of a high free iodine barrier teat disinfectant for the prevention of naturally occurring new intramammary infections and clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3930–3939, fev. 2017.
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11193>

MATYI, S. A. et al. Isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* strains from a Paso del Norte dairy1. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 6, p. 3535–3542, 2013. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6590>

MEHMETI, I. et al. Antimicrobial resistance levels amongst staphylococci isolated from clinical cases of bovine mastitis in Kosovo. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 10, n. 10, p. 1081–1087, 2016. <https://doi.org/10.3855/jidc.7912>

MIDDLETON, J. R. et al. Use of somatic cell counts and California mastitis test results from individual quarter milk samples to detect subclinical intramammary infection in dairy cattle from a herd with a high bulk tank somatic cell count. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 3, p. 419–23, 1 fev. 2004.
<https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.419>

MORE, S. J. et al. The effect of somatic cell count data adjustment and interpretation, as outlined in European Union legislation, on herd eligibility to supply raw milk for processing of dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 6, p. 3671–3681, 2013. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6182>

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Guidelines for evaluating teat skin condition. **National Mastitis Council**, p. 1–5, 2007.

OLIVARES-PÉREZ, J. et al. Prevalence of bovine subclinical mastitis, its etiology and diagnosis of antibiotic resistance of dairy farms in four municipalities of a tropical region of Mexico. **Tropical Animal Health and Production**, v. 47, n. 8, p. 1497–1504, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0890-8>

OSPINA, P. A. et al. Randomized noninferiority field trial comparing 2 first-generation cephalosporin products at dry off in quarters receiving an internal teat sealant in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6519–6531, 2016.
<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10807>

OVERTON, T. R.; MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V. A 100-Year Review: Metabolic

health indicators and management of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10398–10417, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13054>

PARK, E. et al. Analysis of antibiotic residues in milk from healthy dairy cows treated with bovine mastitis ointment using ultra-performance liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry. **Korean Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 4, p. 233–239, 31 dez. 2016. <https://doi.org/10.14405/kjvr.2016.56.4.233>

PETERKIN, P. I. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods (3rd edn)** Trends in Food Science & Technology, 1993. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90131-S](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90131-S)

PETERS, M. D. P.; SILVEIRA, I. D. B.; FISCHER, V. Impact of subclinical and clinical mastitis on sensitivity to pain of dairy cows. **Animal : an international journal of animal bioscience**, v. 9, n. 12, p. 2024–8, 29 dez. 2015. <https://doi.org/10.1017/S1751731115001391>

PETZER, I. M. et al. Epidemiological and partial budget analysis for treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* intramammary infections considering microbiological and cytological scenarios. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 148, n. October, p. 66–77, dez. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.10.005>

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Mastitis: Counter Attack**. [s.l: s.n.].

PIDDOCK, L. J. V. **Reflecting on the final report of the O'Neill Review on Antimicrobial Resistance** The Lancet Infectious Diseases, 2016. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30127-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30127-X)

POIZAT, A. et al. Antibiotic use by farmers to control mastitis as influenced by health advice and dairy farming systems. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 146, p. 61–72, 1 out. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.07.016>

POUTREL, B.; RAINARD, P. California Mastitis Test Guide of Selective Dry Cow Therapy. **J. Dairy Sci.**, v. 64, n. 2, p. 241–248, 1981. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82560-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82560-X)

REARDON, S. Phage therapy gets revitalized. **Nature**, v. 510, n. 7503, p. 15–6, 5 jun. 2014. <https://doi.org/10.1038/510015a>

RENAULT, V. et al. Rural veterinarian's perception and practices in terms of biosecurity across three European countries. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, n. 1, p. e183–e193, 2018. <https://doi.org/10.1111/tbed.12719>

RINDSIG, R. B. et al. Complete Versus Selective Dry Cow Therapy for Mastitis Control. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 10, p. 1483–1497, out. 1978. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(78\)83753-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(78)83753-9)

ROSNER, B. **Fundamentals of biostatistics**. 6. ed. Belmont: Duxbury Press, 2006.

RUEGG, P. L. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10381–10397, 1 dez. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>

- RUNCIMAN, D. J.; MALMO, J.; DEIGHTON, M. The use of an internal teat sealant in combination with cloxacillin dry cow therapy for the prevention of clinical and subclinical mastitis in seasonal calving dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 10, p. 4582–4591, 2010. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>
- SADASHIV, S. O.; KALIWAL, B. B. Screening And Antibiotic Resistance of Escherichia Coli Isolated From Bovine Mastitis in the region of North Karnataka, India. **Indo American Journal of Pharm Research**, v. 5, n. 04, 2015.
- SANTMAN-BERENDS, I. M. G. A. et al. Evaluation of udder health parameters and risk factors for clinical mastitis in Dutch dairy herds in the context of a restricted antimicrobial usage policy. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 2930–2939, abr. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10398>
- SARGEANT, J. M. 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, n. 9, p. 2018–2024, set. 2001. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74645-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74645-0)
- SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. **J Am Vet Med Assoc**, v. 130, n. 5, p. 199–204, 1 mar. 1957. [PMID: 13416088](#)
- SCHERPENZEEL, C. G. M. et al. Evaluation of the use of dry cow antibiotics in low somatic cell count cows. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 6, p. 3606–14, 1 jun. 2014. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7655>
- SCHERPENZEEL, C. G. M. et al. Effect of different scenarios for selective dry-cow therapy on udder health, antimicrobial usage, and economics. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 5, p. 3753–3764, 1 maio 2016a. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9963>
- SCHERPENZEEL, C. G. M. et al. Farmers' attitude toward the introduction of selective dry cow therapy. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 10, p. 8259–8266, 1 out. 2016b. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11349>
- SCHERPENZEEL, C. G. M. et al. Economic optimization of selective dry cow treatment. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 1530–1539, fev. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13076>
- SCHERPENZEEL, C. G. M.; SANTMAN-BERENDS, I. M. G. A.; LAM, T. J. G. M. Veterinarians' attitudes toward antimicrobial use and selective dry cow treatment in the Netherlands. **Journal of Dairy Science**, p. 1–10, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13591>
- SHAHID, M. Q. et al. Cow- and herd-level risk factors for on-farm mortality in Midwest US dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 7, p. 4401–4413, 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8513>
- SHARLAND, M. et al. Classifying antibiotics in the WHO Essential Medicines List for optimal use—be AWaRe. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 18–20, 1 jan. 2018. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30724-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30724-7)
- SHOOK, G. E. Genetic Improvement of Mastitis Through Selection on Somatic Cell Count. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 9, n. 3, p.

563–577, 1993. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30622-8](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30622-8)

SILVA, E. R. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus aureus* isolado de mastite subclínica bovina. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 13, n. 3, p. 701–711, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402012000300010>

STEELE, N. M. et al. Evaluating a commercial PCR assay against bacterial culture for diagnosing *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* throughout lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3816–3824, maio 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11752>

STEVENS, M. et al. Antimicrobial consumption on dairy herds and its association with antimicrobial inhibition zone diameters of non- *aureus* staphylococci and *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 3311–3322, abr. 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13365>

STEVENS, M.; PIEPERS, S.; DE VLIEGHER, S. Mastitis prevention and control practices and mastitis treatment strategies associated with the consumption of (critically important) antimicrobials on dairy herds in Flanders, Belgium. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 2896–2903, 1 abr. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10496>

SULEIMAN, T. S.; KARIMURIBO, E. D.; MDEGELA, R. H. Prevalence of bovine subclinical mastitis and antibiotic susceptibility patterns of major mastitis pathogens isolated in Unguja island of Zanzibar, Tanzania. **Tropical animal health and production**, v. 50, n. 2, p. 259–266, 4 fev. 2018. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1424-3>

TACCONELLI, E. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 318–327, 21 mar. 2017. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)

TAPONEN, S. et al. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, or *Escherichia coli*. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 493–503, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11465>

TEIXEIRA, L. M. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 10. ed. [s.l.] American Society of Microbiology, 2011.

THIRAN, E. et al. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* dairy isolates representing different genotypes. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 1000–1012, fev. 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13696>

THOMAS, V. et al. Antimicrobial susceptibility monitoring of mastitis pathogens isolated from acute cases of clinical mastitis in dairy cows across Europe: VetPath results. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 46, n. 1, p. 13–20, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.03.013>

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**. 2^a ed. São Paulo: ROCA, 2004.

TOMAZI, T. et al. Randomized noninferiority field trial evaluating cephapirin sodium

for treatment of nonsevere clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 8, p. 7334–7347, ago. 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14002>

TREVISI, E. et al. Strategies for reduced antibiotic usage in dairy cattle farms. **Research in Veterinary Science**, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.01.001>

VAN PUYVELDE, S.; DEBORGGRAEVE, S.; JACOBS, J. Why the antibiotic resistance crisis requires a One Health approach. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 2, p. 132–134, fev. 2018. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30704-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30704-1)

VANDERHAEGHEN, W. et al. Identification, typing, ecology and epidemiology of coagulase negative staphylococci associated with ruminants. **The Veterinary Journal**, v. 203, n. 1, p. 44–51, jan. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.11.001>

VANHOUDT, A. et al. Effects of reduced intramammary antimicrobial use during the dry period on udder health in Dutch dairy herds. **Journal of Dairy Science**, p. 1–13, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13555>

VARGAS, D. P. DE et al. Correlações entre contagem bacteriana total e parâmetros de qualidade do leite. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 241–247, dez. 2014. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13555>

VASQUEZ, A. K. et al. Clinical outcome comparison of immediate blanket treatment versus a delayed pathogen-based treatment protocol for clinical mastitis in a New York dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 2992–3003, abr. 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13555>

VASQUEZ, A. K. et al. Use of a culture-independent on-farm algorithm to guide the use of selective dry-cow antibiotic therapy. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 6, p. 5345–5361, jun. 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13807>

WANG, D. et al. Antimicrobial susceptibility, virulence genes, and randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Staphylococcus aureus* recovered from bovine mastitis in Ningxia, China. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 12, p. 9560–9569, 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11625>

WEBER, C. et al. Effects of dry period length on milk production, body condition, metabolites, and hepatic glucose metabolism in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 3, p. 1772–1785, 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8598>

WELLS, V.; PIDDOCK, L. J. V. Addressing antimicrobial resistance in the UK and Europe. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 12, p. 1230–1231, 1 dez. 2017. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30633-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30633-3)

WITTEK, T. et al. Retrospective analysis of Austrian health recording data of antibiotic or nonantibiotic dry-off treatment on milk yield, somatic cell count, and frequency of mastitis in subsequent lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 2, p. 1456–1463, 15 fev. 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13385>

ZHANG, D. et al. The phylogenetic group, antimicrobial susceptibility, and virulence genes of *Escherichia coli* from clinical bovine mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 1, p. 572–580, jan. 2018a. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13159>

