

Tópico de Interesse Geral

Considerações sobre o tratamento das mastites¹

Helio Langoni^{2*}, Anelise Salina³, Gabriela Capriogli Oliveira³, Nathália Brancato Junqueira³, Benedito Donizete Menozzi³ e Sâmea Fernandes Joaquim³

ABSTRACT.- Langoni H., Salina A., Oliveira G.C., Junqueira N.B., Menozzi B.D. & Joaquim S.F. 2017. [Considerations on the treatment of mastitis.] Considerações sobre o tratamento das mastites. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 37(11):1261-1269. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-970, Brazil. E-mail: hlangoni@fmvz.unesp.br

Mastitis are considered a major problem on animals for milk production. Changes the milk composition and increases the somatic cell count (SCC). The microorganism involved in the disease may be infectious origin such as *Staphylococcus aureus* or environmental such as *Escherichia coli*. Bacterial culture is a diagnostic tool and aids in the detection of pathogenic causing mastitis. However factor such as phagocytosis may result a negative result. When established a mastitis control program early diagnose and the initiation of appropriate treatment of clinical cases are fundamental for achieving the goals and success is related to the pathogen involved. The indication of treatment of long duration, or extended therapy has improved the response to the treatment in cases of mastitis by *S. aureus*, however with 30-50% of cure. From the view point of handling of animals, given the high infectiousness of this pathogen, its persistence in the herd and cost-effective as a function of response to treatment often has prioritized the animal's discard in order to control the mastitis cases in properties. Control measures are very important to contribute the reduction of cases of mastitis symptoms by this pathogen. The indication of intramammary treatment associated with systemic has power effective in cases of mastitis by *E. coli*, whose acute cases present with sepsis and toxemia. Also address aspects of alternative treatments of mastitis, mainly used in the organic process of milk production.

INDEX TERMS: Control program, extended therapy, bovine mastitis.

RESUMO.- A mastite é considerada o maior problema dos animais destinados à produção de leite. Altera a sua composição e aumenta a contagem de células somáticas (CCS). Os micro-organismos envolvidos na doença podem ser origem infecciosa, como *Staphylococcus aureus*, ou ambiental, tal como *Escherichia coli*. A cultura bacteriana é uma ferramenta de diagnóstico e auxilia na detecção do patógeno causador da mastite. No entanto, fatores como fagocitose podem desencadear um resultado negativo. Quando estabelecido um programa de controle de masti-

te, o diagnóstico precoce e o início do tratamento adequado dos casos clínicos são fundamentais para se atingir os objetivos e seu sucesso, está relacionado com o patógeno envolvido. A indicação do tratamento de longa duração, ou terapia estendida, tem melhorado a resposta ao tratamento em casos de mastite por *S. aureus*, no entanto, com 30-50% de cura. Do ponto de vista do manejo dos animais, devido a alta contagiosidade deste patógeno, sua persistência no rebanho e custo em função ao tratamento, muitas vezes, o descarte do animal tem sido priorizado a fim de controlar os casos de mastite em propriedades. As medidas de controle são muito importantes para contribuir com a redução de casos de mastite por este patógeno. A indicação do tratamento intramamário associada com sistêmico tem poder efetivo em casos de mastite por *E. coli*, cujos casos agudos apresentam-se com sepsis e toxemia. São abordados ainda aspectos de tratamentos alternativos das mastites, utilizados principalmente no processo orgânico de produção leiteira.

¹ Recebido em 25 de fevereiro de 2016.

Aceito para publicação em 16 de dezembro de 2016.

² Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP, 18618-970, Brasil. *Autor para correspondência: hlangoni@fmvz.unesp.br

³ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FM<VZ>Unesp, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP, 18618-970.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Programa de controle, terapia estendida, mastite bovina.

INTRODUÇÃO

As mastites continuam sendo um dos principais problemas sanitários nos animais destinados à produção de leite. De múltipla etiologia e de ocorrência mundial, sua prevalência está relacionada com o manejo sanitário dos animais e da ordenha. Especificamente na mastite bovina pode-se afirmar, que se trata de um entrave para a pecuária leiteira, repercutindo negativamente no que se refere à qualidade do leite, além prejuízos econômicos e problemas de saúde pública.

Os efeitos das mastites na produção de leite estão diretamente relacionados ao grau de lesão do tecido mamário, sendo maiores as alterações nos componentes do leite e mais elevadas as contagens de células somáticas (CCS). A redução na produção de leite deve-se à lesão de células epiteliais secretoras da glândula mamária infectada. De origem infecciosa em sua grande maioria, tanto nas mastites subclínicas como clínicas, pode ser classificada como contagiosa e ambiental sendo no primeiro caso causado por patógenos que são encontrados na pele e mucosas dos animais e ambientais por aqueles patógenos que são encontrados principalmente no ambiente onde os animais são mantidos, incluindo-se todas as instalações onde são manejados (Langoni 2013).

O impacto que a mastite causa sobre a qualidade do leite é reconhecido mundialmente e os programas para o seu controle devem ser entendidos como pilares de sustentação dos programas nacionais de qualidade do leite que devem ser pautados em medidas preventivas, na identificação e tratamento adequado de animais infectados, sendo este um fator limitante e que apresenta maior dificuldade para ser atingido, dado a complexidade da etiologia das mastites, o momento em que se diagnostica cada caso e os aspectos de resistência microbiana (Barkema et al. 2006).

Considerando-se, portanto, que a qualidade do leite esta diretamente relacionada à prevalência de mastite nos rebanhos e a importância do seu tratamento, bem como os aspectos relacionados aos patógenos envolvidos nas infecções intramamárias, o objetivo da presente revisão é apresentar aspectos gerais sobre a mastite bovina, enfatizando-se a sua etiologia, os tipos de mastite e o tratamento de casos subclínicos, como medida profilática à secagem bem como dos casos clínicos durante a lactação.

ASPECTOS ETIOLÓGICOS

A múltipla etiologia das mastites é um aspecto a ser considerado no seu tratamento (Watts 1988, Langoni et al. 1998) e muitas vezes relacionado ao seu êxito e às estratégias de combate e controle. Os micro-organismos podem ser divididos em agentes contagiosos, que se disseminam no momento da ordenha (Bradley 2002) por meio dos tetos infectados, principalmente pelas mãos do ordenhador e ordenhadeira. Os ambientais por outro lado, não colonizam a glândula mamária, mas podem causar mastite devido a contaminação ambiental, do conjunto de teteiras da máquina de ordenha, e exterior dos tetos ou úbere contaminados, fato que permite que estes micro-organismos, via canal do teto, cheguem até a cisterna da glândula causando a infecção. São listados como

contagiosos: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), *Mycoplasma* spp., *Corynebacterium bovis*; como ambientais são mais frequentes *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, leveduras, algas e fungos (Langoni et al. 2011). *Trueperella pyogenes* pode ser considerado como patógeno contagioso e também ambiental.

Staphylococcus aureus é o agente mais importante das mastites, considerando-se a sua alta contagiosidade (Hogeveen et al. 2011, Contreras & Rodriguez 2011). Em algumas regiões a adoção de programas de controle rígido, incluindo descarte de vacas repetidoras de mastite por este micro-organismo propiciaram redução significativa na sua prevalência. Uma característica importante e que influencia no tratamento das mastites é que este patógeno coloniza o epitélio do teto, fixando-se nas células epiteliais da glândula mamária dificultando a ação dos antimicrobianos. As glândulas infectadas diminuem a produção de leite pela destruição permanente do parênquima, originando áreas de fibrose e micro-abscessos que protegem o agente dos mecanismos de defesa do úbere, como a fagocitose pelos neutrófilos (Ribeiro et al. 2016).

