

Relatório Final de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Avaliação da importância relativa como agente de mamites e do perfil de sensibilidade em antibiogramas do *Staphylococcus* coagulase negativos isolados em quatro explorações do conelho de Barcelos

Cristiana Raquel da Costa Correia

Orientador

Professor Dr. Paulo Pegado Cortez

Co-Orientador

Dr. Paulo Alexandre Alves Capêlo

Porto 2017

RESUMO

Este relatório é o resultado de 16 semanas de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, realizado em Barcelos sob a orientação do Professor Dr. Paulo Cortez e co-orientação do Dr. Paulo Capêlo. O estágio teve início no dia 5 de Novembro de 2016 e terminou no dia 24 de Março de 2017. Durante o período de estágio, tive a oportunidade de colocar em prática todos os conhecimentos que adquiri durante o meu percurso académico.

Na primeira parte do relatório, apresento uma pequena descrição do local de estágio e a casuística que encontrei durante o mesmo.

No decorrer do estágio, verifiquei que a mamite é uma doença que afecta muito as vacas leiteiras, trazendo grandes prejuízos para os produtores, quer em tratamentos, quer no leite que não é aproveitado ou ainda no refugo de animais. Por este motivo, decidi abordar o tema das mamites na segunda parte deste relatório onde faço uma breve revisão bibliográfica sobre mamites na clínica de Ruminantes. Na segunda parte do relatório, apresento um estudo realizado em 4 explorações do concelho de Barcelos, com ênfase para os estafilococos coagulase-negativos, o agente mais frequentemente isolado nos leites mamíticos.

Em relação ao estágio, o balanço foi positivo pois consegui desenvolver um conhecimento da realidade no campo, o que colaborou em muito para a minha evolução na prática clínica. Com os conhecimentos adquiridos durante o estágio, sinto-me mais segura e apta para encarar a realidade da prática clínica.

Palavras-Chave: Mamites

AGRADECIMENTOS

É com uma enorme satisfação que apresento aqui o meu agradecimento a todos que, de uma forma ou outra, contribuíram para que a realização deste relatório fosse possível. Sou o resultado da força e da confiança de cada um de vocês.

Quero agradecer aos meus Pais e à minha irmã que acompanharam o meu trabalho ao longo de todos os dias que dediquei ao curso e me animaram e apoiaram tanto nos bons como nos maus momentos. Obrigada por todos os valores e princípios que me transmitiram para alcançar o sucesso. Sem vocês, eu não seria o que sou hoje!

Ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, agradeço por me permitir atingir este objectivo.

A todos os professores do Instituto Ciências Biomédicas Abel Salazar, agradeço pela amizade, simpatia e por todo o conhecimento partilhado durante todo o meu percurso académico.

Ao Professor Dr. Paulo Cortez agradeço por ter aceite ser meu orientador. Quero agradecer toda a disponibilidade e apoio na realização deste relatório. Agradeço pela paciência, simpatia e amizade.

Ao Dr. Paulo Capêlo, agradeço-lhe pela arte e pela paixão que me transmitiu e pela disposição em ter aceite ser meu Co-Orientador. Agradeço também pela paciência, humildade e profissionalismo no ensinamento de todos os conhecimentos práticos, pela amizade, simpatia, apoio e carinho ao longo do estágio.

À família do Dr. Paulo Capêlo quero agradecer por me terem recebido na sua casa, pela amizade e simpatia.

Agradeço ao Sr. Figueiredo, que pertence à brigada 2 de sanidade da Cooperativa Agrícola de Barcelos pela paciência e amizade.

Agradeço à Goreti pela amizade e pela comida fantástica.

Ao André Martins quero agradecer pela paciência, simpatia, amizade e companheirismo.

Quero agradecer à Dr.^a Adelaide Pereira por me ter cedido os dados das análises usadas no relatório.

A todos os meus amigos, obrigada pelo privilégio de poder contar com a vossa amizade.

Obrigada a todos, que de uma forma ou outra, contribuíram para o meu sucesso e para o meu crescimento como pessoa. Obrigada pelo apoio e por estarem presentes nesta etapa importante da minha vida.

Os grandes sonhos constroem-se com grandes ajudas!