ZHANG, S. et al. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance profiles in *Streptococcus dysgalactiae* isolated from bovine clinical mastitis in 5 provinces of China. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 3344–3355, abr. 2018b. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14031>

ZHANG, Z. et al. Influences of season, parity, lactation, udder area, milk yield, and clinical symptoms on intramammary infection in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6484–6493, ago. 2016. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10932>

CAPÍTULO 2

**COMPARAÇÃO DOS TESTES DE DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO DA
GLÂNDULA MAMÁRIA NO FINAL DA LACTAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS**

O ARTIGO SERÁ SUBMETIDO PARA A REVISTA TROPICAL ANIMAL

HEALTH AND PRODUCTION

COMPARAÇÃO DOS TESTES DE DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO DA GLÂNDULA MAMÁRIA NO FINAL DA LACTAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS

L. O. Lopes¹ · A. M. C. Lima²

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar qual teste de diagnóstico deve ser utilizado para detectar mastite subclínica no final da lactação. Foram utilizadas com 42 vacas (168 tetos) no final da lactação, com realização de exames 70 dias antes da previsão do parto (D-70). As amostras de leite foram coletadas para a realização do Teste da Caneca Telada, California Mastitis Test (CMT), Cultura Microbiológica, análise de Contagem de Células Somáticas (CCS), Escore de Células Somáticas (ECS), Hiperqueratose (HQ) e coleta de dados sobre número de partos de cada animal no D-70. O microrganismo mais prevalente foi o *Streptococcus agalactiae* com 35 isolados (53,03%), seguido do *Corynebacterium spp.* 10 (15,15%), *Staphylococcus coagulase negativos* 6 (9,09%), *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis* com 5 (7,58%), *Streptococcus bovis* 3 (4,55%) e *Escherichia coli* 2 (3,03%). Dos 168 tetos, 102 (60,71%) foram negativos e 66 (39,29%) foram positivos na cultura microbiológica. Comparando os resultados positivos e negativos, observou-se diferença estatística entre o número de partos, CCS e HQ. No diagnóstico de mastite subclínica utilizando o Teste de CMT e CCS, comparados aos resultados da cultura microbiológica, o teste de CMT houve uma sensibilidade de 83,33% e especificidade de 57,84% e o teste de CCS houve uma sensibilidade de 92,86% e especificidade de 42,86%. O teste *Kappa* mostrou concordância no exame de CMT de 0,38 e no teste de CCS de 0,40. No total de 42 vacas desta pesquisa, 34 (80,95%) foram positivas ao teste de CCS, 33 (78,57%) foram positivas ao teste de CMT e 28 (66,67%) positivas no teste de cultura microbiológica. Dos 168 tetos analisados, 98 (58,33%) foram positivas ao teste de CMT e 66 (39,29%) positivas no teste de cultura microbiológica. A cultura microbiológica por teto deve ser utilizada para identificação da mastite subclínica no final da lactação.

Palavras-chave: Antibiótico, secagem, Leite, Mastite, microrganismo.

L.O. Lopes

luisoliveiralopes@hotmail.com

¹ Postgraduate Program in Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Federal University of Uberlândia – UFU, Brazil.

² Professora de doenças bacterianas dos animais domésticos of Faculty of Veterinary Medicine in Federal University of Uberlândia – UFU, Brazil.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate which diagnostic test should be used in order to detect subclinical mastitis at the end of lactation, in which 42 cows (168 teats) at the end of lactation were used, performing tests 70 days before the expected delivery (D-70). The milk samples were collected for the Strip Cup Test (SCT), Microbiological Culture, Somatic Cell Count (SCC), Somatic Cell Score (SCS), Hyperkeratosis (HK) and data on the births number of each animal on D-70. The most prevalent microorganism was Streptococcus agalactiae with 35 isolates (53.03%), followed by Corynebacterium spp. 10 (15.15%), Staphylococcus coagulase negative 6 (9.09%), Staphylococcus aureus and Streptococcus uberis with 5 (7.58%), Streptococcus bovis 3 (4.55%) and Escherichia coli 2 (3.03 %). Out of the 168 teats, 102 (60.71%) were negative and 66 (39.29%) were positive in the microbiological culture. Comparing the positive and negative results, a statistical difference between the number of deliveries, SCC and HK was observed. In the diagnosis of subclinical mastitis using the CMT and SCC Test, compared to the microbiological culture results, the CMT test presented a sensitivity of 83.33% and specificity of 57.84% and the SCC test had a sensitivity of 92, 86% and specificity of 42.86%. The *Kappa* test showed concordance in the CMT test of 0.38 and the SCC test of 0.40. Regarding the total of 42 cows in this study, 34 (80.95%) were positive to the SCC test, 33 (78.57%) were positive to the CMT test and 28 (66.67%) were positive in the microbiological culture test. Out of the 168 analyzed teats, 98 (58.33%) were positive to the CMT test and 66 (39.29%) positive in the microbiological culture test. Microbiological culture through teat should be used to identify subclinical mastitis at the end of lactation.

Key words: Antibiotic, Dry Cow, Mastitis, Milk, Microorganism.

INTRODUÇÃO

A mastite é a doença infectocontagiosa mais prevalente em rebanhos bovinos destinados à produção de leite, sendo caracterizada pela inflamação da glândula mamária, em resposta à invasão de microrganismos contagiosos ou ambientais. A doença pode manifestar-se de forma clínica ou subclínica, causando alterações físico-químicas e microbiológicas no leite (Mehmeti et al., 2016).

Causa prejuízos econômicos por reduzir a produção animal diária, aumentar gastos com medicamentos e assistência veterinária, além dos descartes prematuros de animais e leite contaminado com resíduos de antimicrobianos (Park et al., 2016).

No mundo todo cresce a preocupação com a resistência bacteriana aos antibióticos, pois podem comprometer a segurança alimentar e representar riscos microbiológicos e químicos associados ao leite e seus derivados (Suleiman et al., 2018). O uso racional de antibióticos em todos as áreas de produção, aumenta a segurança alimentar e diminui a resistência dos microrganismos aos antibióticos (Van Puyvelde et al., 2018).

A tendência mundial é utilizar menos antibióticos, em especial no momento da secagem, com avaliação prévia dos tetos. Isso evita o uso de medicamentos em tetos sem mastite subclínica (Scherpenzeel et al., 2014) e orienta o tratamento dos tetos com infecção intramamária (Cameron et al., 2014), chamado de tratamento seletivo na secagem de vacas leiteiras.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar qual teste de diagnóstico deve ser utilizado para detectar mastite subclínica no final da lactação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização da propriedade

A pesquisa foi realizada em uma propriedade leiteira, no município de Lagoa Grande, na região do Noroeste, no estado de Minas Gerais, Brasil, com 42 vacas (168 tetos) no período de secagem, com coleta exames no período D-70 (70 dias antes da previsão do parto). A produção média diária produzida pela propriedade é de 9.000 litros/dia, com média de leite do rebanho de 20 Kg/vaca/dia, em 450 vacas em lactação.

O grau de sangue do rebanho foi muito heterogêneo, variando de $\frac{1}{2}$ a 15/16 holandês/Gir, com sistema de criação semi-intensivo. A alimentação durante o inverno é a base de silagem e concentrado e no verão a alimentação é a base de pastagem e concentrado, com quantidade variando conforme a exigência dos animais dentro de cada lote.

As amostras de leite foram coletadas para a realização do Teste da Caneca Telada, CMT (California Mastitis Test), Cultura Microbiológica, CCS (Contagem de células somáticas), ECS (Escore de Células Somáticas), Hiperqueratose (HQ), pesagem de leite e coleta de dados sobre número de partos de cada animal no D-70.

Foram considerados tetos negativos, as amostras de leite de tetos que não cresceram microrganismos e considerados tetos positivos, as amostras de leite de tetos que cresceram microrganismos (Lopez-Benavides et al., 2011).

Foram descartadas nesta pesquisa as nulíparas, as vacas que tiveram aplicação de antibiótico ou caso de mastite clínica nos últimos 30 dias antes da secagem, presença de grumos no teste da caneca telada no D-70, presença de afecções no casco, período de secagem menor que 50 dias e maior que 90 dias antes previsão do parto.

Teste de CMT

Para a realização do CMT foi retirado 2 mL de leite de cada quarto mamário, na placa de CMT, à qual foi adicionada, na mesma proporção a solução de CMT, um detergente aniónico (alquil-lauril sulfato de sódio), homogeneizado com movimentos circulares durante 10 segundos, antes da realização da leitura, que é determinada pela gelificação da amostra, em caso positivo ao teste.

A interpretação do teste foi classificada em escores negativo, uma cruz, duas cruzes ou três cruzes, de acordo com ausência ou aumento da viscosidade da mistura (Schalm and Noorlander, 1957; Barnum and Newbould, 1961). Neste trabalho, os quartos mamários que apresentaram viscosidade a partir do escore de uma cruz foram considerados positivos.

Escore de hiperqueratose nos tetos (HQ)

A severidade da hiperqueratose, um crescimento excessivo da pele do teto, foi classificada visualmente através de uma avaliação em escores no D-70, variando de 0 (normal) a 3 (National Mastitis Council, 2007).

Contagem de Células Somáticas (CCS)

As amostras de leite foram colhidas na parte da manhã no D-70, uma amostra por animal, em frascos plásticos contendo conservante bronopol e devidamente identificadas e foram enviadas no mesmo dia da coleta para o Laboratório.

Na determinação de CCS das amostras de leite foi empregada a técnica de citometria de fluxo, com resultados expressos em número de células multiplicado por 10^3 cels/mL de leite. Nos resultados de CCS, foi considerado animal com mastite subclínica com valores $> 200 \times 10^3$ cels/mL de leite (Cameron et al., 2015; Alekish et al., 2018).

Cultura microbiológica

As amostras de leite foram obtidas imediatamente antes da ordenha, após descartar os três primeiros jatos de leite. Foi realizada a desinfecção dos tetos com solução de iodo polividona tópico a 10% e secagem com papel toalha após 30 segundos. No momento da coleta, realizou-se antisepsia do esfíncter do teto utilizando algodão umedecido em álcool a 70%. As amostras de leite foram coletadas de tetos individuais, e acondicionadas em frascos estéreis previamente identificados com o número e teto do animal. O material amostrado foi congelado e, então, encaminhado em recipiente isotérmico, com gelo reciclável ao laboratório.

Amostras de leite foram cultivadas em placas de ágar sangue 5% (v/v), incubadas em aerobiose em estufa bacteriológica a 37°C e analisadas após 24 e 48 horas. As colônias que se revelaram como cocos Gram positivos foram submetidos às provas de catalase e coagulase lenta com plasma de coelho. As leituras para a verificação da produção de coagulase foram realizadas uma, duas, três, quatro e 24 horas após incubação das amostras a 37°C. Foram realizadas provas bioquímicas para identificação de microrganismos isolados (Rodrigues et al., 2012).