Staphylococcus coagulase negativos (SCN) tem despertado o interesse dos pesquisadores, considerando-se que podem ocasionar infecções persistentes com o aumento de CCS (Gillespie et al. 2009) e produção de enterotoxinas (De Freitas Guimarães et al. 2013), além da diminuição da produção de leite (Taponen et al. 2007, Silanikove et al. 2014). Devido a menor patogenicidade deste grupo, são considerados como secundários e as espécies mais frequentes são: *Staphylococcus chromogenes*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hyicus*, *S. simulans* e *S. xylosum* (Thorberg et al. 2009). As infecções pelos SCN são mais frequentes no início da lactação (Gillespie et al. 2009).

Streptococcus agalactiae caracteriza-se pela sua alta contagiosidade e os animais infectados são importantes reservatórios para o rebanho, cuja transmissão se dá durante o processo de ordenha. Sobrevive pouco tempo no ambiente, persistindo na glândula mamária por longos períodos. Em sua maioria, a infecção ocorre na forma subclínica com elevado aumento de CCS. É detectado em 31 a 48% das amostras de leite de tanques. No Brasil, Elias et al. (2012) utilizando ferramentas moleculares como a reação em cadeia pela polimerase detectaram esse agente em 44,5% das amostras de leite de tanques de expansão. Considerando-se a resposta favorável a antibioticoterapia é possível o controle e até mesmo a erradicação deste micro-organismo no rebanho (Rato et al. 2013).

A maioria dos casos de mastite por este agente é subclínica, alternando com casos esporádicos de mastite clínica, com alterações macroscópicas do leite, com flocos de pus e leite com aspecto mais aquoso, seguido de queda de produção. Em casos de mastite subclínica há diminuição de 25,2% ao se comparar com a produção de leite de teto homólogo negativo no mesmo animal (Domingues et al. 1998).

Os *Actinomycetales* também são considerados agentes contagiosos. Entre eles *Corynebacterium bovis*, que apesar de controvertidas com relação ao seu papel na etiologia da mastite, tem sido relatada a sua importância por vários autores, considerando-se a diminuição da produção e elevada frequência com que são encontrados nas mastites subclínicas como agente infeccioso crônico, e em associação com outros micro-organismos (Domingues et al. 1998). Está associado principalmente a casos subclínicos de mastite, entretanto, pode ser agente de mastites clínicas (Langoni et al. 2016). Independente do fato de ser considerado como patógeno menor (Huxley et al. 2003), de baixa patogenicidade, há que se considerar a sua alta contagiosidade (Langoni et al. 2009).

Devido a sua contagiosidade, para o seu controle, devem ser instituídas medidas de higiene rigorosas. A literatura assinala maior prevalência de *Corynebacterium bovis* em rebanhos que não utilizam desinfecção dos tetos após a ordenha, ao se comparar com aqueles cuja prática é estabelecida como rotina diária. A sua presença nos rebanhos, com alta prevalência, pode ser um indicativo de manejo higiênico sanitário inadequado da ordenha, particularmente quanto ao pós-*dipping* (Santos & Fonseca 2007).

Deve-se considerar que este patógeno estimula uma resposta celular com aumento de moderado a elevado na CCS (Huxley et al. 2004, Langoni et al. 2016), além do impacto negativo quanto à menor produção leiteira (Domingues et al. 1998). Ainda no grupo dos *Actinomycetales*, *Trueperella pyogenes*, denominação atual para *Arcanobacterium pyogenes*, causa as mastites conhecidas como mastites de verão nos países com estações do ano bem definidas, que pode ser transmitida pela ação de insetos como moscas, que veiculam o agente. São casos de mastites que tendem a se tornar crônicos, do tipo abscedantes, cujos abscessos se fistulam e deixam fluir pus com odor fétido característico. São de difícil tratamento apesar da ação favorável de vários antimicrobianos *in vitro*, como penicilina, ampicilina, oxacilina entre outros.

De alta contagiosidade e preocupante, são as mastites causadas por agentes do gênero *Mycoplasma*, sendo *Mycoplasma bovis* o mais frequentemente isolado (Junqueira & Langoni 2016). Inicialmente, ocorrem surtos endêmicos de mastites clínicas que evoluem para mastites crônicas, que ocorrem geralmente após a introdução no rebanho de vacas infectadas, sendo que a transmissão ocorre principalmente durante a ordenha, ou entre elas, em ambientes com práticas higiênicas inadequadas. É um agente ubíquo que sobrevive no trato respiratório e vagina, e que pode se disseminar no rebanho ocasionando doenças respiratórias, artrites e problemas reprodutivos (Junqueira & Langoni 2016).

A sua transmissão pode ocorrer também por via horizontal, de animal a animal, especialmente nos locais de ventilação deficiente com dispersão do agente desde o aparelho respiratório até o úbere, via sêmen contaminado, pelo consumo de leite contaminado e por meio de fômites. Nas vacas em lactação os principais sinais são a inflamação do úbere, diminuição na produção, com dois ou mais tetos afetados, além da secreção láctea alterada, e as infecções crônicas. Não há diferenças no úbere que permita suspeitar deste agente. A sua confirmação é possível pelo isolamento em meios adequados, ou por técnicas moleculares, havendo a indicação de descarte, uma vez que apesar da boa resposta *in vitro*, a terapêutica antimicrobiana tem se mostrado ineficaz nos casos avançados da enfermidade (Rosenbusch et al. 2005). Medidas de biossegurança limitando a entrada de novos animais sem exames prévios para a pesquisa do agente, são importantes para o seu controle na propriedade.

Avaliando-se a etiologia das mastites, observa-se que em rebanhos onde foi possível controlar a mastite causada por *S. agalactiae* e *S. aureus* houve redução da CCS dos tanques de leite das propriedades, entretanto, ocorreu um aumento dos casos clínicos por micro-organismos ambientais por bactérias gram negativas, como *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* e ainda por *Streptococcus* denominados ambientais como *S. dysgalactiae* e *S. uberis* ambos gram positivos e encontrados com alta prevalência principalmente em grandes rebanhos leiteiros, mantidos em sistemas de *free stall*. Os patógenos ambientais são menos adaptados à sobreviverem na glândula mamária e desenvolvem resposta imune mais intensa, sendo os casos de mastite menos severos, com sintomas variando de leve a moderado, e a duração da infecção está associada ao grau de adaptação ao hospedeiro. Alguns destes micro-organismos, principalmente estirpes de *E. coli* são oportunistas e o controle da infecção é rápido, devido a resposta imune do animal. No caso dos estreptococos ambientais

devido a maior adaptação ao hospedeiro podem acontecer quadros leves de mastites, com cura aparente, entretanto, se tornam subclínicas (Hoe & Ruegg 2005).

Streptococcus dysgalactiae se comporta como ambiental e contagioso (Wyder et al. 2011), apresentando viabilidade por período longo no ambiente. É relatado com frequência nas infecções intramamárias (Hogan & Smith 2012) e a sua transmissão ocorre principalmente durante a ordenha. Pode ocasionar mastites persistentes e os sinais são inespecíficos, com alterações no leite e as vezes os animais podem apresentar febre e inflamação do úbere, entretanto, o diagnóstico definitivo é confirmado por cultivo microbiano e caracterização do agente.