DEDICATÓRIA

Em homenagem à minha mãe que partiu...
Ficando imensamente por dizer e fazer...
Com quem fui partilhando esta viagem,
e, hoje estaria particularmente feliz.

LISTA DE ABREVIATURAS

CCS – Contagem de células somáticas

DAD – Deslocamento de abomaso à direita

DAE – Deslocamento de abomaso à esquerda

DHVI – Doença hemorrágica vírica de Inverno

RPT – Reticuloperitonite traumática

SCN – *Staphylococcus* coagulase-negativos

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Casuística por sistemas	2
Tabela 2. Patologia Digestiva	3
Tabela 3. Patologia Respiratória	4
Tabela 4. Patologia Metabólica.....	4
Tabela 5. Patologia da glândula mamária	5
Tabela 6. Patologia Reprodutiva/Obstetrícia.....	5
Tabela 7. Patologia Nervosa.....	6
Tabela 8. Sistema Musculo-esquelético.....	6
Tabela 9. Pele, tecido e faneros	6
Tabela 10. Outras ocorrências	6
Tabela 11. Prevalência dos agentes nas explorações.....	7
Tabela 12. Prevalência de diferentes microrganismos causadores de mamites em três estudos de mamites.....	9
Tabela 13. Interpretação do TCM.....	15
Tabela 14. Contagem células somáticas na Exploração 1	26
Tabela 15. Contagem células somáticas na exploração 2.....	26
Tabela 16. Contagem células somáticas na exploração 3	27
Tabela 17. Contagem células somáticas na exploração 4.....	27
Tabela 18. Resultados do antibiograma das explorações.....	27

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1. Barcelos	1
Ilustração 2. Cirurgia DAE	3
Ilustração 3. Pneumonia Vitelo	4
Ilustração 4. Lipidose Hepática	4
Ilustração 5. Hipocalcemia	4
Ilustração 6. Laceração do teto	5
Ilustração 7 e 8. Parto/Torção uterina	5
Ilustração 9. Abscesso	6
Ilustração 10. Condições propícias ao desenvolvimento de microrganismos ambientais	10
Ilustração 11. Leite com fibrina	11
Ilustração 12. Úbere com inflamação.	11
Ilustração 13. Teste californiano de mamites (TCM)	15
Ilustração 14. Vacina para mamites	18

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribuição das actividades desenvolvidas durante o estágio	3
Gráfico 2. Contagem de células somáticas na exploração 1.....	26
Gráfico 1. Contagem de células somáticas na exploração 2.....	26

ÍNDICE

RESUMO.....	i
AGRADECIMENTOS.....	ii
DEDICATÓRIA.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES.....	vii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	viii
I. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO.....	1
II. CASUÍSTICA.....	1
III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. MAMITES EM BOVINOS.....	8
1.1. Definição de mamite.....	8
1.2. Etiologia.....	9
1.3. Classificação Geral das mamites.....	10
1.4. Patogenia.....	12
1.5. Epidemiologia.....	13
1.6. Factores de risco.....	13
1.7. Diagnóstico.....	14
1.8. Tratamento.....	16
1.9. Controlo e profilaxia.....	17
1.10 Considerações económicas.....	18
2. MAMITE POR <i>STAPHYLOCOCCUS</i> COAGULASE NEGATIVA.....	18
1. Etiologia.....	18
2. Epidemiologia.....	20
3. Factores de virulência e patogénese.....	20
4. Sinais clínicos.....	21
5. Diagnóstico.....	21
6. Tratamento.....	21
7. Prevenção e controlo.....	22
IV. ESTUDO CLÍNICO.....	23
1. INTRODUÇÃO.....	23
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.1. Caracterização das explorações.....	23

3. RESULTADOS.....	25
4. DISCUSSÃO.....	27
V. CONCLUSÃO/DISCUSSÃO.....	31
VI. BIBLIOGRAFIA.....	32

I. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

Barcelos é uma cidade portuguesa no Distrito de Braga, região do Norte e sub-região do Cávado, com cerca de 20 625 habitantes. É um município com 378,9 km² de área e 120 391 habitantes (2011), subdividido em 86 freguesias reordenadas em 61 autarquias. O município é limitado a norte pelos municípios de Viana do Castelo e Ponte de Lima, a leste por Vila Verde e por Braga, a sueste por Vila Nova de Famalicão, a sudoeste pela Póvoa de Varzim e a oeste por Esposende.