As estirpes catalase e coagulase positivas foram submetidas à prova para verificação de produção da acetoína com o teste de Vermelho de Metila e Voges-Proskauer (caldo MRVP) para a diferenciação do *Staphylococcus aureus* e outros *Staphylococcus coagulase positiva*. As estirpes produtoras de acetoína foram testadas quanto à utilização ou não da maltose e trealose. As estirpes que se mostraram positivas a essas provas foram classificadas como *Staphylococcus aureus* (Hemraj et al., 2013).

Análise estatística

A comparação das médias nos valores de HQ e número de partos foram comparadas entre os animais positivos e negativos, no exame de cultura microbiológica pelo o Teste t, com nível significância de 5%.

As análises de sensibilidade (S), especificidade (E) diagnóstica foram obtidos comparando o teste de CCS e CMT com os resultados de cultura microbiológica (Thrusfield, 2004). O teste de concordância *Kappa* foi realizado para avaliar a concordância real entre os testes de CMT e CCS em relação ao exame de cultura microbiológica.

Segundo Rosner (2006) o coeficiente *Kappa* pode ser interpretado na seguinte escala: valores menores que 0 não mostram concordância, entre 0,0 e 0,20 concordância muito baixa, entre 0,21 e 0,40 concordância baixa, entre 0,41 e 0,60 concordância boa, entre 0,61 e 0,8 concordância excelente e 0,81 e 1,00 concordância quase perfeita.

Na comparação de resultados dos exames de CCS, cultura e CMT entre número de vacas e tetos coletados no D-70, foi utilizado o teste do Qui-quadrado, com nível de significância de 5%.

A estatística descrita acima foram realizadas com o software ACTION 3.0 (Equipe Estatcamp, 2014).

RESULTADOS

O microrganismo mais prevalente foi o *Streptococcus agalactiae* com 35 isolados (53,03%), seguido do *Corynebacterium spp.* 10 (15,15%), *Staphylococcus coagulase negativos* 6 (9,09%), *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis* com 5 (7,58%), *Streptococcus bovis* 3 (4,55%) e *Escherichia coli* 2 (3,03%), conforme Tabela 1.

Dos 168 tetos, 102 (60,71%) foram negativos e 66 (39,29%) foram positivos na cultura microbiológica. Comparando os resultados positivos e negativos, observou-se diferença estatística entre o número de partos, CCS e HQ conforme Tabela 2.

No diagnóstico de mastite subclínica utilizando o Teste de CMT e CCS, comparados aos resultados da cultura microbiológica, o teste de CMT houve uma sensibilidade de 83,33% e especificidade de 57,84% e o teste de CCS houve uma sensibilidade de 92,86% e especificidade de 42,86%, conforme Tabela 3 e 4.

O teste *Kappa* mostrou concordância no exame de CMT de 0,38 e no teste de CCS de 0,40. Assim, segundo Rosner (2006) pode-se dizer que tanto o teste de CMT quanto o de CCS tiveram baixa concordância em relação ao teste de cultura microbiológica.

No total de 42 vacas desta pesquisa, 34 (80,95%) foram positivas ao teste de CCS, 33 (78,57%) foram positivas ao teste de CMT e 28 (66,67%) positivas no teste de cultura microbiológica. Dos 168 tetos analisados, 98 (58,33%) foram positivas ao teste de CMT e 66 (39,29%) positivas no teste de cultura microbiológica.

DISCUSSÃO

Streptococcus agalactiae foi a bactéria mais prevalente nesta pesquisa, muito frequente nas propriedades leiteiras em todo o mundo, com prevalência similar em outros estudos (Steele et al., 2017; Taponen et al., 2017). A eficiência do tratamento com antibióticos apresenta taxa de cura que varia em 80 a 90%, tanto na lactação, como no período de secagem (S. Zhang et al., 2018).

Corynebacterium spp. é uma bactéria que coloniza a pele e o canal do teto, com baixa taxa de cura em mastite clínica (Dalen et al., 2018). *Staphylococcus aureus* tem o tratamento mais complexo, devido a formas de resistências no quarto mamário infectado

e facilidade de transmissão entre as vacas em lactação (Guimarães et al., 2017), com baixa taxa de cura na mastite clínica e entre as lactações no período seco (Thiran et al., 2018).

O grupo de bactérias *Staphylococcus coagulase negativo* geralmente tem alta prevalência em rebanhos, com patogenicidade muito discutida em pesquisas em todo o mundo, com variação de importância entre as espécies (Condás et al., 2017). São presentes na microbiota da pele do teto, com aumento de casos na propriedade associado ao procedimento de ordenha e solução desinfetante ineficiente, antes e após a ordenha (Taponen et al., 2017).

As bactérias *Streptococcus uberis*, *Streptococcus bovis* e *Escherichia coli* são microrganismos ambientais, encontradas com menor frequência nesta pesquisa. Estudos relatam estas bactérias como potencial risco a saúde humana, devido a contaminação do leite e resistência aos antibióticos, dificultando o tratamento da mastite (Almeida et al., 2015; D. Zhang et al., 2018), conforme Tabela 1.

Os valores médios de HQ foram maiores em tetos positivos em relação aos tetos negativos na cultura microbiológica, com diferença estatística ($p<0,05$). A lesão do esfínter do teto dificulta a limpeza durante o procedimento de ordenha e aumenta a contaminação do teto e colonização de bactérias (Guarín and Ruegg, 2016). Os tetos positivos tiveram média maior no número de parto e CCS, comparando com os tetos negativos, que é explicado devido ao maior tempo de exposição aos microrganismos durante as lactações (Zhang et al., 2016), conforme Tabela 2.

No teste *Kappa* houve baixo nível de concordância, comparando o teste de cultura microbiológica e o teste de CMT. Nos resultados obtidos observou-se baixo nível de especificidade diagnóstica, com crescimento de microrganismo em tetos negativos ao teste, havendo assim baixa confiabilidade do uso para análise de tetos com infecções

intramamárias no final da lactação, conforme Tabela 3. O teste de CCS analisa o animal por ser uma amostragem do leite total da vaca e o teste de cultura e de CMT analisam cada teto separadamente. Pesquisas que avaliam a sanidade das vacas no final da lactação, geralmente utilizam como parâmetro de segregação de animais com valores de CCS acima de 200×10^3 cels/ml (Cameron et al., 2015; Scherpenzeel et al., 2018; Vasquez et al., 2018). No teste *kappa*, avaliando o teste de CCS e a cultura microbiológica de tetos, apresentou baixa concordância, mostrando que a avaliação por vaca pode induzir o tratamento de quatro tetos, sendo que talvez fosse necessário tratar apenas um, conforme descrito na Tabela 4.

O teste de cultura, quando realizado em cada teto separadamente, foi melhor para discriminar os tetos com microrganismos patogênico, na comparação com CCS e CMT. Jaeger et al. (2017) recomendaram o teste de CCS na segregação de tetos no final da lactação, com limiar de 150×10^3 cels/ml de leite, valores diferentes do que o utilizado nesta pesquisa.

Do total de 37 vacas, o teste CCS diagnosticou 34 animais positivos, com 200×10^3 cels/ml de leite, enquanto que com o teste de cultura microbiológica identificou 28 animais positivos, onde em pelo menos um teto em cada animal houve isolamento de microrganismo, conforme Tabela 5. Em 2 tetos em que o teste de CCS estava dentro dos padrões normais, considerada como teto negativo, houve crescimento bacteriano, demonstrando risco para a sanidade do teto durante o período seco. Bhutto et al (2012) relataram a ocorrência infecções subclínicas em tetos considerados negativos ao teste de CMT e CCS no final da lactação, aumentando o risco na sanidade do quarto mamário durante o período seco.

A cultura microbiológica por teto deve ser utilizada para identificação da mastite subclínica no final da lactação.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alekish, M.O., Ismail, Z.B., Hammouri, H.M., Daradka, M.H., Al Taha, S. and Olymat, I., 2018. Bacteriological cure rate and changes in milk composition in mastitis vaccinated ewes affected with subclinical mastitis Veterinary World, 11, 125–129. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.125-129>
- Almeida, R.A., Dego, O.K., Headrick, S.I., Lewis, M.J. and Oliver, S.P., 2015. Role of Streptococcus uberis adhesion molecule in the pathogenesis of Streptococcus uberis mastitis Veterinary Microbiology, 179, 332–335. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.005>
- Barnum, D.A. and Newbould, F.H., 1961. The Use of the California Mastitis Test for the Detection Of Bovine Mastitis. The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne, 2, 83–90. PMID: 17421323
- Bhutto, A.L., Murray, R.D. and Woldehiwet, Z., 2012. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. Research in veterinary science, 92, 13–7 (Elsevier Ltd) . <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.006>
- Cameron, M., Keefe, G.P., Roy, J.-P., Stryhn, H., Dohoo, I.R. and McKenna, S.L., 2015. Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Milk yield and somatic cell count in the subsequent lactation. Journal of dairy science, 98, 2427–36 (American Dairy Science Association) . <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8876>
- Cameron, M., McKenna, S.L., MacDonald, K.A., Dohoo, I.R., Roy, J.P. and Keefe,

- G.P., 2014. Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: risk of postcalving intramammary infection and clinical mastitis in the subsequent lactation. *Journal of dairy science*, 97, 270–84 (Elsevier). <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7060>
- Condas, L.A.Z., De Buck, J., Nobrega, D.B., Carson, D.A., Roy, J.-P., Keefe, G.P., DeVries, T.J., Middleton, J.R., Dufour, S. and Barkema, H.W., 2017. Distribution of non-aureus staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. *Journal of dairy science*, 100, 5613–5627 (American Dairy Science Association). <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12479>
- Dalen, G., Rachah, A., Nørstebø, H., Schukken, Y.H., Gröhn, Y.T., Barlow, J.W. and Reksen, O., 2018. Transmission dynamics of intramammary infections caused by Corynebacterium species *Journal of Dairy Science*, 101, 472–479 (American Dairy Science Association). <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13162>
- Equipe Estatcamp, 2014. Software Action. (Estatcamp - Consultoria em estatística e qualidade: São Carlos - SP, Brasil)
- Guarín, J.F. and Ruegg, P.L., 2016. Short communication: Pre- and postmilking anatomical characteristics of teats and their associations with risk of clinical mastitis in dairy cows *Journal of Dairy Science*, 99, 8323–8329. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10093>
- Guimarães, J.L.B., Brito, M.A.V.P., Lange, C.C., Silva, M.R., Ribeiro, J.B., Mendonça, L.C., Mendonça, J.F.M. and Souza, G.N., 2017. Estimate of the economic impact of mastitis: A case study in a Holstein dairy herd under tropical conditions. *Preventive veterinary medicine*, 142, 46–50 (Elsevier B.V.). <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.04.011>
- Hemraj, V., Diksha, S. and Avneet, G., 2013. A review on commonly used biochemical