Outro patógeno que vem ganhando destaque como agente de mastite, principalmente nos rebanhos onde as mastites pelos principais agentes contagiosos como *S. aureus* e *S. agalactiae* foram controlados, é *Streptococcus uberis* que além da glândula mamária infectada é possível encontrá-los na superfície da pele, trato genital, esterco e solo. São ubíquo nas explorações pecuárias, ocasionando mastites quando há grande contaminação das camas e ambiente da ordenha. Pode ocasionar tantos casos subclínicos como clínicos de mastite e serem isolados durante a lactação, bem como em vacas não lactantes (Reinoso et al. 2011). Tem sido apontado como fator de risco para a sua ocorrência a pressão de vácuo da ordenhadeira. A infecção pode perdurar por longo período com perdas de produção de leite (Zadoks & Fitzpatrick 2009).

Pertencente ao grupo das enterobactérias *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* e *Enterobacter spp*, configuram-se como agentes importantes nas mastites subclínicas, com destaque naqueles rebanhos onde as mastites pelos contagiosos estão sob controle. Alguns aspectos relacionados a patogenicidade, foram descritos anteriormente. Com frequência aparecem em propriedades leiteiras com CCS baixas, o que denota menor prevalência de mastite subclínica, já que os resultados da CCS se correlacionam com a qualidade do leite, de acordo com Pantoja et al. (2009).

A despeito dos patógenos ambientais geralmente ocasionarem casos de mastites com sintomatologia leve a moderada, pode haver casos septicêmicos fatais pela produção de endotoxinas que são absorvidas via corrente sanguínea. O animal pode apresentar febre, diminuição de apetite, desidratação, perda de peso, e queda na produção de leite, podendo vir a óbito como consequência da infecção generalizada e toxemia. O leite nesses casos apresenta-se agudo com aspecto dessorado de cor palha, com presença de grumos ou coágulos característicos. A cultura bacteriológica pode auxiliar no diagnóstico, entretanto, a intensa fagocitose e destruição do agente pelos neutrófilos e células fagocitárias do úbere, pode resultar negativa (Langoni et al. 2011). Com relação a outros patógenos de origem ambiental podem ser listadas bactérias do gênero *Nocardia*, como *Nocardia asteroides*, altamente contagiosa, e pode causar casos isolados de mastite (Condas et al. 2013) ou até sob a forma de surtos. Ainda neste grupo estão *Pseudomonas aeruginosa*, os fungos e leveduras e também algas do gênero *Prototheca* (Krukowski et al. 2012, Ribeiro et al. 2016), que são sempre de difícil tratamento, tornando-se casos crônicos que levam na maioria das vezes a perda dos tetos afetados.

IMPORTÂNCIA DO RECONHECIMENTO DOS CASOS DE MASTITE CLÍNICA

O diagnóstico precoce e o início do tratamento adequado dos casos de mastite clínica é fundamental para se atingir os objetivos de um programa de controle, pois a partir da detecção de um animal com mastite, o mesmo deve ser colocado para o final da linha de ordenha, evitando-se a transmissão do agente infeccioso envolvido para outros animais a partir da ordenha, ou da contami-

nação ambiental. Desta forma estará se prevenindo a ocorrência de novas infecções intramamárias. O tratamento deve ser iniciado imediatamente, entretanto, amostra de leite deve ser colhida após lavagem e antisepsia adequada do teto e mantida sob refrigeração ou congelada, e se não houver melhora após início do tratamento deve ser enviada para laboratório especializado para diagnóstico microbiológico. De qualquer forma sempre é muito positiva a realização do monitoramento microbiológico na propriedade, pois pode-se avaliar quais são os patógenos prevalentes e se são agentes contagiosos ou ambientais, podendo-se desta maneira avaliar se as medidas de controle estão adequadas ou se há necessidade de intervenção, pois todo programa de controle deve ser avaliado e adaptado às condições da propriedade, caso necessário (Langoni 2013).

Como parte do exame e monitoramento microbiológico é possível avaliar o perfil de sensibilidade microbiana dos patógenos presentes no rebanho, podendo orientar melhor o tratamento, permitindo aumentar a probabilidade de um tratamento bem sucedido, apesar de termos que considerar que a ação "in vitro" dos antimicrobianos pode ser diferente no foco de infecção, pois há produção de enzimas, presença de restos celulares, alteração de pH local, entre outros fatores que podem alterar a eficácia do tratamento (Ribeiro 2008). Para êxito do tratamento o medicamento deve agir no local da infecção da glândula mamária acometida mantendo o nível adequado e tempo necessário para eliminação do micro-organismo.

É importante o registro de quais medicamentos estão sendo utilizados, o esquema de tratamento adotado, se intramamário, sistêmico ou a associação de ambos e número de doses do antimastítico utilizado. Deve-se lembrar da presença de resíduos de antimicrobianos no leite pois além de representar um problema de saúde pública pode haver perda de qualidade de todo o leite enviado para a indústria de laticínio. Para evitar esse tipo de problema deve ser respeitado o período de carência do produto que estiver sendo utilizado.

O tratamento das mastites deve se pautar na cura dos casos clínicos, prevenir a ocorrência de outros casos de mastite clínica, aspecto que piora o prognóstico, e é um dos desfechos mais indesejáveis após o tratamento. Esse fato ocorre com maior frequência nos casos de mastite no início da lactação (Pinzón-Sánchez 2010). Deve-se ainda visar diminuir o desconforto garantindo-se o bem estar animal. Além desses aspectos, o tratamento evita a disseminação para quartos não infectados do mesmo animal, bem como para outros animais da ordenha, evita também a morte de animais nos casos septicêmicos agudos e previne novas infecções no período seco.

O controle de cura bacteriológica nas mastites pode ser utilizado como indicador da eficiência do tratamento preconizado. A cura microbiológica depende do agente envolvido, gravidade do caso, resposta imune do hospedeiro, do protocolo de tratamento estabelecido e do período de evolução para o início do tratamento de acordo com Hillerton & Berry (2003). A probabilidade de cura microbiana foi sete vezes maior nos casos de primo infecção quando comparados com casos de mastites recidivantes (Pinzón-Sánchez 2010). Alguns aspectos referentes ao diagnóstico microbiológico que intervêm no resultado devem ser levantados, como volume de leite cultivado, período de tempo pós-tratamento para obtenção da amostra, entre outros (Langoni et al. 2009).

Segundo alguns autores a CCS pode orientar o êxito do tratamento, mas o retorno à normalidade é lento, pois o próprio resíduo antimicrobiano presente na glândula mamária é responsável pelo aumento da CCS. De acordo com Nader Filho & Vianni (1989), o retorno à normalidade no caso da utilização do *California Mastitis Test* (CMT) é de 21 dias após o término do tratamento. Como o CMT se correlaciona com os resultados da

CCS, deve-se considerar que este período de tempo é muito longo, e que após este período, um resultado microbiológico positivo pode significar recidiva ou nova infecção, e ao nosso ver a CCS não é um parâmetro adequado para controle de cura de mastite, havendo necessidade do controle de cura microbiológica pela realização do cultivo microbiano.