Trata-se de uma região eminentemente rural, com uma intensa actividade agrícola, onde se destaca a pecuária leiteira, como actividade principal, mas a viticultura, horticultura e floresta são algumas das actividades também exercidas na região (www.agribar.pt).

Na região de Barcelos, a maioria das explorações leiteiras são ainda de cariz familiar.

Em 2015, a Cooperativa possuía aproximadamente 388 produtores de leite cuja produção era de 152.011.509 de litros de leite, quando há 35 anos existiam 4000 produtores que eram responsáveis pela produção de 20 milhões de litros. Este volume (152 milhões) de produção de leite representava sensivelmente 10% da produção total de leite em Portugal Continental, e cerca de 62% do volume total de leite recebido pela AGROS (www.agribar.pt).

Desde 2007, o número de produtores diminuiu de 558 (2007) para 388 (2015), o que se deveu sobretudo ao preço do leite (Relatório de Gestão e Contas da Cooperativa Agrícola de Barcelos - 2015).



Ilustração 1 Barcelos. Cristiana Correia, 2017

II. CASUÍSTICA

No decorrer do estágio, a casuística encontrada abrangeu uma grande variedade de sistemas. Por isso, irei abordar de uma forma resumida a casuística das intervenções realizadas durante o período de estágio com o Dr. Paulo Capêlo. Durante o estágio, participei diariamente nas operações de sanidade animal, realizadas pela Brigada 2 do ADS da Cooperativa Agrícola de Barcelos. Nas operações de sanidade animal eram realizadas recolhas de sangue na veia coccígea para diagnóstico de Brucelose e Peripneumonia, esta recolha era realizada a animais com mais de dois anos de idade, vacas secas e a vacas cujo leite não era aproveitado para o tanque. Às vacas que estavam a produzir leite, e o qual era aproveitado para o tanque, era feita uma recolha ao leite do tanque. Era realizado também o Teste de Tuberculina Intradérmica para diagnóstico da Tuberculose, realizado na tábua do pescoço e a animais com mais de 24 meses de idade. Era também realizado o Teste de Tuberculina a animais com mais de 6 semanas para pré-movimentação, com validade de 30 dias. Para além da sanidade animal, acompanhei o Dr. Paulo Capêlo nas suas deslocações para realização de actividade clínica. As intervenções realizadas durante a clínica foram basicamente em bovinos de aptidão leiteira, sendo também realizadas intervenções em bovinos de aptidão para carne, suínos, caprinos e ovinos.

A casuística das intervenções realizadas durante o estágio por sistemas é apresentada na tabela 1.

Sistemas	Nº. de casos
Digestivo	631
Respiratório	446
Patologia Metabólica	135
Glândula Mamária	159
Reprodutivo/Obstetrícia	436
Nervoso	2
Musculosquelético	8
Pele, tecido subcutâneo e faneros	29
Outras ocorrências	49