- test for bacteria Innovare Journal of Life Science, 1, 1–7.
- Jaeger, S., Virchow, F., Torgerson, P.R., Bischoff, M., Biner, B., Hartnack, S. and Rüegg, S.R., 2017. Test characteristics of milk amyloid A ELISA, somatic cell count, and bacteriological culture for detection of intramammary pathogens that cause subclinical mastitis Journal of Dairy Science, 100, 7419–7426.
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-12446>
- Lopez-Benavides, M., Dohoo, I., Scholl, D., Middleton, J. and Perez, R., 2011. Interpreting Bacteriological Culture Results to Diagnose Bovine Intramammary Infections National Mastitis Council, 2
- Mehmeti, I., Behluli, B., Mestani, M., Ademi, A., Nes, I.F. and Diep, D.B., 2016. Antimicrobial resistance levels amongst staphylococci isolated from clinical cases of bovine mastitis in Kosovo Journal of Infection in Developing Countries, 10, 1081–1087 . <https://doi.org/10.3855/jidc.7912>
- National Mastitis Council, 2007. Guidelines for evaluating teat skin condition National Mastitis Council, 1–5
- Park, E., Ryu, Y., Cha, C., Yoo, C., Kim, S. and Lee, H., 2016. Analysis of antibiotic residues in milk from healthy dairy cows treated with bovine mastitis ointment using ultra-performance liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry Korean Journal of Veterinary Research, 56, 233–239.
<https://doi.org/10.14405/kjvr.2016.56.4.233>
- Rosner, B., 2006. Fundamentals of biostatistics, 6th ed. (Duxbury Press: Belmont)
- Schalm, O.W. and Noorlander, D.O., 1957. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test J Am Vet Med Assoc, 130, 199–204. PMID: 13416088
- Scherpenzeel, C.G.M., den Uijl, I.E.M., van Schaik, G., Olde Riekerink, R.G.M.,

- Keurentjes, J.M. and Lam, T.J.G.M., 2014. Evaluation of the use of dry cow antibiotics in low somatic cell count cows Journal of dairy science, 97, 3606–14 (Elsevier). <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7655>
- Scherpenzeel, C.G.M., Santman-Berends, I.M.G.A. and Lam, T.J.G.M., 2018. Veterinarians' attitudes toward antimicrobial use and selective dry cow treatment in the Netherlands Journal of Dairy Science, 1–10 (American Dairy Science Association) . <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13591>
- Silva, E.R., Pereira, A.M.G., Moraes, W. da S., Santoro, K.R. and Silva, T.R.M., 2012. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus aureus* isolado de mastite subclínica bovina Revista Brasileira de Saude e Producao Animal, 13, 701–711. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402012000300010>
- Steele, N.M., Williamson, J.H., Thresher, R., Laven, R.A. and Hillerton, J.E., 2017. Evaluating a commercial PCR assay against bacterial culture for diagnosing *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* throughout lactation Journal of Dairy Science, 100, 3816–3824 (American Dairy Science Association) . <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11752>
- Suleiman, T.S., Karimuribo, E.D. and Mdegela, R.H., 2018. Prevalence of bovine subclinical mastitis and antibiotic susceptibility patterns of major mastitis pathogens isolated in Unguja island of Zanzibar, Tanzania. Tropical animal health and production, 50, 259–266 (Tropical Animal Health and Production) . <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1424-3>
- Taponen, S., Liski, E., Heikkilä, A.-M. and Pyörälä, S., 2017. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus* , *Streptococcus uberis* , *Streptococcus dysgalactiae* , *Corynebacterium bovis* , or *Escherichia coli* Journal of Dairy

Science, 100, 493–503 (American Dairy Science Association) . <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11465>

Thiran, E., Di Ciccio, P.A., Graber, H.U., Zanardi, E., Ianieri, A. and Hummerjohann, J., 2018. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* dairy isolates representing different genotypes Journal of Dairy Science, 101, 1000–1012 (American Dairy Science Association) . <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13696>

Thrusfield, M., 2004. Epidemiologia Veterinária, 2^a (ROCA: São Paulo)

Van Puyvelde, S., Deborggraeve, S. and Jacobs, J., 2018. Why the antibiotic resistance crisis requires a One Health approach The Lancet Infectious Diseases, 18, 132–134 (Elsevier) . [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30704-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30704-1)

Vasquez, A.K., Nydam, D. V, Foditsch, C., Wieland, M., Lynch, R., Eicker, S. and Virkler, P.D., 2018. Use of a culture-independent on-farm algorithm to guide the use of selective dry-cow antibiotic therapy. Journal of dairy science, 101, 5345–5361 (American Dairy Science Association) . <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13807>

Zhang, D., Zhang, Z., Huang, C., Gao, X., Wang, Z., Liu, Y., Tian, C., Hong, W., Niu, S. and Liu, M., 2018. The phylogenetic group, antimicrobial susceptibility, and virulence genes of *Escherichia coli* from clinical bovine mastitis Journal of Dairy Science, 101, 572–580 (American Dairy Science Association) . <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13159>

Zhang, S., Piepers, S., Shan, R., Cai, L., Mao, S., Zou, J., Ali, T., De Vliegher, S. and Han, B., 2018. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance profiles in *Streptococcus dysgalactiae* isolated from bovine clinical mastitis in 5 provinces of China Journal of Dairy Science, 101, 3344–3355 (American Dairy Science Association) . <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14031>

Zhang, Z., Li, X.P., Yang, F., Luo, J.Y., Wang, X.R., Liu, L.H. and Li, H.S., 2016. Influences of season, parity, lactation, udder area, milk yield, and clinical symptoms on intramammary infection in dairy cows *Journal of Dairy Science*, 99, 6484–6493. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10932>

Tabela 1. Frequência de microrganismos isolados em vacas no final da lactação coletadas no D-70.

| CULTURA | n | % |
|--|-----------|-------|
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 35 | 53,03 |
| <i>Corynebacterium sp.</i> | 10 | 15,15 |
| <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> | 6 | 9,09 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 5 | 7,58 |
| <i>Streptococcus uberis</i> | 5 | 7,58 |
| <i>Streptococcus bovis</i> | 3 | 4,55 |
| <i>Escherichia coli</i> | 2 | 3,03 |
| TOTAL: | 66 | |

Tabela 2. Média e desvio padrão do número de partos, produção, ECS, CCS e HQ entre os tetos positivos e negativos nos resultados da cultura microbiológica do leite, em amostras coletadas no D-70.

| | Cultura | | |
|-----------------------|------------------|------------------|---------|
| | Negativos | Positivos | p-valor |
| n | 102 | 66 | - |
| % | 60,71 | 39,29 | - |
| Nº Partos | 3,07 ±1,88 | 3,86 ±2,36 | 0,010 |
| CCS ($\times 10^3$) | 1137,06 ±1611,12 | 2893,76 ±2674,03 | < 0,001 |
| HQ | 0,84 ±0,78 | 1,18 ±1,04 | 0,017 |

Tabela 3. Resultado da Sensibilidade (S) e Especificidade (E) do teste de CMT em relação à cultura microbiológica do leite em tetos nas amostras coletadas no D-70.

| | | CULTURA | | | S | E | Kappa |
|-----|----------|-----------|-----------|-------|--------|--------|-------|
| | | POSITIVOS | NEGATIVOS | TOTAL | | | |
| CMT | POSITIVO | 55 | 43 | 98 | 83,33% | 57,84% | 0,38 |
| | NEGATIVO | 11 | 59 | 70 | | | |
| | TOTAL: | 66 | 102 | 168 | | | |

Nota: Sensibilidade (S)= (55/66) x 100, Especificidade (E)= (59/102) x 100.

Tabela 4. Resultado da Sensibilidade (S) e Especificidade (E) do teste de CCS em relação à cultura microbiológica do leite quanto ao número de animais nas amostras coletadas no D-70.

| | | CULTURA | | | S | E | Kappa |
|-----|-----------|-----------|-----------|-------|--------|--------|-------|
| | | POSITIVOS | NEGATIVOS | TOTAL | | | |
| CCS | POSITIVOS | 26 | 8 | 34 | 92,86% | 42,86% | 0,40 |
| | NEGATIVOS | 2 | 6 | 8 | | | |
| | TOTAL: | 28 | 14 | 42 | | | |

Nota: Sensibilidade (S)= (26/28) x 100, Especificidade (E)= (6/14) x 100.

Tabela 5. Comparação de resultados dos exames de CCS, cultura e CMT entre número de vacas e tetos coletados no D-70.

| Exame | n | Vacas | | Tetos | | p valor |
|----------------------|----|-----------|--------|-----------|----|--------------|
| | | Positivos | n | Positivos | n | |
| CCS ¹ | 42 | 34 | 80,95% | 168 | * | - |
| CMT ² | 42 | 33 | 78,57% | 168 | 98 | 58,33% 0,015 |
| CULTURA ² | 42 | 28 | 66,67% | 168 | 66 | 39,29% 0,001 |

Nota: ¹ Foram consideradas vacas positivas ao teste de CCS animais com valores maiores que 200.000 cels/ml de leite. ² Foram considerados vacas positivas onde mínimo 1 teto foi positivo ao teste.

CAPÍTULO 3

DECISÃO RACIONAL SOBRE O USO DE ANTIBIÓTICOS NO PERÍODO DE SECAGEM EM VACAS LEITEIRAS

ARTIGO SERÁ SUBMETIDO PARA A REVISTA PLOS ONE

DECISÃO RACIONAL SOBRE O USO DE ANTIBIÓTICOS NO PERÍODO DE
SECAGEM EM VACAS LEITEIRAS

Luis O. Lopes^{1¶*}, Anna M. C. Lima^{2¶}

¹Doutorando em Ciências Veterinárias na Universidade Federal de Uberlândia, estado de Minas Gerais, Brasil.

²Professora na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia – FAMEV-UFU, Uberlândia, estado de Minas Gerais, Brasil.

* Corresponding author :

E-mail: luisoliveiralopes@hotmail.com

¶These authors contributed equally to this work.