O sistema imune da vaca, responsável pela resposta humoral e celular desempenha papel importante não somente na resposta ao tratamento, mas também para cura espontânea nas mastites agudas, o que pode ocorrer em ao redor de 20% para a maioria dos agentes, exceto para *S. aureus* (Santos & Fonseca 2007). Uma estratégia adotada para aumentar a resposta imune da vaca é a utilização de vacinas contra agentes específicos (Ribeiro et al. 2016) ou a partir da utilização de micronutrientes na ração como selênio, vitamina E, vitamina A, cobre e zinco (Domingues et al. 2004).

O TRATAMENTO DURANTE A LACTAÇÃO: MASTITE CLÍNICA

Seu objetivo é a eliminação de infecções da glândula mamária e deve ser iniciado imediatamente após o diagnóstico das alterações de características do leite observadas no teste de caneca de fundo escuro. Alguns aspectos devem ser esclarecidos referentes ao resultado do tratamento indicado. Vacas mais velhas, além de mais susceptíveis à mastite respondem pior ao tratamento (McDougall et al. 2007). Considera-se como cura bacteriológica o retorno a normalidade do leite até o quinto dia de tratamento e sem recidivas no período de duas a três semanas do tratamento. Há casos de cura espontânea para determinados patógenos variando essa porcentagem entre eles (De Oliveira Rodrigues 2008).

Como prognóstico para o tratamento dos casos clínicos de mastite pode-se dizer que em vacas mais velhas com três ou mais lactações, a resposta é sempre inferior, e talvez nessa situação possa ser orientado o tratamento estendido (prolongado), obtendo-se melhor resposta do animal (Oliver et al. 2004).

De maneira geral, o tratamento da mastite clínica deve ser imediato, optando-se por medicamentos de amplo espectro, via intramamária para uso na lactação, com ação tanto para Gram positivos, como para gram negativos. Uma boa opção é lançar mão dos resultados do monitoramento do perfil de sensibilidade dos antimicrobianos utilizados na propriedade. Apesar de às vezes o resultado *in vitro* não corresponder *in vivo*, essa é uma prática aconselhável. Exceção deve ser feita nos casos septicêmicos de maior gravidade, interpondo-se à necessidade de tratamento sistêmico com o mesmo princípio ativo, e às vezes, reposição de líquidos e eletrólitos. Recomenda-se o tratamento por três dias, e ainda, por mais 24 horas após cessarem os sintomas, pois em muitos casos pode ocorrer somente cura clínica, mas não microbiológica, favorecendo casos de recidivas (Ribeiro et al. 2016).

A eficácia do tratamento está relacionada com o patógeno envolvido, e associada ao grau de lesão do parênquima mamário. Nos casos de *Staphylococcus aureus* a resposta é sempre inferior, ao se comparar com *Streptococcus agalactiae*, ambos patógenos contagiosos. Nos casos de patógenos ambientais, a resposta é melhor, havendo inclusive maiores taxas de cura espontânea, não ocorrendo praticamente nos casos de *S. aureus* (Oliver et al. 2004). Há uma tendência do diagnóstico microbiológico baseado na própria fazenda, o que traz benefício econômico, pois em menos de 24 horas pode-se avaliar se o agente é de origem contagiosa ou ambiental, orientando melhor o tratamento (Lago et al. 2008), entretanto exige condições adequadas e pessoal treinado para a interpretação correta dos resultados. As cefalosporinas têm sido amplamente utilizadas no tratamento das mastites, independente

do micro-organismo causador, e entre elas têm-se a cefalexina, ceftiofur e ceftiofour (Oliveira & Ruegg 2014).

As mastites por estreptococos ambientais respondem bem ao tratamento, e apresentam baixas taxas de cura espontânea com grande número de recidivas quando não se lança mão do uso de antimastíticos. Neste grupo estão *Streptococcus dysgalactiae* cujos casos clínicos são esporádicos e mais frequentes no início da lactação, pois a infecção ocorre no período seco (Rato et al. 2013). Alguns casos podem se tornar crônicos com elevada CCS contribuindo para novas infecções (Bengtsson et al. 2009). *Streptococcus uberis* têm sido encontrado tanto em vacas em lactação como não lactantes e a pressão de vácuo da ordenhadeira está associada com recidivas de mastite clínica por este micro-organismo, que pode permanecer por longo período na glândula mamária ocasionando grandes perdas na produção leiteira (Zadoks & Fitzpatrick 2009).

TRATAMENTO DE MASTITE SUBCLÍNICA DURANTE A LACTAÇÃO

A literatura tem mostrado mudanças de paradigmas considerando-se além dos patógenos envolvidos, a resposta face ao tratamento. Os aspectos negativos da forma subclínica das mastites são amplamente conhecidos pela destruição do parênquima mamário, resultando em perda funcional do tecido secretor, bem como redução da qualidade do leite e de seus derivados. O que pesa de fato, no caso das mastites subclínicas são os prejuízos pela diminuição da produção ao nível de propriedade e do rendimento da produção na indústria de laticínios.

O principal entrave além da resposta do animal, em função do micro-organismo causal, é o resíduo de antimicrobiano no leite, devendo-se descartar o leite no período do tratamento, fato que aliado a baixa relação custo-benefício não se recomenda o tratamento durante a lactação exceto em casos pontuais e em rebanhos com elevada prevalência de *Streptococcus agalactiae*, altamente contagioso, cuja resposta do animal é favorável, além de ser sensível à maioria dos medicamentos recomendados para o tratamento de mastites como a amoxicilina, cloxacilina, cefalosporinas e eritromicina (Ribeiro 2008).

Em propriedades com alta prevalência desse patógeno, ou seja, maior que 25%, recomenda-se o tratamento sob a forma de blitzterapia, que é o tratamento de todos os tetos positivos ao mesmo tempo como o objetivo de eliminar e diminuir animais reservatórios no rebanho. Pode-se programar e realizar o tratamento em grupos de animais, o que facilita o manejo da propriedade, e minimiza os prejuízos com o descarte de leite.

Streptococcus dysgalactiae e *Streptococcus uberis*, ambientais, entretanto também contagiosos pois são transmitidos vaca a vaca, com a diferença de que *Streptococcus agalactiae* tem como reservatório o próprio animal e estes, o ambiente. Comparando-se os resultados de tratamento durante a lactação, *S. agalactiae* responde melhor do que *S. uberis* cuja resposta é melhor no tratamento à secagem.

Staphylococcus aureus é o principal patógeno das mastites, geralmente encontrado no interior da glândula mamária, canal do teto ou na sua pele, principalmente quando lesada. A sua prevalência varia de 81 a 94% (Contreras & Rodriguez 2011). Pelo fato de induzir resposta imune menos intensa, desenvolve infecção intramamária crônica com atrofia do alvéolo mamário, fibrose e desenvolvimento de microabscessos, dificultando a fagocitose celular e ação de antimastíticos. Os microabscessos podem se romper originando novo caso de mastite de repetição e conseqüente aumento na CCS. Desta forma, assumiu-se que devido a resposta terapêutica ser mais efetiva na secagem, tem-se optado por esta modalidade de tratamento (Langoni 2013).

Nos casos de *Staphylococcus coagulase* negativa, apesar de

serem considerados como patógenos secundários, de menor importância pela menor patogenicidade, várias espécies têm sido isoladas nas infecções intramamárias (Thorberg et al. 2009) com aumento de CCS e diminuição de produção (Silanikove et al. 2015), sendo ainda, produtores de enterotoxinas (De Freitas Guimarães et al. 2013), importante portanto, do ponto de vista de saúde pública. Ocorre em 10 a 20% dos casos de mastites, com maior frequência no início da lactação (Gillespie et al. 2009). Não tem-se recomendado o tratamento dos casos de mastite subclínica por SCN durante a lactação, postergando-se para o período de secagem.