Tabela 1 Casuística por sistemas

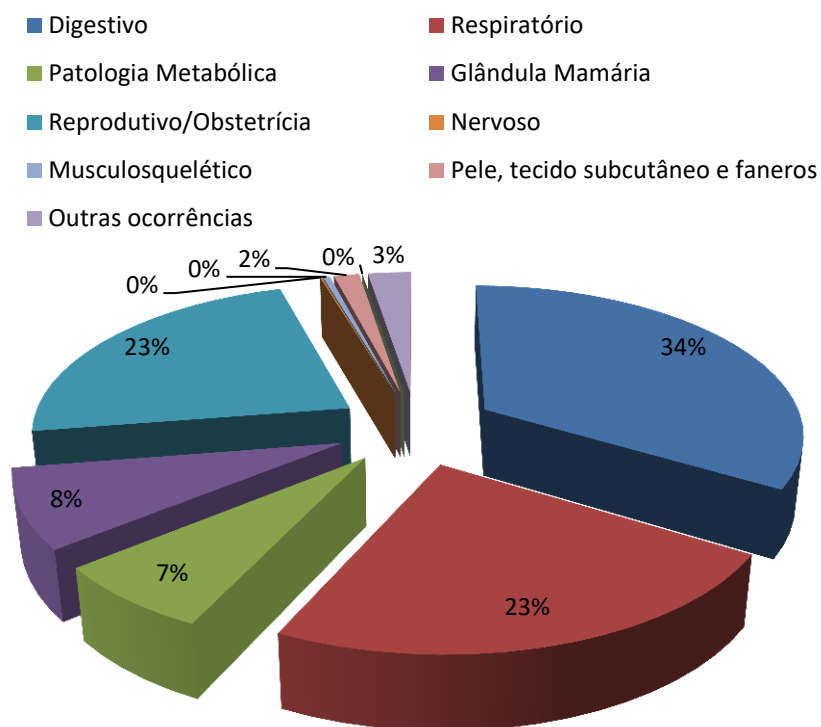


Gráfico 1 Distribuição das actividades desenvolvidas durante o estágio

Em seguida é apresentada a casuística das intervenções clínicas por sistemas (tabela 2 a 10).

Patologia Digestiva	Nº. de casos
DAE	50
DAD	10
DAD com torção	7
RPT	6
Enterite em vitelos	162
Enterite em vacas	185
Úlcera de abomaso	11
Timpanismo em vitelos	4
Indigestão	170
Torção intestinal	1
DHVI	7
Dilatação do ceco	14
Timpanismo gasoso	2
Úlcera abomasal	1
Peritonite	1

Tabela 2 Patologia Digestiva



Ilustração 2 Deslocamento de abomaso à esquerda. Cristiana Correia, 2017



Ilustração 3 Vitelo com pneumonia.
Cristiana Correia, 2016

Patologia Respiratória	Nº. de casos
Pneumonias em vacas	190
Pneumonias em vitelos	255
Pneumonia por aspiração em vitelos	1

Tabela 3 Patologia Respiratória

Patologia Metabólica	Nº. de casos
Hipocalcémia	89
Cetose/Lipidose Hepática	46

Tabela 4 Patologia Metabólica



Ilustração 5 Hipocalcémia.
Cristiana Correia, 2017



Ilustração 4 Lipidose Hepática.
Cristiana Correia, 2017

G. Mamária	Nº.de casos
Mamites	141
Fibrose do teto	15
Laceração do teto	3

Tabela 5 Patologia da glândula mamária



Ilustração 6 Laceração do Teto.
Cristiana Correia, 2017



Ilustração 7 e 8 Parto/ Torção uterina.
Cristiana Correia, 2017

Patologia Reprodutiva/Obstétrica	Nº. de casos
Metrite	215
Retenção Placentária	114
Parto Distócico	60
Torção Uterina	25
Prolapso Vaginal	1
Cesariana	3
Prolapso uterino	5
Fetotomia	1
Abortos	12

Tabela 6 Patologia Reprodutiva/Obstétrica



Patologia Nervosa	Nº. de casos
Meningite	2
Hidroencefalia	1

Tabela 7 Patologia Nervosa

Sistema músculo-esquelético	Nº.de casos
Fractura vértebras	8

Tabela 8 Sistema músculo-esquelético

Pele, tecido subcutâneo e faneros	Nº.de casos
Laminites	8
Abcesso na região lombar	4
Abcesso na coxa	5
Papilomatose	2
Dermatite interdigital	7
Fleimão interdigital	3

Tabela 9 Pele, tecido subcutâneo e faneros



Ilustração 9 Abscesso. Cristiana Correia, 2016

Outras Ocorrências	Nº.de casos
Vacinação vacas	14 (Nº. explorações)
Desparasitação vacas	6
Fertilidade	10 (Nº. de explorações)
Eutanásia de vacas	9
Ovelhas/Cabras	7
Suínos	3

Tabela 10 Outras ocorrências

III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. INTRODUÇÃO

No decorrer do estágio, verifiquei que a mamite é uma doença muito frequente e dispendiosa para o sector leiteiro devido à alta prevalência e às perdas económicas. A mamite causa um grande prejuízo nas explorações pelo leite que não pode ser aproveitado para o tanque, diminuição da produção e qualidade do leite, despesas com medicamentos e assistência veterinária, refugo de animais e ainda nas penalizações feitas pela indústria leiteira quando o número de células somáticas ultrapassa o estipulado na lei (250.000 células/ml).