Resumo

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o uso de antibióticos em vacas no período de secagem. A pesquisa foi realizada em 148 tetos no período de secagem, com coleta de amostras no período D-70 (70 dias antes da previsão do parto) e D14 (14 dias após o parto). As amostras de leite foram coletadas para a realização do Teste da Caneca Telada (TCT), Teste de CMT (California Mastitis Test), cultura microbiológica, análise de CCS (Contagem de células somáticas), ECS (Escore de Células Somáticas) e Hiperqueratose (HQ). Os grupos que não houve crescimento de microrganismos, foram divididos em dois grupos, o primeiro grupo foi utilizado apenas o selante interno no teto (Grupo 1), e outro grupo com o uso do antibiótico intramamário associado com o selante interno (Grupo 2). Os tetos que foram considerados positivos, com crescimento microbiológico, foram tratados com o antibiótico intramamário associado com o selante interno (Grupo 3). Na comparação dos resultados do teste de CMT entre o D-70 e D14, observou-se uma diferença estatística nos Grupos 2 e 3. O Grupo 3, que são os tetos positivos no D-70, teve uma redução de 83,87% e 32,26% no teste de CMT entre o D-70 e D14. Em relação a HQ, o grupo 1 e 2 obteve diferença estatística em relação ao grupo 3 no D-70 e D14. Quanto aos números de bactérias isoladas, no D-70 e D14, não houve diferença comparando o Grupo 1 e 2, mas com diferença no grupo 3. O Grupo 1 e 2 eram todos tetos negativos no D-70, mostrando que o antibiótico intramamário não influenciou no resultado do D14. No grupo 3 teve uma redução de isolados de 62 para 15 no D14. O microrganismo mais prevalente foi o *Streptococcus agalactiae* com 43,37% do total de isolados, seguido do *Staphylococcus aureus* (16,87%) e *Corynebacterium spp.* (13,25%) e *Staphylococcus Coagulase negativos (SCN)* (10,84%). O tratamento seletivo de tetos na secagem de vacas leiteiras apresenta vantagens em relação ao Blanket Dry Cow Therapy (tratamento com antibióticos em todos os tetos), diminuindo o uso indiscriminado de antibióticos, evita a resistência bacteriana, assegura uma melhor qualidade do leite e uma maior segurança alimentar. Deve ser utilizado antibióticos apenas para tetos com mastite subclínica, com a realização da cultura microbiológica no final da lactação, realizada por quarto mamário individual.

Palavras Chave: Leite, Mastite, Período seco, Vacas

Abstract

The aim of this study was to evaluate the use of antibiotics in cows during the dry period. The survey was performed on 148 teats during the dry period, with samples collection in the period D-70 (70 days before delivery) and D14 (14 days after delivery). The milk samples were collected for the Strip Cup Test (SCT), California Mastitis Test (CMT), Microbiological Culture, Somatic Cell Count (SCC), Somatic Cell Score (SCS) and Hyperkeratosis (HK). The groups in which there were not microorganisms grow were divided into two groups, the first group only the internal sealant in the teat was used (Group 1) and another group with the intramammary antibiotic use associated with the internal sealant (Group 2). Teats which were considered positive, with microbiological growth, were treated with the intramammary antibiotic associated with the internal sealant (Group 3). In the comparison of the results of the CMT test between D-70 and D14, a statistical difference was observed in Groups 2 and 3. Group 3, which comprises the positive teats in D-70 presented a reduction of 83.87% and 32.26% in the CMT test between D-70 and D14. Regarding HK, group 1 and 2 had a statistical difference in relation to group 3 in D-70 and D14. As for the numbers of bacteria isolated in D-70 and D14, there was no difference comparing Group 1 and Group 2, unlike Group 3, which had difference. Group 1 and Group 2 were all negative teats in D-70, showing that the intramammary antibiotic did not influence the outcome of D14. In group 3 there was a reduction of isolates from 62 to 15 in D14. The most prevalent microorganism was Streptococcus agalactiae with 43.37% of the total isolates, followed by Staphylococcus aureus (16.87%) and Corynebacterium spp. (13.25%) and Coagulase negative Staphylococcus (SCN) (10.84%). The selective treatment of teats in dry dairy cows has advantages over Blanket Dry Cow Therapy by reducing the indiscriminate use of antibiotics, avoiding bacterial resistance, ensuring better milk quality and a greater food safety. Antibiotics should only be used for teats with subclinical mastitis, with microbiological culture at the end of lactation performed by fourth individual mammary.

Palavras Chave: Cows, Dry cow, Mastitis, Milk

Introdução

A mastite é a mais frequente doença que acomete rebanhos leiteiros que causa prejuízos em todo o mundo (1), seja pela menor produção de leite, perda total ou parcial da glândula mamária, risco de transmissão para outros animais ou até a morte do animal (2). A causa da mastite é multifatorial, sendo influenciado pelo ambiente em que o animal se encontra, o microrganismo acometido e a resposta de cada indivíduo em relação ao agente causador (3–5).

Existe uma tendência para o uso racional de antibióticos, tanto para a diminuição de resíduos em produtos de origem animal visando à segurança alimentar, quanto para a diminuição de resistência dos microrganismos em relação aos antibióticos usados nos animais (6). A diminuição do uso de antibióticos é importante para a eficiência nos tratamentos em casos de doenças (7).

Em vacas leiteiras além do uso do antibiótico no tratamento de mastite clínica e subclínica durante a lactação, utiliza-se também aplicação de antibiótico de uso intramamário no momento da secagem entre as lactações, porém sem o devido diagnóstico de mastite, com aplicação de antibióticos em todos os tetos e geralmente com associação com selante interno, funcionando como barreira mecânica contra agentes ambientais no pré-parto (8,9).

A mastite é uma doença complexa e ampla com etiologia por vários microrganismos e condicionada por vários fatores, acrescentado à especificidade de tratamento a cada um dos agentes, torna-se ainda mais difícil o tratamento, necessitando de estudos que avaliem o melhor tratamento no período de secagem, para a realização do tratamento seletivo em vacas leiteiras (SDCT) (10,11).

As legislações sobre o uso de antibióticos na prevenção de doenças está cada vez mais restrita na área de produção de animais, incluindo o tratamento de antibióticos no período de secagem (12,13). Existe uma preocupação de diminuição do uso de antibióticos na secagem de vacas leiteiras, tratando apenas os tetos com infecções intramamárias com diagnóstico prévio.

No período de secagem em vacas leiteiras, não tem um padrão técnico na tomada de decisão, alguns profissionais optam em tratar em todos os tetos com antibióticos independente do histórico e avaliação da saúde da glândula mamária (BDCT), outros profissionais e produtores utilizam selantes internos ou antibióticos em tetos conforme o histórico de CCS e mastite clínica do animal, justificando estudos para esclarecer o melhor manejo das vacas no final da lactação em cada propriedade.

Muitas pesquisas sobre o tratamento seletivo na secagem abordam a vaca, com histórico de CCS durante a lactação (8,9,14), existindo necessidade de maiores estudos com avaliação individual de quartos mamários, para uma diminuição ainda maior do uso de antibióticos (15).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o uso de antibióticos em vacas no período de secagem.

Materiais e métodos

Caracterização de rebanho

O estudo foi realizado em uma propriedade leiteira, com latitude de 17° 50' 07" S e longitude de 46° 30' 52" W, com produção média diária de 9.000 litros de leite, duas ordenhas diárias, com aproximadamente 450 vacas em lactação, com média por vaca de 30 kg por dia, em 3 ordenhas, com grau de sangue variando de 1/2 a 31/32 Holandês/Gir, com sistema de criação semi-intensivo, durante todo o ano. Todos os animais dentro da mesma fazenda foram submetidos ao mesmo manejo, com alimentação à base de silagem e concentrado durante todo o ano, variando proporções conforme a sua produção de leite, dias em lactação e dias em gestação (NRC, 2001).

Foram descartadas neste trabalho as primíparas, as vacas que tiveram aplicação de antibiótico ou caso de mastite clínica nos últimos 30 dias antes da secagem, presença de grumos no teste da caneca telada no D-70 (70 dias antes da previsão do parto), presença de afecções no casco, período de secagem menor que 50 dias e maior que 90 dias antes do parto.

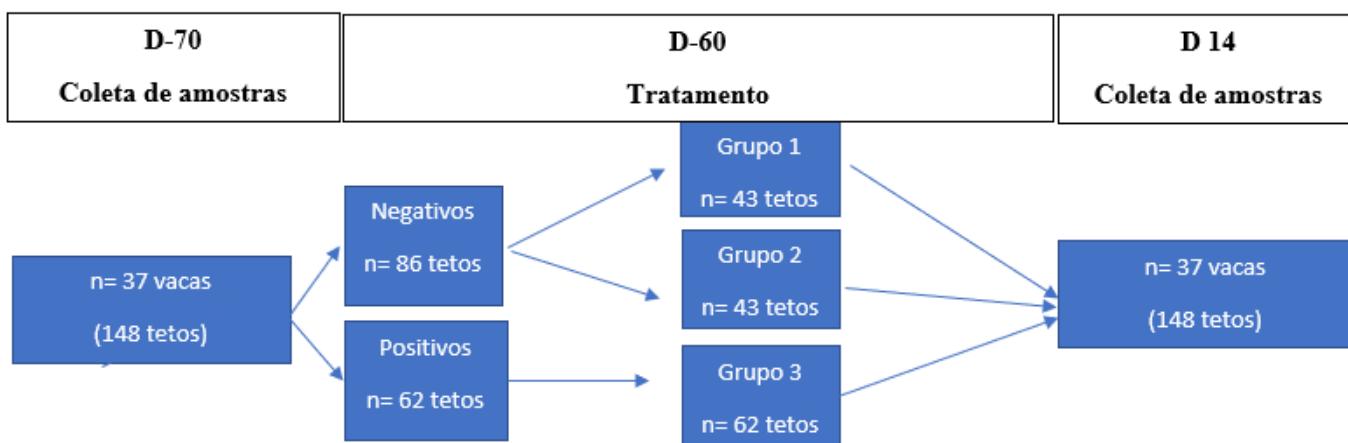
Delineamento experimental

A pesquisa foi realizada em 37 vacas (148 tetos) no período de secagem, durante seis meses, com coleta exames no período D-70 (70 dias antes da previsão do parto) e D14 (14 dias após o parto), com amostragem por teto.

A secagem das vacas leiteiras foi realizada em média 60 ± 7 dias antes da data prevista para o parto, com o tipo de tratamento em cada grupo conforme resultados dos exames no D-70, 10 dias antes da secagem.

As amostras de leite foram coletadas para a realização do Teste da Caneca Telada (TCT), Teste de CMT (*California Mastitis Test*), cultura microbiológica, análise de CCS (Contagem de células somáticas), ECS (Escore de Células Somáticas), hiperqueratose (HQ) em cada animal no D-70 e D14, conforme Figura 1.

Figura 1. Descrição dos procedimentos realizados antes (D-70 D-60) e após o parto (D14).



Consideraram-se como tetos negativos, aqueles cujas amostras de leite não apresentaram crescimento de microrganismos, e os tetos positivos foram as amostras de leite que houve crescimento de microrganismos do exame de cultura microbiológica realizado no D-70.

Os 148 tetos foram divididos em três grupos após os resultados dos exames no dia D-70. Os tetos considerados negativos, tiveram dois tratamentos diferentes, o primeiro foi utilizado apenas o selante interno no teto (Grupo 1), e outro grupo com o uso do antibiótico intramamário associado com o selante interno (Grupo 2). Os tetos que foram considerados positivos, foram tratados com o intramamário associado com o selante interno (Grupo 3).