Os patógenos Gram negativos como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp., têm sido encontrados com maior frequência nos rebanhos onde se obteve maior controle dos casos de mastite pelos micro-organismos contagiosos, nos casos de criações em sistema *free-stall*. Os patógenos ambientais são menos adaptados à sobrevivência no úbere e desencadeiam resposta imune, tornando geralmente os casos clínicos mais leves, bem como por defesa do hospedeiro ocorre a eliminação do agente após curto período de tempo, principalmente nos casos de *E. coli*. Nos casos subclínicos pelo fato da infecção por coliformes ser autolimitante, não se recomenda o tratamento na maioria dos casos (Ribeiro 2008).

O uso de antimicrobianos requer cuidados, considerando-se os aspectos de resíduos no leite e do desenvolvimento de resistência. Desta forma, ao se iniciar o tratamento é interessante avaliar cada caso e minimamente optar por antimicrobianos de amplo espectro e de preferência de acordo com o histórico da propriedade e do perfil de sensibilidade dos patógenos isolados dos casos de mastites anteriores.

Nos casos clínicos, independente do patógeno deve-se lançar mão de produtos de amplo espectro e com boa difusão no parênquima mamário. Quando há risco de toxemia ou septicemia deve-se usar medicação sistêmica associada à intramamária, e as cefalosporinas, como ceftiofur, têm sido recomendadas, além da administração de líquidos e eletrólitos, baseando-se no grau de desidratação e estado geral do animal, de anti-inflamatório, ou outras substâncias que o caso requeira como bicarbonato e lactato (Ribeiro et al. 2016).

No sentido de melhorar as taxas de cura das mastites têm-se estabelecido protocolos baseados na terapia combinada (intramamária e parenteral), terapia estendida e associação do tratamento à vacinação. A associação de tratamento intramamário e sistêmico, aumenta a concentração no local de infecção melhorando a resposta do animal, como a pesquisa que mostrou aumento de 25% para 51% de taxa de cura na mastite por *S. aureus*, com redução na CCS, com esta modalidade de tratamento. A terapia estendida consiste em aumentar o período de tratamento intramamário com 6 a 10 doses, em relação ao tratamento convencional de 3 a 5 dias (Kasravi et al. 2011). Roy et al. (2009) obtiveram taxa de cura de 10, 20 e 35%, respectivamente com 2, 5 e 8 dias de tratamento, em casos de mastites por *S. aureus*. Para SCN os resultados foram de 55% nos casos sem tratamento e, 70, 75 e 80% com 2, 5 e 8 dias de tratamento, respectivamente. Apesar dos resultados de pesquisas favoráveis deve-se avaliar os custos com maior número de doses do medicamento e maior período de descarte do leite.

Visando melhorar a resposta imune da vaca, e melhor a resposta terapêutica, é possível a associação de vacinas contra *S. aureus* com tratamento antimicrobiano. Na prática têm-se obtido melhores taxas de cura de infecção crônica por *S. aureus* tanto na lactação como na secagem, bem como redução de CCS dos animais (Schukken et al. 2014). A utilização de bacterinas preparadas com estirpes de *S. aureus* ou de *Staphylococcus coagulase* negativa, au-

tóctones, ou seja, preparadas com isolados da propriedade, tem mostrado redução na ocorrência de mastites onde são utilizadas (Langoni, dados não publicados), aliando-se entretanto, a um plano de controle de mastites, muito bem fundamentado, com adoção de práticas de higiene pessoal dos ordenhadores, dos animais e ambiental, bem como de equipamentos de ordenha. Essa prática objetiva aumentar as concentrações de anticorpos frente ao patógeno. No caso específico de *S. aureus* tem-se empregado estirpes vivas ou inativadas, isoladas de peptidoglicanos, toxóides ou adesinas, que geralmente aumentam a taxa de cura espontânea, diminuindo ainda a severidade das infecções (Denis et al. 2009, Middleton et al. 2009). Schukken et al. (2014) utilizando bacterina de *S. aureus*, aplicando em esquema de três doses sendo 10 dias, 45 antes do parto e ainda 52 dias após o parto, obtiveram êxito com redução da taxa de infecção pelo patógeno em 45% e moderada eficácia para cura, de 41%, na secagem.

A severidade dos sintomas clínicos da mastite por coliformes pode ser reduzida pela imunização com a bacterina J-5. A sua eficácia foi avaliada a partir da inoculação experimental com amostra de *E. coli* (Wilson et al. 2007). A eficácia da vacina contra as mastites causadas por *S. aureus*, SCN e *E. coli* tem uma concepção diferente, pois nos casos de *E. coli* espera-se uma redução na severidade da infecção, e nos casos de *S. aureus* e SCN espera-se redução na incidência bem como na duração da infecção (Schukken et al. 2011).

RESPOSTA DO ANIMAL FACE AO TRATAMENTO E ESCOLHA DO ANTIMICROBIANO A SER UTILIZADO

Além da importância do início do tratamento o mais rápido possível para o controle da infecção, uma série de cuidados devem ser priorizados. Nem sempre será possível conhecer a sensibilidade do patógeno aos antimicrobianos, e desta forma deve-se lançar mão de princípio ativo de amplo espectro capaz de agir contra patógenos contagiosos e ambientais. Salienta-se que o antibiograma é uma ferramenta que pode ser utilizada para monitoramento do perfil de sensibilidade dos micro-organismos mais frequentemente causadores de mastite. Entretanto, o seu resultado nem sempre corresponde à cura microbiológica, pois, além da sensibilidade do patógeno, outros fatores como a sua capacidade de difusão na glândula mamária, permitindo de fato a sua ação no foco da infecção, sua ação efetiva na presença de leite, bem como na presença de produtos resultantes da inflamação e processo infeccioso que alteram o pH local (Ribeiro 2008). Destaca-se ainda que nos micro-organismos com parede celular incompleta não há ação de determinados grupos de antibióticos, como beta-lactâmicos, da mesma forma, em bactérias capsuladas, opsonizadas ou fagocitadas os antimicrobianos, não são efetivos e alguns deles afetam a função de defesa dos neutrófilos, como o cloranfenicol e gentamicina.

Os fatores relacionados aos animais também devem ser avaliados, pois os mais velhos apresentam pior resposta ao tratamento quando comparados com os mais jovens, sendo maiores as taxas de cura microbiológica nos últimos que da mesma forma respondem melhor nos processos crônicos onde há alterações do leite e glândula mamária (McDougall et al. 2007).

A resposta ao tratamento também é variável de acordo com os agentes infecciosos, apesar de haver casos de cura espontânea em ao redor de 20 a 40% dos casos de mastite clínica (Tenhagen et al. 2006, Riekerink et al. 2008, Pinzón-Sanchez et al. 2011). Desta forma pode-se concluir pela importância da identificação do agente causal, fato que pode melhorar os resultados dos protocolos de tratamentos. Enfatiza-se que nos casos clínicos de mastite o tratamento deve ser iniciado imediatamente após a sua instalação, avaliando-se a resposta do animal diariamente. Com a utilização do tratamento baseado nos resultados das culturas

láticas da própria granja onde pode se ter um resultado do agente causal na maioria dos casos, já com 18-24h, tem-se melhorado os resultados de taxas de cura, principalmente nos casos de mastites causadas por estreptococos ambientais (Lago et al. 2008). Como esta prática ainda é limitada no Brasil, orienta-se colher amostra de leite, refrigerar e enviar para o laboratório para cultivo, se necessário, e adequar o tratamento já iniciado, de acordo com a evolução do caso.