Durante o período de estágio, tive oportunidade de acompanhar quatro explorações situadas no concelho de Barcelos, em que era feito o acompanhamento desde 2013. No presente relatório apenas foram usados os dados referentes ao ano de 2016.

Depois da análise dos dados das amostras das quatro explorações foi evidente que os *Staphylococcus* coagulase-negativos foram o grupo de agentes mais isolado nas explorações (Tabela 11). Por este motivo, decidi abordar de uma forma mais profunda este agente.

Na primeira parte da revisão bibliográfica, faço uma breve revisão das mamites em geral, na segunda parte faço uma revisão sobre mamites causadas por *Staphylococcus* coagulase-negativos.

	Identificação do agente	Frequência de isolamento (nº. de casos)	
Exploração 1	<i>Estafilococos coagulase negativos</i>	47	
	<i>Streptococcus spp.</i>	33	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	
	Leveduras	8	
	<i>Streptococcus uberis</i>	12	
	<i>Corynebacterium spp.</i>	1	
	<i>Escherichia coli</i>	1	
	<i>Bacillus spp.</i>	10	
	Enterobacteriaceae	1	
	<i>Leuconostoc mesenteroides crem</i>	1	
	<i>Serratia marcescens</i>	1	
	Exploração 2	<i>Estafilococos coagulase negativos</i>	97
		<i>Streptococcus spp.</i>	28
<i>Staphylococcus aureus</i>		8	
Leveduras		12	
<i>Streptococcus uberis</i>		41	
<i>Corynebacterium spp.</i>		5	
<i>Escherichia coli</i>		13	
<i>Bacillus spp.</i>		1	
Enterobacteriaceae		1	
Prototheca		4	
<i>Streptococcus thorartensis</i>		4	
<i>Aerococcus viridans</i>		2	
<i>Pseudomonas ssp.</i>		2	
<i>Enterococcus spp.</i>		2	
<i>Enterococcus saccharolyticus</i>		2	

Exploração 3	<i>Estafilococos coagulase negativos</i>	14
	<i>Streptococcus spp.</i>	7
	<i>Leveduras</i>	1
	<i>Escherichia coli</i>	2
	<i>Bacillus spp.</i>	4
	<i>Pseudomonas ssp.</i>	1
	<i>Enterococcus spp.</i>	1
Exploração 4	<i>Estafilococos coagulase negativos</i>	7
	<i>Streptococcus spp.</i>	5
	<i>Staphylococcus aureus</i>	2
	<i>Leveduras</i>	2
	<i>Streptococcus uberis</i>	5
	<i>Corynebacterium spp.</i>	3
	<i>Escherichia coli</i>	1
	<i>Enterobacteriaceae</i>	5
	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	3
	<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	1
	<i>Enterococcus hirae</i>	1

Tabela 11 Prevalência dos agentes nas explorações

2. MAMITES EM BOVINOS

1.1. Definição de mamite

O processo geral da síntese do leite e da secreção envolve o aporte dos precursores adequados à glândula mamária, a sua transformação em leite e a sua expulsão da glândula. Os mecanismos imunológicos de defesa devem responder, perante as alterações das condições da glândula mamária entre as ordenha, e ao longo das várias fases da lactação. Esta é uma tarefa difícil, devendo prevalecer condições favoráveis para que a vaca leiteira evolua em bases consistentes. Os factores de manejo, como a nutrição, higiene, base genética e condições ambientais, influenciam a capacidade do hospedeiro em responder às agressões da mamite (Smith 2002).

A mamite é uma inflamação da glândula mamária e a primeira reacção que ocorre após a invasão de microorganismos patogénicos através do canal do teto. À infecção intramamária pelo patogéneo invasor, sucede uma resposta inflamatória e perdas na produção de leite no quarto afectado da glândula (Radostitis 2001).

A mamite é a patologia mais comum em vacas leiteiras, sendo responsável por 38% da mortalidade. Em termos de impacto nos animais, 3 em cada 10 vacas leiteiras afectadas apresentam inflamação clinicamente visível da glândula mamária, 7% dos animais são refugados, e 1% morre (Smith 2002).