O antibiótico intramamário utilizado foi a base de Cloxacilina Benzatina 600 mg, utilizando uma bisnaga por teto (3,6 g), no grupo 2 e 3. Em todos os tetos, nos 3 grupos de tratamento, uma bisnaga foi utilizada por teto de selante interno a base de subnitrito de bismuto (4 g), para diminuir a influência do ambiente na saúde da glândula mamária durante o período seco.

O uso do selante em todos os tetos foi para evitar contaminação externas dos tetos durante o período seco, para melhor avaliar a dinâmica dos resultados nos grupos estabelecidos.

Na aplicação dos produtos no momento da secagem (D-60), foi realizada a desinfecção dos tetos com solução de iodo polividona tópico a 10% e secagem com papel toalha após 30 segundos, realizando outra antisepsia do esfíncter do teto utilizando algodão umedecido em álcool a 70%. Após a desinfecção dos tetos, foi introduzida a cânula das bisnagas de antibiótico, dependendo do grupo de tratamento, massageando o teto para impulsionar o conteúdo para cima e logo após foi aplicado via cânula dentro do canal do teto a bisnaga de selante interno.

Teste de CMT

Para a realização do CMT foi retirado 2 mL de leite de cada quarto mamário, na placa de CMT, à qual foi adicionada, na mesma proporção a solução de CMT, um detergente aniónico (alquil-lauril sulfato de sódio), homogeneizado com movimentos circulares durante 10 segundos, antes da realização da leitura, que é determinada pela gelificação da amostra, em caso positivo ao teste.

A interpretação do teste geralmente é classificada em escores negativo, uma cruz, duas cruzes ou três cruzes, de acordo com ausência ou aumento da viscosidade da mistura

(17,18). Os quartos mamários que apresentaram viscosidade a partir do escore de uma cruz foram considerados positivos nesta pesquisa.

Os animais foram avaliados através da realização do Teste de CMT, no D-70 e D14, realizado sempre pela mesma pessoa para evitar subjetividade ao teste.

Escore de hiperqueratose nos tetos (HQ)

A severidade da hiperqueratose, um crescimento excessivo da pele do teto, foi classificada visualmente através de uma avaliação em escores, variando de 0 (normal) a 3 (19). Esta ferramenta tem como principal objetivo o auxílio da identificação de problemas, que entre as principais causas está o funcionamento adequado do equipamento de ordenha e correto manejo de ordenha em rebanhos leiteiros.

Contagem de Células Somáticas

Para a realização da Contagem de células Somáticas (CCS), as amostras de leite foram colhidas em frascos plásticos contendo conservante bronopol, no dia D-70 e D14 e enviadas no mesmo dia da coleta para o laboratório.

O bronopol é um conservante em forma de pastilha que em contato com o leite, resulta em uma mistura de coloração rosa claro. Para a determinação de CCS das amostras de leite foi empregada à técnica de citometria de fluxo utilizando o aparelho SOMACOUNT 500, com resultado expresso em número de células multiplicado por 10^3 /mL de leite (20). Nos resultados de CCS, normalmente é considerado animal com mastite subclínica com valores > 200.000 cels/mL de leite (ECS >4) (21).

Com o intuito de linearizar os dados, a CCS foi transformada em Escore de Células Somáticas (ECS), sendo $ECS = [\log_2(CC5/100)] + 3$ (22,23).

Cultura microbiológica

No D-70 e D14, após o teste de caneca telada e teste de CMT, foram realizadas as coletas de amostras de leite para diagnóstico microbiológico individual em todos os tetos,

visando à identificação de patógenos causadores de mastite. As amostras de leite foram obtidas imediatamente antes da ordenha, após descartar os três primeiros jatos de leite. Foi realizada a desinfecção dos tetos com solução de iodo polividona tópico a 10% e secagem com papel toalha após 30 segundos. No momento da coleta, realizou-se antisepsia do esfíncter do teto utilizando algodão umedecido em álcool a 70%. As amostras de leite foram coletadas de tetos individuais, e acondicionadas em frascos estéreis previamente identificados com o número e teto do animal. O material amostrado foi congelado e, então, encaminhado em recipiente isotérmico, com gelo reciclável, ao Laboratório para realização do diagnóstico microbiológico com o isolamento e caracterização dos microrganismos.

Amostras de leite foram cultivadas em placas de ágar sangue 5% (v/v), incubadas em aerobiose em estufa bacteriológica a 37°C e analisadas após 24 e 48 horas. Após a incubação, foram registradas as características de crescimento das colônias em ágar sangue, como produção de hemólise, pigmento, tipo de desenvolvimento e pigmentação das colônias, observando-se a seguir os caracteres morfo-tintoriais utilizando a técnica de coloração de Gram.

As colônias que se revelaram como cocos Gram positivos foram submetidos às provas de catalase e coagulase lenta com plasma de coelho. As leituras para a verificação da produção de coagulase foram realizadas uma, duas, três, quatro e 24 horas após incubação das amostras a 37°C (24). Foram realizadas provas bioquímicas para identificação de microrganismos isolados (25).

As estirpes catalase e coagulase positivas foram submetidas à prova para verificação de produção da acetoína com o teste de Vermelho de Metila e Voges-Proskauer (caldo MRVP) para a diferenciação do *Staphylococcus aureus* e outros *Staphylococcus coagulase positiva*. As estirpes produtoras de acetoína foram testadas

quanto à utilização ou não da maltose e trealose (26). As estirpes que se mostraram positivas a essas provas foram classificadas como *Staphylococcus aureus* (27,28).

Análise estatística

Para a comparação entre os três grupos com o HQ, foi utilizado o Teste de Tukey. Na comparação dos resultados das análises do D-70 e D14 com o teste de CMT, realizou o Teste de Qui-Quadrado e Teste T nos resultados de HQ.

Quanto aos números de isolados foi utilizado o teste de Qui-Quadrado comparando os resultados das análises do D-70 e D14, entre cada grupo.

Em todos os testes estatísticos utilizados foram utilizados nível de significância de 5 %, utilizando o software ACTION 3.0 (29).

Análise econômica

Para análise do custo no tratamento de secagem das vacas utilizou-se o valor real dos exames deste estudo, somando aos valores dos medicamentos. Os valores dos exames de cultura microbiológica foram de \$ 2,05 por amostra, teste de CCS \$0,70 por animal, teste de CMT \$ 0,03 por teto. O custo do antibiótico foi de \$ 3,07 e do selante de \$ 2,25 por teto.

Resultados e discussão

Na comparação dos resultados do teste de CMT entre o D-70 e D14, observou-se uma diferença estatística nos Grupos 2 e 3, conforme Tabela 1. O Grupo 3, que são os tetos positivos no D-70, teve uma redução de 83,87% e 32,26% no teste de CMT entre o D-70 e D14, com diferença estatística.

Tabela 1. Média e Desvio Padrão do teste de CMT e HQ em cada grupo de tratamento no D-70 e D14.

| GRUPO | n | CMT + ¹ | CMT + ² | HQ ¹ | HQ ² | | |
|-------|----|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------|---------------------|-------|
| 1 | 43 | 34,88% ^a | 25,58% ^a | 0,81 ^{Aa} | ±0,79 | 0,44 ^{Ab} | ±0,70 |
| 2 | 43 | 48,84% ^a | 13,95% ^b | 0,91 ^{ABa} | ±0,68 | 0,70 ^{ABa} | ±0,80 |
| 3 | 62 | 83,87% ^a | 32,26% ^b | 1,26 ^{Ba} | ±1,02 | 0,95 ^{Bb} | ±1,12 |

Nota: Números seguidos de letras minúsculas diferentes na mesma linha ou letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, são diferentes estatisticamente ($p<0,05$). ¹: dados coletados no D-70. ²: dados coletados no dia D14.

Recomenda-se o tratamento com antibiótico intramamário durante o período seco para tratamento da mastite subclínica, em associação com selante interno, conforme utilizado nesta pesquisa (11). O subnitrito de bismuto utilizado nesta pesquisa é a única base de selante encontrada no mercado, com resultados comprovados em outras pesquisas (11,30).

A positividade do teste de CMT do Grupo 1 e 2 no D-70, em tetos que não houve crescimento bacteriano, demonstra a necessidade de cautela ao utilizar o teste no momento da secagem. Pode ocorrer a presença de microrganismos em tetos negativos ao Teste de CMT, com baixa especificidade (31,32).

Os valores médios de ECS dos três grupos de tratamento, antes e depois do período seco, foram acima de 4 (maior que 200.000 cels/mL), mesmo nos grupos 1 e 2 que não tiveram crescimento microbiológico. Para o tratamento seletivo na secagem, pesquisas relataram que ECS e CMT podem ter erros nas interpretações e interferir na segregação do tratamento no período seco (31,33–36).

Na CCS individual, valores abaixo de 200.000 cels/mL de leite, são considerados animais sem infecção intramamária, mas pesquisas mostram que pode ocorrer infecção intramamária mesmo em valores dentro dos padrões de referência (37–39) e que o Teste

de CMT, mesmo com resultado considerado negativo, pode haver microrganismos no quarto mamário (31).

Na Tabela 1, em relação a HQ, o grupo 1e 2 obteve diferença estatística em relação ao grupo 3 no D-70 e D14. Houve diferença do grupo 1 e 3 e não houve diferença no grupo 2 comparando os resultados de cada grupo no D-70 com o D14, mostrando assim que o período seco pode diminuir o grau de HQ, mas em alguns casos são irreversíveis, conforme o nível da lesão no teto (19). Quanto maior o escore de HQ, menor a barreira mecânica e maior facilidade de contaminação do teto, consequente incidência de mastite subclínica (19,40,41).

Quanto aos números de bactérias isoladas, no D-70 e D14, não houve diferença comparando o Grupo 1 e 2, mas com diferença no grupo 3. O Grupo 1 e 2 eram todos tetos negativos no D-70, mostrando que o antibiótico intramamário não influenciou no resultado do D14, conforme Tabela 2. No grupo 3 teve uma redução de isolados de 62 para 15 no D14. Pesquisas relataram uma redução de 70,27% de redução da infecção em tetos tratados, comparando antes e após o parto (15).

O microrganismo mais prevalente, conforme a Tabela 2, no D-70 e D14 foi o *Streptococcus agalactiae* com 43,37% do total de isolados, seguido do *Staphylococcus aureus* (16,87%) e *Corynebacterium spp.* (13,25%) e *Staphylococcus Coagulase negativos (SCN)* (10,84%), com diferença significativa do número de isolados encontrados no D-70 e D14. Pesquisas obtiveram uma frequência de *Streptococcus spp.* (24,52%), *Staphylococcus aureus* (13,69%), *Corynebacterium spp.* (6,87%) e SCN (75,97%) (15). *Streptococcus spp.* (2,79%) foi menos frequente, não houve crescimento de *Staphylococcus aureus*. Por outro lado, CNS (54,31%) foram mais frequentes, seguido

de *Corynebacterium spp.* (12,69%), nos resultados dos exames de cultura microbiológica por quarto mamário antes e após o parto (42).