Em se tratando de *S. aureus* tanto nos casos subclínicos como clínicos a taxa de cura espontânea é praticamente nula (Oliver et al. 2004), e nos casos subclínicos, a taxa de cura bacteriológica, além de baixa, está relacionada com a duração da infecção. A indicação do tratamento de longa duração, ou terapia estendida (por 5 a 8 dias), tem melhorado a resposta ao tratamento nos casos de mastites por *S. aureus*, entretanto, com 30 a 50% de cura (Oliver et al. 2004). Do ponto de vista de manejo dos animais, considerando-se a alta contagiosidade de *S. aureus*, a sua persistência no rebanho e o custo-benefício em função da resposta ao tratamento, muitas vezes tem-se priorizado o descarte do animal como forma de controlar esses casos de mastites nas propriedades. As medidas de controle são muitos importantes nesses casos para contribuir na diminuição dos casos de mastite por esse patógeno.

Apesar do tratamento geralmente ser por infusão intramamária, nos casos de mastite aguda grave por coliformes tem-se recomendado a associação de tratamento intramamário com o sistêmico obtendo-se melhor sobrevida (Tozzetti et al. 2008). É de se esperar de fato uma melhor resposta com a associação do tratamento sistêmico na ocorrência dos casos de mastite septicêmicas e toxêmicas como pode ocorrer nos casos agudos por *E. coli*, principalmente logo após o parto, onde além da terapia sistêmica antibiótica, se interpõe a utilização de outros medicamentos de acordo com o caso.

OUTRAS POSSIBILIDADES PARA O TRATAMENTO DE MASTITES

Nas últimas décadas os consumidores têm se preocupado cada vez mais com a saúde, e conseqüentemente com a qualidade e inocuidade dos produtos de origem animal, gerando um crescimento significativo das propriedades rurais de produção orgânica, método de produção que busca a autossustentabilidade, preservando os recursos ambientais. O leite e derivados estão dentre os principais produtos de interesse comercial neste setor. No Brasil a agricultura orgânica apresenta taxas de crescimento de até 30% (Willer & Yussefi 2007), indicando uma forte tendência em plena evolução e fortalecimento de um mercado promissor, tanto para os agricultores quanto para o varejo (Rodrigues et al. 2010). As propriedades orgânicas devem gerar alimentos de alta qualidade nutricional, isentos de resíduos de produtos químicos nocivos para humanos, incluindo o uso de fertilizantes, pesticidas, inseticidas, antimicrobianos, anti-parasitários, transgênicos, ou qualquer outro fármaco que possua resíduos nocivos à saúde humana, incluindo produtos de uso agropecuário destinados à animais de exploração leiteira (de Figueiredo & Soares 2012).

Devido esta tendência de crescimento do setor de produção orgânica, têm-se optado em muitas situações pela utilização de medicamentos fitoterápicos e homeopáticos para o tratamento das mastites, de eficácia limitada (Holmes et al. 2005), e com resultados variáveis, merecendo estudos de acordo com os princípios estabelecidos por Hahnemann (1996).

A homeopatia é uma alternativa importante, e as suas propriedades terapêuticas começam a ganhar cada vez mais espaço no tratamento veterinário, porém apesar de relatos de profissionais adeptos da homeopatia revelarem alta frequência de sucessos em tratamentos de mastites, a literatura científica específica sobre o

assunto é bastante escassa. Os medicamentos homeopáticos apresentam baixo custo e baixa toxicidade, facilidade de administração, onde o medicamento é diluído com a ração ou água, e atuam de forma sistêmica, não contribuindo para a ocorrência de resistência microbiana (Mangieri et al. 2015).

Nóbrega et al. (2009) realizaram um estudo comparando dois grupos de vacas leiteiras em lactação, o primeiro grupo sendo controle, o qual recebeu apenas um placebo na ração, e o segundo grupo recebeu um tratamento homeopático para o tratamento das mastites por um período de dois meses. Foram realizadas quatro coletas de leite, antes da utilização do tratamento, quatro coletas durante o período de tratamento, e uma coleta duas semanas após o seu término. Não foram observadas diferenças significativas quanto a UFC e CCS. Quanto ao CMT, observou-se redução nos casos de mastite subclínica no grupo experimental.

Uma alternativa com potencial para o controle de bactérias multiresistentes é a utilização de bacteriocinas (Corona et al. 2009), que são peptídeos naturais sintetizados e secretados por bactérias, as quais inibem o crescimento ou inativam outras bactérias podendo estas ser taxonomicamente relacionadas ou não com a cepa produtora, porém que pertençam ao mesmo nicho microbiano (Barboza-Corona et al. 2007, de la Fuente-Salcido et al. 2013). São compostos que se desenvolveram durante a evolução dos sistemas de defesa microbiana, e são utilizados pelas bactérias para competir com êxito para a sua sobrevivência.

Bactérias ácido-láticas produzem grande número de bacteriocinas, entretanto a nisina é a única reconhecida pelo Food and Drug Administration. É utilizada como conservante de alimentos, e é produzida por linhagens de *Lactococcus lactis*. Tem atividade contra espécies de bactérias Gram-positivas e esporos de *Clostridium* spp. e *Bacillus* spp. Cao et al. (2007) e Wu et al. (2007) verificaram eficácia da nisina em casos de tratamento intramamário na mastite bovina. Em particular, bacteriocinas produzidas pelo *Bacillus thuringiensis*, mostrou potencial de inibição de isolados de *Staphylococcus aureus* associados à mastite bovina (Barboza-Corona et al. 2009).

Considerando que a própolis apresenta ação bactericida, sendo permitida a sua utilização em sistemas orgânicos de produção leiteira, utilizando-se os princípios da nanotecnologia, foi sintetizada partida de nanoprópolis para tratamentos de mastites (Brandão et al. 2010). Troncarelli et al. (2014) estudaram a inocuidade de uma formulação de própolis nanoestruturado, visando o tratamento intramamário de mastite bovina. O produto foi administrado em volume de 10mL, por 3 dias consecutivos, e a avaliação clínica dos animais não revelou qualquer tipo de reação adversa, seja local ou sistêmica. Da mesma forma não interferiu nos valores de CCS e no volume de produção leiteira das vacas tratadas, mostrando-se como produto inócuo para o tratamento intramamário de mastites em bovinos leiteiros.