1.2. Etiologia

As mastites podem ter origem em causas físicas, químicas, fisiológicas ou microbiológicas, sendo esta multifatorial. Existem fungos, algas e vírus que causam mastites, mas as bactérias são os organismos mais predominantes. (Teixeira *et al.* 2008).

Microorganismo isolado	Marco (1990)	Suíza (1994)	Ortega (2000)
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,88%	41,50%	16,40%
Staphylococcus coagulase negativo	12,94%	18,40%	11,90%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	9,41%	2,80%	3,50%
<i>Streptococcus uberis</i>	8,24%	-	5,70%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	7,00%	-	4,80%
Outros “estreptococos”	12,94%	-	15,90%
Total de <i>Streptococcus</i> não agalactiae	28,18%	28,40%	26,40%
Coliformes	20,00%	8,90%	6,84%

Tabela 12 Prevalência de diferentes microrganismos causadores de mastites em 3 estudos de mastites (<http://www.solomamitis.com>).

Com base na sua epidemiologia as mastites são classificadas como mastite contagiosa e mastite ambiental (Radostitis 2001)

A mastite contagiosa ocorre quando as bactérias procedentes da glândula mamária infectada são transmitidas para outra mãe, através do equipamento da ordenha contaminado, amamentação dos vitelos ou durante a ordenha pelos próprios operários. O *Streptococcus agalactiae* é o agente que melhor se enquadra nesta categoria, pois é um “parasita” obrigatório da glândula mamária dos ruminantes. O *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma spp.* também se enquadram nesta classificação, além de terem a capacidade de colonizar outros tecidos tais como pele, aparelho respiratório, aparelho genital e aparelho urinário (Smith 2002).

A mastite ambiental ocorre quando o reservatório de agentes bacterianos infectantes se encontra no ambiente que rodeia o animal e não na glândula mamária. Neste tipo de mastite, não é necessário a existência de um animal com a glândula mamária infectada para haver a propagação da doença dentro da exploração. A cama, a água contaminada, a matéria fecal ou fomites servem de reservatório aos microrganismos capazes de originar a doença (Smith 2002). As bactérias coliformes (Gram -) são as mais representativas desta categoria de

mamites e dentro destas, temos a *Escherichia coli*, a *Klebsiella spp.* e a *Enterobacter spp.* (Smith 2002, Rebhun 1995).



Ilustração 10 Condições propícias ao desenvolvimento de microrganismos ambientais. Cristiana Correia, 2017

1.3. Classificação Geral das mamites

A inflamação da glândula mamária, ou mamite, é quase sempre de origem infecciosa, podendo ser classificada, segundo a presença ou não de sinais clínicos, em subclínica ou clínica (Smith 2002, Teixeira *et al.* 2008).

A mamite subclínica ocorre quando a glândula mamária é infectada, e existe um aumento do número de leucócitos (células somáticas) no leite, com o leite a apresentar um aspecto normal e sem sinais visíveis de inflamação na glândula mamária. Este tipo de mamite é detectada através de testes auxiliares, como o Teste Californiano de Mamites (TCM), Contagem de Células Somáticas (CCS) ou através da cultura microbiana de leite de cada um dos quartos. Com o passar do tempo, a maior parte das mamites subclínicas evolui para fibrose do tecido mamário, com o úbere a aumentar de tamanho ou a atrofiar devido à destruição do tecido glandular, alteração da consistência à palpação e com a óbvia diminuição da produção do leite. Este tipo de mamite está comumente associado ao *Streptococcus agalactiae* e ao *Staphylococcus aureus* (Smith 2002).

A mamite clínica é caracterizada pela aparência anormal do leite e pela evidência de variações dos graus de inflamação da glândula mamária (rubor, calor, tumefacção e dor). O leite pode apresentar desde alguns grumos sem alteração da cor, até um aspecto aquoso amarelado/acastanhado com acumulação de fibrina (Smith 2002).



Ilustração 11 Leite com fibrina. Cristiana Correia, 2017



Ilustração 12 Úbere com inflamação. Cristiana Correia, 2017

A mamite pode ser ainda caracterizada, conforme a sua duração e prevalência no animal, em aguda, hiperaguda (gangrenosa, por exemplo) e crónica (Smith 2002, Teixeira *et al.* 2008).