Tabela 2. Número de microrganismos isolados em amostras de leite em relação aos grupos de tratamentos no D-70 e D14.

| | Grupos | | | | | | n | % |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|----|-------|
| | D-70 | D14 | D-70 | D14 | D-70 | D14 | | |
| <i>Corynebacterium sp.</i> | 0 | 1 | 0 | 0 | 10 | 0 | 11 | 13,25 |
| <i>Escherichia coli</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 4 | 4,82 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1,20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 8 | 14 | 16,87 |
| <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> | 0 | 2 | 0 | 2 | 5 | 0 | 9 | 10,84 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 32 | 4 | 36 | 43,37 |
| <i>Streptococcus bovis</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 3,61 |
| <i>Streptococcus uberis</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 5 | 6,02 |
| Total: | 0 ^a | 3 ^a | 0 ^a | 3 ^a | 62 ^a | 15 ^b | 83 | 100 |

Nota: Números seguidos de letras minúsculas diferentes na mesma linha são diferentes estatisticamente ($p<0,05$).

As bactérias *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus coagulase negativo*, *Streptococcus bovis* e *Streptococcus uberis* tiveram cura bacteriológica no tratamento do grupo 3 entre o D-70 e D14, conforme tabela 2. A frequência de *Streptococcus agalactiae* reduziu de 32 para 4 (87,5%), e *Staphylococcus aureus*, teve um aumento de 5 para 8 (60%), no tratamento do Grupo 3 no D-70 em relação ao D14. O resultado no tratamento de mastite subclínica em tetos positivos no período seco está diretamente relacionado com o tipo de agente mais prevalente no rebanho (43).

O Grupo 1 e 2, comparando a quantidade de microrganismos isolados, no D-70 e D14, não tiveram diferença estatística. A diferença no tratamento nos Grupos 1 e 2 foram o uso do antibiótico, reforçando a possibilidade do SDCT em tetos considerados

negativos. Em outra pesquisa compararam o mesmo tratamento com e sem antibiótico, associado com o selante, mas em vacas de baixo risco, com histórico de CCS abaixo de 200×10^3 cels/mL, e obtiveram o mesmo resultado dos tetos negativos com e sem antibiótico, com segregação prévia por histórico de análise de CCS (44).

A viabilidade econômica do SDCT está ligada com a incidência de mastite em cada rebanho, ou seja, a diminuição do uso de antibióticos está diretamente relacionada com a incidência de mastite subclínica no final da lactação dentro de cada rebanho (9).

Na Tabela 3, mostra o custo estimado do tratamento com o exame de cultura microbiológica, comparando com hipóteses de segregação utilizando o teste de CMT, CCS e BDCT (Blanket Dry Cow Therapy) que utiliza antibiótico em todos os tetos independente de exame prévio.

Tabela 3. Custo estimado do tratamento seletivo na secagem de vacas leiteiras conforme cada método de diagnóstico em tetos positivos e negativos.

| Método | n | Positivos | | Negativos | | | CF (\$) |
|---------|-----|-----------|----------|-----------|---------|----------|---------|
| | | CP (\$) | CTP (\$) | n | CN (\$) | CTN (\$) | |
| Cultura | 83 | 7,37 | 611,71 | 65 | 4,30 | 279,50 | 891,21 |
| CMT | 88 | 5,35 | 470,80 | 60 | 2,28 | 136,80 | 607,60 |
| BDCT | 148 | 5,32 | 787,36 | 0 | 5,32 | - | 787,36 |

Nota: CP: Custo por teto positivo (exames+antibiótico + selante), CTP: custo total em tetos positivos, CN: Custo por teto negativo (exames+ selante), CTN: custo total em tetos negativos e CF: Custo final (tetos positivos e negativos).

Considerando BDCT em vacas com valores de CCS superiores a 200×10^3 cels/ml de leite, 29 (69,05%) animais estariam positivos o custo por teto seria de O tratamento no final da lactação utilizando o histórico de CCS durante a lactação tem sido o mais utilizado em outras pesquisas (9,14,21,45), porém pode ocorrer crescimento microbiológico em vacas com valores abaixo de 200×10^3 cels/mL (45). Com o uso da

cultura microbiológica como parâmetro o CF foi de \$891,21, com o teste de CCS de \$792,72 e com o uso do método BDCT de \$787,36. O custo utilizando teste de cultura, é variável, onde dependendo do grau de contaminação da glândula mamária, varia o uso de antibiótico, com possibilidade de ser mais viável financeiramente que o BDCT.

O custo estimado no tratamento em tetos positivos utilizando o exame prévio de cultura (CP) foi de \$7,37, teste de CMT \$ 5,35e BDCT \$5,32. Em tetos negativos (CN), o custo estimado do teste de cultura foi de \$4,30, teste de CMT \$ 2,28 e BDCT \$5,32. Quando utilizou-se o teste de CMT para segregar os tetos positivos e negativos, o custo Final (CF) foi menor no momento da secagem com \$607,60, porém existe a possibilidade de crescimento microbiológico em tetos considerados negativos (31,46), com ocorrências de falso positivos ao teste, em tetos negativos, como ocorreu nesta pesquisa.

Utilizando o exame de cultura no final da lactação do D-70, tem um maior número de diagnóstico de tetos negativos, utilizando menos antibióticos e diminuindo o custo do tratamento no período seco. O tratamento seletivo no momento da secagem utilizando o método de cultura pode ser economicamente mais viável do que o BDCT, caso o número de infecções intramamárias seja baixo, com menor gasto com antibiótico intramamário (9,42).

Existe várias orientações de organizações internacionais, recomendando cuidado no uso de antibióticos em animais de produção, para diminuir resíduos nos alimentos e resistência bacteriana nos animais e no ser humano (7,13,47–50).

Tanto economicamente, quanto em relação a sanidade do quarto mamário durante o período seco, é recomendado o tratamento seletivo de tetos com a cultura microbiológica. O teste de CCS não deve ser utilizado no SDCT no final da lactação, pois os resultados dos exames julgam o animal e não o teto individualmente, limitando o

resultado no protocolo de diminuição de antibióticos estabelecido na secagem das vacas. É importante uma segurança no diagnóstico na secagem utilizando o SDCT para garantir uma diminuição do uso de antibióticos e a sanidade da glândula mamária durante o período seco.

Conclusão

O tratamento seletivo de tetos na secagem de vacas leiteiras apresenta vantagens em relação ao Blanket Dry Cow Therapy, diminuindo o uso indiscriminado de antibióticos, evita a resistência bacteriana, assegura uma melhor qualidade do leite e uma maior segurança alimentar. Deve ser utilizado antibióticos apenas para tetos com mastite subclínica, com a realização da cultura microbiológica no final da lactação, realizada por quarto mamário individual.

Referências bibliográficas

1. Ruegg PL. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J Dairy Sci* [Internet]. Elsevier; 2017 Dec 1 [cited 2017 Dec 20];100(12):10381–97. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217310329>. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>.
2. Akers RM. A 100-Year Review: Mammary development and lactation. *J Dairy Sci* [Internet]. 2017 Dec [cited 2017 Dec 20];100(12):10332–52. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217310354>. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12983>.
3. Down PM, Bradley AJ, Breen JE, Green MJ. Factors affecting the cost-effectiveness of on-farm culture prior to the treatment of clinical mastitis in dairy cows. *Prev Vet Med* [Internet]. Elsevier; 2017 Sep 15 [cited 2017 Dec 20];145:91–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587717302684>. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.07.00>
4. Down PM, Green MJ, Hudson CD. Rate of transmission: A major determinant of the cost of clinical mastitis. *J Dairy Sci* [Internet]. Elsevier; 2013;96(10):6301–14. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213005559>. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6470>
5. Shahid MQ, Reneau JK, Chester-Jones H, Chebel RC, Endres MI. Cow- and herd-level risk factors for on-farm mortality in Midwest US dairy herds. *J Dairy Sci* [Internet]. Elsevier; 2015;98(7):4401–13. Available from:

- <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215003215>. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6470>
6. Bressmann T. Self-inflicted cosmetic tongue split: a case report. *J Can Dent Assoc* [Internet]. 2004 Mar [cited 2018 Jan 1];70(3):156–7. Available from: [https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final paper_with cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf). <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
7. Wells V, Piddock LJ V. Addressing antimicrobial resistance in the UK and Europe. *Lancet Infect Dis* [Internet]. Elsevier; 2017 Dec 1 [cited 2018 Jan 1];17(12):1230–1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29133171>. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
8. Higgins HM, Golding SE, Mouncey J, Nanjiani I, Cook AJC. Understanding veterinarians' prescribing decisions on antibiotic dry cow therapy. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2017 Apr 1 [cited 2017 Dec 18];100(4):2909–16. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217300747>. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11923>
9. Scherpenzeel CGM, Hogeweegen H, Maas L, Lam TJGM. Economic optimization of selective dry cow treatment. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2017 Feb [cited 2017 Dec 18];101(2):1530–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217311098>. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13076>
10. Dolder C, van den Borne BHP, Traversari J, Thomann A, Perreten V, Bodmer M. Quarter- and cow-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci species in Swiss dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 2017

- Jul [cited 2017 May 7];100(7):5653–63. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217303703>. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11639>
11. Golder HM, Hodge A, Lean IJ. Effects of antibiotic dry-cow therapy and internal teat sealant on milk somatic cell counts and clinical and subclinical mastitis in early lactation. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2016 Sep 1 [cited 2017 Mar 1];99(9):7370–80. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030216303745>. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11639>
12. Kuipers A, Koops WJ, Wemmenhove H. Antibiotic use in dairy herds in the Netherlands from 2005 to 2012. *J Dairy Sci* [Internet]. 2016;99(2):1632–48.
Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215009054>.
<https://doi.org/10.3168/jds.2014-8428>
13. Piddock LJV. Reflecting on the final report of the O'Neill Review on Antimicrobial Resistance. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016. p. 767–8.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30127-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30127-X)
14. Scherpenzeel CGM, Tijs SHW, den Uijl IEM, Santman-Berends IMGA, Velthuis AGJ, Lam TJGM. Farmers' attitude toward the introduction of selective dry cow therapy. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2016 Oct 1 [cited 2017 Dec 18];99(10):8259–66. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030216304623>. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11349>
15. Cameron M, McKenna SL, MacDonald KA, Dohoo IR, Roy JP, Keefe GP. Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: risk of postcalving intramammary infection and clinical mastitis in the subsequent