REFERÊNCIAS

- Barboza-Corona J.E., De la Fuente-Salcido N., Alva-Murillo N., Ochoa-Zarzosa A. & López-Meza J.E. 2009. Activity of bacteriocins synthesized by *Bacillus thuringiensis* against *Staphylococcus aureus* isolates associated to bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 138(1):179-183.
- Barboza-Corona J.E., Vázquez-Acosta H., Bideshi D.K. & Salcedo-Hernández R. 2007. Bacteriocin-like inhibitor substances produced by Mexican strains of *Bacillus thuringiensis*. *Archs Microbiol.* 187(2):117-126.
- Barkema H.W., Schukken Y.H. & Zadoks R.N. 2006. Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.* 89 (6):1877-1895.
- Bengtsson B., Unnerstad H.E., Ekman T., Artursson K., Nilsson-Öst M. & Waller K.P. 2009. Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. *Vet. Microbiol.* 136(1):142-149.
- Bradley A.J. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.* 164(2):116-128.
- Brandão H.M., Vinholis M.M.B., Mosqueira V.C.F., Mattoso L.H.C., Brito M.A.V.P., Ribeiro C., Sousa R.V., Barbosa N.R. & Lange C.C. 2010. Composições baseadas em nanopartículas de própolis, processos de obtenção e uso. Patente: Privilégio de Inovação n.01210001131, Confidencial, 27 de Outubro de 2010.
- Cao L.T., Wu J.Q., Xie F., Hu S.H. & Mo Y. 2007. Efficacy of Nisin in treatment of clinical mastitis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:3980-3985.
- Condas L.A.Z., Ribeiro M.G., Yazawa K., de Vargas A.P.C., Salerno T., Giuffrida R., Langoni H., Melville P.A., Biesdorf S., Matsuzawa T., Gonoi T., Kastelic J.P. & Barkema H.W. 2013. Molecular identification and antimicrobial susceptibility of *Nocardia* spp. isolated from bovine mastitis in Brazil. *Vet. Microbiol.* 167(3/4):708-712
- Contreras G.A. & Rodríguez J.M. 2011. Mastitis: comparative etiology and epidemiology. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 16(4):339-356.
- Corona J.E.B., Salcido N.F., Murillo N.A., Zarzosa A.O. & Menza J.E.O. 2009. Activity of bacteriocins synthesized by *Bacillus thuringiensis* against *Staphylococcus aureus* isolates associated to bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 138:179-183.
- De Figueiredo E.A.P. & Soares J.P.G. 2012. Sistemas orgânicos de produção animal: dimensões técnicas e econômicas. Anais 49^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Brasília, DF.
- De Freitas Guimarães F., Nóbrega D.B., Richini-Pereira V.B., Marson P.M., De Figueiredo Pantoja J.C. & Langoni H. 2013. Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. *J. Dairy Sci.* 96(5):2866-2872.
- De la Fuente-Salcido N.M., Casados-Vázquez L.E. & Barboza-Corona J.E. 2013. Bacteriocins of *Bacillus thuringiensis* can expand the potential of this bacterium to other areas rather than limit its use only as microbial insecticide. *Can. J. Microbiol.* 59(8):515-522.
- De Oliveira Rodrigues A.C. 2008. Identificação bacteriana a campo da mastite bovina para orientar protocolos de tratamento. Tese (Doutorado em ciência animal e pastagens). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo.
- Denis M., Wedlock D.N., Lacy-Hulbert S.J., Hillerton J.E. & Buddle B.M. 2009. Vaccines against bovine mastitis in New Zealand context: what's the best forward? *N.Z. Vet. J.* 57(3):132-140.
- Domingues P.F., Langoni H. & Padovani C.R. 1998. Influência da mastite bovina subclínica sob a produção de leite. *Vet. Zootec.* 10:99-106.
- Domingues P.F., Langoni H., Padovani C.R., Gonzales J.A. & Fregonesi O.B. 2004. Determinação de gordura, proteína, cobre, ferro, manganês, zinco e contagem de células somáticas no leite de vacas com mastite subclínica. *Semina, Ciênc. Agrárias* 22(2):169-174.
- Elias A.O., Cortez A., Brandão P.E., Da Silva R.C. & Langoni H. 2012. Molecular detection of *Streptococcus agalactiae* in bovine raw milk samples obtained directly from bulk tanks. *Res. Vet. Sci.* 93(1):34-38.
- Gillespie B.E., Headrick S.I., Boonyayatra S. & Oliver S.P. 2009. Prevalence and persistence of coagulase-negative *Staphylococcus* species in three dairy research herds. *Vet. Microbiol.* 134(1):65-72.
- Hahnemann S. 1996. Doenças Crônicas: sua natureza peculiar e sua cura homeopática. Artes Gráficas Giramundo, Rio de Janeiro.
- Hillerton J.E. & Berry E.A. 2003. The management and treatment of environmental streptococcal mastitis. *Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.* 19(1):157-169.
- Hoe F.G. & Ruegg P.L. 2005. Relationship between antimicrobial susceptibility of clinical mastitis pathogens and treatment outcome in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227(9):1461-1468.
- Hogan J. & Smith K.L. 2012. Managing environmental mastitis. *Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.* 28(2):217-224.
- Hogeveen H., Huijps K. & Lam T.J.G.M. 2011. Economic aspects of mastitis: new developments. *N.Z. Vet. J.* 59(1):16-23.
- Holmes M.A., Cockcroft P.D., Booth C.E. & Heath M.F. 2005. Controlled clinical trial of the effect of a homeopathic nosode on the somatic cell counts in the milk of clinically normal dairy cows. *Vet. Rec.* 156(18):565-567.