A mamite aguda é frequentemente caracterizada por a glândula mamária apresentar-se tumefacta e dolorosa, podendo esta estar edematosa e muito dura, o que torna difícil a locomoção do animal. Quando a mamite está associada a infecções pouco agressivas por *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*, o leite pode apresentar-se anormal, mas podem não se verificar outras anomalias. Os sinais sistémicos nesta mamite podem ser ligeiros ou graves e podem ter início súbito. A anorexia, a depressão e a temperatura aumentada são muitas vezes associadas à mamite aguda. Casos graves de mamite tóxica, em geral coliformes ou *Staphylococcus aureus*, podem apresentar baixos níveis séricos de cálcio, o que leva a uma paraplégia idêntica à da hipocalcémia. Casos de mastite aguda podem derivar de novas infecções ou exacerbação de infecções crónicas (Smith 2002). O leite apresenta-se aquoso e com cor alterada (Teixeira *et al.* 2008). Quase todas as novas infecções ambientais são provocadas por coliformes, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus uberis*. Estas normalmente são eliminadas entre poucos dias a várias semanas, enquanto outros agentes como a *Klebsiella spp.* têm tendência a persistir por longos períodos. Os agentes que provocam mamite contagiosa tendem a persistir como infecção subclínica (Smith 2002).

Na mamite crónica, podem não existir sinais clínicos durante intervalos de tempo prolongados. Casos que não estão bem identificados, podem, de tempos a tempos, reactivar a sintomatologia, com sinais clínicos de uma infecção aguda. As CCS's estão de um modo geral cronicamente elevadas, e as secreções da glândula mamária contêm flocos, coágulos ou fragmentos de fibrina. As bactérias comumente associadas a este tipo de infecção são as coliformes, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus* (Smith 2002).

Na mamite hiperaguda gangrenosa, o animal apresenta anorexia, desidratação, depressão, febre e sinais de toxémia. O agente etiológico primário é o *Staphylococcus aureus* mas podem também estar envolvidos *Clostridium*, *Staphylococcus* e coliformes. No início da infecção, a glândula apresenta-se vermelha, quente e tumefacta. No entanto, passado pouco tempo o teto fica frio e as secreções são aquosas e sanguinolentas. A glândula rapidamente exhibe uma área bem delineada por uma coloração azulada que se estende desde o teto a várias partes da glândula. Se o animal sobreviver, pois pode morrer com um choque tóxico, passados 10-14 dias ocorre perda da pele nestas áreas, seguida de uma infecção bacteriana secundária, necrose e a perda de pele de grande parte do tecido glandular do quarto afectado. Os microrganismos mais comuns associados à mamite gangrenosa são o *Staphylococcus aureus* e o *Clostridium perfringens*. Felizmente este tipo de mamite não é muito comum (Smith 2002).

1.4. Patogenia

A infecção intramamária ocorre quando um agente penetra o canal do teto e atinge os tecidos produtores de leite. No entanto, isto não pode ser conseguido sem que sejam ultrapassados muitos mecanismos de defesa, delineados para que seja impedida a penetração dos microrganismos, para a eliminação do crescimento bacteriano, e para o combate aos efeitos potencialmente prejudiciais dos produtos libertados da parede celular bacteriana (Smith 2002).

A mamite divide-se basicamente em três fases: invasão, infecção e inflamação (Teixeira *et al.* 2008). Durante a ordenha ou entre as ordenhas, o microrganismo penetra no canal do teto, correspondendo esta fase à invasão (Teixeira *et al.* 2008). Na fase de infecção, ocorre reprodução do agente no canal do teto (Teixeira *et al.* 2008). Quando o organismo inicia uma resposta à infecção que se está a desenvolver no úbere, denomina-se fase de inflamação. Existe a passagem de leucócitos da corrente sanguínea para os alvéolos com o objectivo de combater e neutralizar as bactérias que invadiram o teto (Teixeira *et al.* 2008).