- lactation. *J Dairy Sci* [Internet]. Elsevier; 2014 Jan;97(1):270–84. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213007352>. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7060>
16. Council NR. Nutrient Requirements of Dairy Cattle [Internet]. Washington, D.C.: National Academies Press; 2001 [cited 2017 Apr 18]. Available from: <http://www.nap.edu/catalog/9825>.
17. Barnum DA, Newbould FH. The Use of the California Mastitis Test for the Detection Of Bovine Mastitis. *Can Vet J = La Rev Vet Can* [Internet]. 1961 Mar [cited 2017 Apr 19];2(3):83–90. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1585631/pdf/canvetj00173-0009.pdf>. PMID: 17421323
18. Schalm OW, Noorlander DO. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *J Am Vet Med Assoc* [Internet]. 1957 Mar 1 [cited 2017 Apr 19];130(5):199–204. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13416088>. PMID: 13416088
19. National Mastitis Council. Guidelines for evaluating teat skin condition. Natl Mastit Counc [Internet]. 2007 [cited 2017 Apr 19];1–5. Available from: <http://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2016/09/Guidelines-for-Evaluating.pdf>.
20. Bentley Instruments. Somacount 2000 Operator's Manual. Chaska; 1995. 12 p.
21. Cameron M, Keefe GP, Roy J-P, Stryhn H, Dohoo IR, McKenna SL. Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Milk yield and somatic cell count in the subsequent lactation. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2015 Apr;98(4):2427–36. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215000570>. <https://doi.org/>

- [10.3168/jds.2014-8876](https://doi.org/10.3168/jds.2014-8876)
22. Philpot WN, Nickerson SC. Mastitis: Counter Attack [Internet]. Babson Bros. Company, editor. 1991 [cited 2017 Apr 19]. 150 p. Available from: <https://books.google.co.in/books/about/Mastitis.html?id=OSHpGAAACAAJ>.
23. Shook GE. Genetic Improvement of Mastitis Through Selection on Somatic Cell Count. Vet Clin North Am Food Anim Pract [Internet]. 1993;9(3):563–77. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749072015306228>.
[https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30622-8](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30622-8)
24. Garcia ML, Moreno B, Bergdoll MS. Characterization of staphylococci isolated from mastitic cows in Spain. Appl Environ Microbiol [Internet]. 1980 Mar;39(3):548–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3437155/>
25. Rodrigues E, Gonçalves AM, Silva W, Régis K, Móta TR. Perfil de sensibilidade antimicrobiana. 2012;701–11.
26. Teixeira LM, Siqueira G, Shewmaker PL, Facklam RR. Manual of Clinical Microbiology [Internet]. 10th ed. Versalovic J, Jorgensen JH, Funke G, Warnock DW, Landry ML, Carroll KC, editors. Manual of Clinical Microbiology, 10th edition. American Society of Microbiology; 2011. 350-364 p. Available from: <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555816728>.
<https://doi.org/10.1128/9781555816728>
27. Lapage SP. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. In: Journal of Clinical Pathology [Internet]. Williams and Wilkins; 1976. p. 958–958. Available from: <http://jcp.bmjjournals.org/cgi/doi/10.1136/jcp.29.10.958-c>.
<https://doi.org/10.1136/jcp.29.10.958-c>

28. Peterkin PI. Compendium of methods for the microbiological examination of foods (3rd edn). Trends in Food Science & Technology. 1993. p. 199.
[https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90131-S](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90131-S)
29. Equipe Estatcamp. Software Action. [Internet]. São Carlos - SP, Brasil: Estatcamp - Consultoria em estatística e qualidade; 2014. p. v3.2.60. Available from: www.portalaction.com.br.
30. Cameron M, Keefe GP, Roy JP, Dohoo IR, MacDonald KA, McKenna SL. Evaluation of a 3M Petrifilm on-farm culture system for the detection of intramammary infection at the end of lactation. Prev Vet Med [Internet]. Elsevier B.V.; 2013;111(1–2):1–9. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.03.006>
31. Bhutto AL, Murray RD, Woldehiwet Z. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. Res Vet Sci [Internet]. Elsevier Ltd; 2012 Feb;92(1):13–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.006>.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.006>
32. Mahmmod YS, Toft N, Katholm J, Grønbæk C, Klaas IC. Bayesian estimation of test characteristics of real-time PCR, bacteriological culture and California mastitis test for diagnosis of intramammary infections with *Staphylococcus aureus* in dairy cattle at routine milk recordings. Prev Vet Med [Internet]. Elsevier B.V.; 2013;112(3–4):309–17. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.07.021>.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.07.021>
33. Bijl E, van Valenberg HJF, Huppertz T, van Hooijdonk ACM. Protein, casein, and micellar salts in milk: Current content and historical perspectives. J Dairy Sci [Internet]. Elsevier; 2013;96(9):5455–64. Available from:

- http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213004931.
- <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6497>
34. Gindonis V, Taponen S, Myllyniemi A-L, Pyörälä S, Nykäsenoja S, Salmenlinna S, et al. Occurrence and characterization of methicillin-resistant staphylococci from bovine mastitis milk samples in Finland. *Acta Vet Scand* [Internet]. 2013;55(1):61. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-61>
35. Litwińczuk Z, Król J, Brodziak A. Factors determining the susceptibility of cows to mastitis and losses incurred by producers due to the disease - A review. *Ann Anim Sci* [Internet]. 2015;15(4):819–31. Available from: http://www.degruyter.com/view/j/aoas.ahead-of-print/aoas-2015-0035/aoas-2015-0035.xml. <https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0035>
36. Matyi SA, Dupre JM, Johnson WL, Hoyt PR, White DG, Brody T, et al. Isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* strains from a Paso del Norte dairy1. *J Dairy Sci* [Internet]. 2013;96(6):3535–42. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213003032. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6590>
37. Blagitz MG, Souza FN, Batista CF, Diniz SA, Azevedo LFF, Silva MX, et al. Flow cytometric analysis: Interdependence of healthy and infected udder quarters. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2015;98(4):2401–8. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215000909. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8727>
38. Gonçalves JL, Tomazi T, Barreiro JR, Beuron DC, Arcari MA, Lee SHI, et al. Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *Vet J*

- [Internet]. 2016 Aug;209:87–92. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023315003330>.
<https://doi.org/10.3168/jds.2014-8727>
39. Condas LAZ, De Buck J, Nobrega DB, Carson DA, Roy J-P, Keefe GP, et al. Distribution of non-aureus staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2017 Jul;100(7):5613–27.
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-12479>
40. Guarín JF, Ruegg PL. Short communication: Pre- and postmilking anatomical characteristics of teats and their associations with risk of clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 2016 Oct [cited 2017 May 7];99(10):8323–9.
Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030216304830>.
<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10093>
41. Martins CMMR, Pinheiro ESC, Gentilini M, Benavides ML, Santos MV. Efficacy of a high free iodine barrier teat disinfectant for the prevention of naturally occurring new intramammary infections and clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2017 Feb;100(5):3930–9. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217301571>.
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11193>
42. Vasquez AK, Nydam D V, Foditsch C, Wieland M, Lynch R, Eicker S, et al. Use of a culture-independent on-farm algorithm to guide the use of selective dry-cow antibiotic therapy. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2018 Jun;101(6):5345–61. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218302844>.

- <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13807>
43. Hadrich JC, Wolf CA, Lombard J, Dolak TM. Estimating milk yield and value losses from increased somatic cell count on US dairy farms. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2018;1–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218300389>.
- <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13840>
44. Vasquez AK, Nydam DV, Capel MB, Eicker S, Virkler PD. Clinical outcome comparison of immediate blanket treatment versus a delayed pathogen-based treatment protocol for clinical mastitis in a New York dairy herd. *J Dairy Sci* [Internet]. 2017 Apr [cited 2018 May 27];100(4):2992–3003. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217300905>.
- <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13840>
45. Scherpenzeel CGM, den Uijl IEM, van Schaik G, Riekerink RGMO, Hogeveen H, Lam TJGM. Effect of different scenarios for selective dry-cow therapy on udder health, antimicrobial usage, and economics. *J Dairy Sci* [Internet]. Elsevier; 2016 May 1 [cited 2017 Dec 18];99(5):3753–64. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030216300078>.
- <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9963>
46. Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek BJ, Lim GH. Sensitivity and Specificity of Somatic Cell Count and California Mastitis Test for Identifying Intramammary Infection in Early Lactation. *J Dairy Sci* [Internet]. 2001 Sep [cited 2017 May 4];84(9):2018–24. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030201746450>.
- [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74645-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74645-0)
47. Reardon S. Phage therapy gets revitalized. *Nature* [Internet]. 2014 Jun 5 [cited

- 2018 Jan 1];510(7503):15–6. Available from: [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR Review Paper - Tackling a crisis for the health and wealth of nations_1.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf). <https://doi.org/10.1038/510015a>
48. Brogan DM, Mossialos E. A critical analysis of the review on antimicrobial resistance report and the infectious disease financing facility. Globalization and Health. 2016. <https://doi.org/10.1186/s12992-016-0147-y>
49. Fitchett JR, Atun R. Antimicrobial resistance: Opportunity for Europe to establish global leadership. Lancet Infect Dis [Internet]. 2016 Apr [cited 2018 Jan 1];16(4):388–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309915004107>. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00410-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00410-7)
50. Bragginton EC, Piddock LJV. UK and European Union public and charitable funding from 2008 to 2013 for bacteriology and antibiotic research in the UK: An observational study. Lancet Infect Dis [Internet]. Elsevier; 2014 Sep 1 [cited 2018 Jan 1];14(9):857–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25065509>. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70825-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70825-4)

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mastite é uma doença complexa e depende de vários fatores tanto para prevenir, quanto para o tratamento. É importante ter uma visão geral da mastite e não apenas diretamente aos microrganismos. Deve-se atentar ao bem estar dos animais, nutrição, manejo adequado, para assim o animal possa ter resposta contra aos agentes patogênicos.

Na medicina de produção na área animal foca na prevenção dos problemas antes que de fato ocorra, principalmente no caso de mastite que os fatores de riscos são muitos, e a consequência quase sempre é irreversível.

O uso racional de antibióticos é algo crescente, com legislações cada vez mais exigentes, e as pesquisas devem ter por obrigação, fornecer o caminho correto da produção sustentável e saudável.

Nesta pesquisa observou-se que é possível não usar antibiótico em todos os tetos indiscriminadamente, sem causar prejuízos para o animal e a propriedade leiteira.

Com o uso racional de antibióticos tem uma tendência de uma menor resistência dos agentes no tratamento, havendo assim uma melhor eficiência no controle da mastite no rebanho.



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Rua Ceará, S/N - Bloco 2T, sala 113 – CEP 38405-315
Campus Umuarama – Uberlândia/MG – Ramal (VoIP) 3423;
e-mail:ceua@propp.ufu.br; www.comissoes.propp.ufu.br

**ANÁLISE FINAL Nº 101/17 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE
ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 020/17**

Projeto Pesquisa: "Avaliação do uso seletivo de antibióticos durante o período seco em vacas leiteiras".

Pesquisador Responsável: Anna Monteiro Correia Lima

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

Situação: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: A CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 09 de junho de 2017.

Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão
Coordenador da CEUA/UFU
Portaria nº 665/17