- Huxley J.N., Green M.J. & Bradley A.J. 2003. *Corynebacterium bovis*, friend or foe? British Mastitis Conference, Lancashire, UK, 8th October, Institute of Animal Health, p.23-34.
- Huxley J.N., Helps C.R. & Bradley A.J. 2004. Identification of *Corynebacterium bovis* by endonuclease restriction analysis of the 16S rRNA gene sequence. *J. Dairy Sci.* 87(1):38-45.
- Junqueira N.B. & Langoni H. 2016. Aspectos gerais sobre a mastite bovina causada por *Mycoplasma* spp. *Vet. Zootec.* 23(3):356-364.
- Kasravi R., Bolourchi M., Farzaneh N., Seifi H.A., Barin A., Hovareshti P. & Gharagozlu F. 2011. Efficacy of conventional and extended intra-mammary treatment of persistent sub-clinical mastitis with cefquinome in lactating dairy cows. *Trop. Anim. Health Pro.* 43(6):1203-1210.
- Krukowski H., Lisowski A.N.D.R.Z.E.J., Nowakowicz-Debek B. & Wlazlo L. 2012. Enzymatic activity of *Prototheca zopfii* strains isolated from cows with mastitis. *Polish J. Microbiol.* 61(3):217-218.
- Lago A., Godden S., Bey R., Ruegg P., Leslie K. & Dingwell R. 2008. Effect of using an on-farm culture based treatment system on antibiotic use a bacteriological cure for clinical mastitis. *Proc. 47th Annual Meeting of the National Mastitis Council*, New Orleans, LA, Jan 20-23, p.164-165.
- Langoni H. 2013. Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. *Pesq. Vet. Bras.* 33: 620-626.
- Langoni H., Silva A.V., Cabral K.G. & Domingues P.F. 1998. Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica. *Revta Bras. Med. Vet.* 20:204-209.
- Langoni H., Penachio D. da S., Citadella J.C.C., Laurino F., Faccioli-Martins P.Y., Lucheis S.B., Menozzi B.D. & Silva A.V. da. 2011. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. *Pesq. Vet. Bras.* 31:1059-1065.
- Langoni H., Sakiyama D.T.P., Guimarães F.D.F., Menozzi B.D. & Silva R.C.D. 2009. Aspectos citológicos e microbiológicos do leite em propriedades no sistema orgânico de produção. *Pesq. Vet. Bras.* 29:881-886.
- Langoni H., Guimarães F.F., Salina A., Ribeiro M.G., Baio P.V.P., Ramos J.N., Mota H.F., Vieira V.V. & Mattos-Guaraldi A.L. 2016. Molecular characterization of *Corynebacterium bovis* causing clinical mastitis and increasing somatic-cell count. *Int. J. Adv. Vet. Sci. Technol.* 5:248-255.
- Mangieri Junior R., Benites N.R. & Melville P.A. 2015. Avaliação de tratamento homeopático na mastite ovina subclínica. *Vet. Zootec.* 22(3):455-464.
- McDougall S., Arthur D.G., Bryan M.A., Vermunt J.J. & Weir A.M. 2007. Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. *N.Z. Vet. J.* 55(4):161-170.
- Middleton J.R., Luby C.D. & Adams D.S. 2009. Efficacy of vaccination against staphylococci mastitis: a review and new data. *Vet. Microbiol.* 134:192-198.
- Nader Filho A. & Vianni M.C.E. 1989. Eficiência do *California Mastitis Test* na estimativa do número de células somáticas do leite bovino. *B.M.V., Jaboticabal*, 3(2):5-6.
- Nóbrega D.B., Langoni H., Joaquim J.G.F., Silva A.V., Faccioli P.Y., Matos A.V.R. & Menozzi B.D. 2009. Utilização de composto homeopático no tratamento da mastite bovina. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo*, 76(4): 523-537.
- Oliveira L. & Ruegg P.L. 2014. Treatments of clinical mastitis occurring in cows on 51 large dairy herds in Wisconsin. *J. Dairy Sci.* 97 (9):5426-5436.
- Oliver S.P., Gillespie B.E., Headrick S.J., Moorehead H., Lunn P., Dowlen H.H., Jonhson D.L., Lamar K.C., Chester S.T. & Moseley W.M. 2004. Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87(8):2393-2400.
- Pantoja J.C.F., Reinemann D.J. & Ruegg P.L. 2009. Associations among milk quality indicators in raw bulk milk. *J. Dairy Sci.* 92(10):4978-4987.
- Pinzón-Sánchez C. 2010. Post-treatment outcomes of clinical mastitis on commercial herds. M.Sc. Dissertation, University of Wisconsin, Madison.
- Pinzón-Sánchez C., Cabrera V.E. & Ruegg P.L. 2011. Decision tree analysis of treatment strategies for mild and moderate cases of clinical mastitis occurring in early lactation. *J. Dairy Sci.* 94(4):1873-1892.
- Rato M.G., Bexiga R., Florindo C., Cavaco L.M., Vilela C.L. & Santos-Sanches I. 2013. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of streptococci from bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 161(3):286-294.
- Reinosa E.B., Lasagno M.C., Dieser S.A. & Odierno L.M. 2011. Distribution of virulence-associated genes in *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis. *FEMS Microbiol. Lett.* 318(2):183-188.
- Ribeiro M.G., Langoni H., Domingues P.F. & Pantoja J.C.F. 2016. Mastite em animais domésticos, p.1155-1205. In: Megid J., Ribeiro M.G. & Paes A.C. (Eds), *Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia*. Roca, Riode Janeiro.
- Ribeiro M.G. 2008. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia, p.759-771. In: Andrade S.F. (Ed.), *Manual de Terapêutica Veterinária*. 3ª ed. Roca, São Paulo.
- Riekerink R.O., Barkema H.W., Kelton D.F. & Scholl D.T. 2008. Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 91(4):1366-1377.
- Rodrigues R.R., Carlos C.C., Mendonça P.S.M. & Correia S.R.A. 2010. Atitudes e fatores que influenciam o consumo de produtos orgânicos no varejo. *Revta Bras. Marketing* 8(1):164-186.
- Rosenbusch R.F., Kinyon J.M., Apley M., Funk N.D., Smith S. & Hoffman L.J. 2005. In vitro antimicrobial inhibition profiles of *Mycoplasma bovis* isolates recovered from various regions of the United States from 2002 to 2003. *J. Vet. Diagn. Invest.* 17(5):436-441.
- Roy J.P., Des Côteaux L., Du Tremblay D., Beaudry F. & Elsener J. 2009. Efficacy of a 5-day extended therapy program during lactation with cephalirin sodium in dairy cows chronically infected with *Staphylococcus aureus*. *Can. Vet. J.* 50(12):1257.
- Santos M.V. & Fonseca L.F.L. 2007. Estratégias para o Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite. *Manole*, São Paulo. 314p.
- Schukken Y. H., Bronzo V., Locatelli C., Pollera C., Rota N., Casula A., Testa F., Scaccabarozzi L., March R., Zalduendo D., Guix R. & Moroni P. 2014. Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *J. Dairy Sci.* 97(8):5250-5264.
- Schukken Y.H., Günther J., Fitzpatrick J., Fontaine M.C., Goetze L., Holst O., Leigh J., Petzl W., Schuberth H.J., Spika A., Smith D.G., Quesnell R., Watts J., Yancey R., Zerbe H., Gurjar A., Zadoks R.N., Seyfert H.M. & Members of the Pfizer Mastitis Reserch Consortium 2011. Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 144:270-289.
- Silanikove N., Merin U., Shapiro F. & Leitner G. 2014. Milk metabolites as indicators of mammary gland functions and milk quality. *J. Dairy Res.* 81:358-363.
- Silanikove N., Merin U., & Leitner G. 2015. Letter to the editor: do coagulase-negative staphylococci have no effect on the milk composition of infected mammary gland? A comment on Tomazi et al. (2015). *J. Dairy Sci.* 98(11):7421-7422.
- Taponen S., Koort J., Björkroth J., Saloniemi H. & Pyörälä S. 2007. Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *J. Dairy Sci.* 90(7): 3301-3307.
- Tenhagen B.A., Köster G., Wallmann J. & Heuwieser W. 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J. Dairy Sci.* 89(7): 2542-2551.
- Thorberg B.M., Danielsson-Tham M.L., Emanuelson U. & Waller K.P. 2009. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *J. Dairy Sci.* 92(10):4962-4970.
- Tozzetti D.S., Bataier M.B.N., Almeida L.R.D. & Piccinin A. 2008. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas—revisão de literatura. *Revta Cient. Eletrôn. Med. Vet.* 6(10).
- Troncarelli M.Z., Langoni H., Brandão H.M., Guimarães A.S., Da Silva S.R. &

- Menozi B.D. 2014. Inocuidade de uma formulação de nanoprópolis desenvolvida para tratamento intramamário de mastite bovina em rebanhos leiteiros orgânicos. *Revta Bras. Higiene Sanidade Anim.* 8(5):517-545.
- Watts J.L. 1988. Etiological agents of bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 16(1): 41-66.
- Willer H. & Yussefi M. 2007. The world of organics agriculture: statistics and emerging trends 2005. Acesso em 4 out. 2007.
- Wilson D.J., Mallard B.A., Burton J.L., Schukken Y.H. & Gröhn Y.T. 2007. Milk and serum J5-specific antibody responses, Milk production change, and clinical effects following intramammary *Escherichia coli* challenge for J5 vaccinate and control cows. *Clin. Vaccine Immunol.* 14:693-699.
- Wu J., Hu S. & Cao L. 2007. Therapeutic effect of nisin Z on subclinical mastitis in lactating cows. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51:3131-35.
- Wyder A.B., Boss R., Naskova J., Kaufmann T., Steiner A. & Graber H.U. 2011. *Streptococcus* spp. and related bacteria: their identification and their pathogenic potential for chronic mastitis—a molecular approach. *Res. Vet. Sci.* 91(3):349-357.
- Zadoks R.N. & Fitzpatrick J.L. 2009. Changing trends in mastitis. *Irish Vet. J.* 62(2):59-70.