1.5. Epidemiologia

A causa da mamite envolve uma relação complexa de três factores principais: resistência do hospedeiro, agentes microbianos e meio ambiente. Os mecanismos de defesa do hospedeiro são críticos pois afectam a susceptibilidade da vaca leiteira à infecção do úbere (Nicherson, 1987). No entanto, as características dos agentes microbianos específicos e a influência do ambiente também podem afectar o desenvolvimento da mamite. O ambiente que rodeia o animal deve estar limpo, seco e deve ainda ser confortável pois, a cama e outras condições de habitação podem fornecer nutrientes para as bactérias (camas orgânicas, tais como serradura), além de humidade, promovendo uma maior exposição do teto a agentes mamíticos, o que se traduz numa maior incidência de mamites (Radostits 2001).

Um plano para combater as mamites deve incluir parques adequados para vacas em todas as fases do ciclo, incluindo o período seco e a maternidade, fomentando assim o aumento da resistência imunitária da vaca (Radostits 2001).

Em resumo, a mamite contagiosa é a que se controla mais eficazmente através da quebra da cadeia de transmissão, objectivo exequível pela eliminação da fonte de infecção (a glândula mamária infectada), mediante o tratamento ou isolamento, e com cuidados de higiene rigorosos durante a ordenha. O controlo da mamite ambiental é mais problemático: as populações das bactérias ambientais e o seu contacto com a glândula mamária podem ser limitados mas nunca totalmente eliminados (Smith 2002).

1.6. Factores de risco

As características do hospedeiro são importantes e determinantes no risco da patogénese da mamite. Estes factores estão associados ao desenvolvimento de mecanismos imunitários específicos e de mecanismos de defesa não-específicos do hospedeiro (resistência geral). Esta resistência geral pelo hospedeiro está relacionada com predisposição genética, características anatómicas, estado nutricional, fase da lactação, parição e uso de procedimentos de manejo para aumentar a resistência (Radostitis 2001).

Resistência genética: existem evidências da correlação genética entre a produção de leite e a mamite. A selecção para a produção de leite tem sido acompanhada por uma maior susceptibilidade à doença, especulando-se que a pressão de selecção a longo prazo para a produção de leite pode ter tido um efeito negativo no polimorfismo dos genes e da resposta imunitária ligada ao complexo de histocompatibilidade principal (Radostitis 2001).

Características físicas, lesões no teto e fluxo de leite: as características anatómicas do teto e do úbere afectam a resistência geral à mamite. Especificamente, a forma do teto está associada a um maior risco de mamite clínica. A perda de leite entre as ordenhas tem sido

associada a um maior risco de mamite clínica já que constitui uma via de entrada a microrganismos ambientais para a cisterna do teto (Radostitis 2001).

Fase da lactação: é determinante da mamite subclínica e clínica. Por exemplo, a mamite originada por organismos ambientais, como a infecção por coliformes, é mais comum nos primeiros dias após o parto e ocorre menos à medida que a lactação progride (Radostitis 2001).

Idade ao parto: os animais mais jovens podem ter uma menor susceptibilidade à mamite pois têm mecanismos de defesa do hospedeiro menos afectados pela idade, como uma pele menos rugosa ou um canal do teto menos dilatado ou menos comprometido pela hiperqueratose. Além disso, costumam apresentar uma função leucocitária polimorfonuclear significativamente mais eficaz em comparação às vacas múltiparas (Radostitis 2001).

Nutrição e doenças peri-parto: a alimentação de vacas no período de transição pós-parto afecta a incidência de doenças metabólicas e de problemas no peri-parto, como a distócia, a retenção placentária, a hipocalcémia e a cetose. Estas afecções já foram identificadas como factores de risco para o desenvolvimento de mamite (Radostitis 2001).

1.7. Diagnóstico

Com o objectivo de detectar mamites, existem uma variedade de testes que são realizados na exploração e outros que são realizados no laboratório.

As células somáticas são utilizadas como indicador de infecção do úbere. Estas são constituídas por uma associação de leucócitos e células epiteliais. Os leucócitos aparecem no leite em resposta a uma inflamação que pode ser originada por uma doença ou, às vezes, devido a uma lesão. As células epiteliais soltam-se do revestimento do tecido do úbere. Os leucócitos constituem quase a totalidade (aproximadamente 98 – 99%) das células somáticas (Blowey & Edmondson 2010).

O Teste Californiano de Mamites (TCM) é o teste mais conhecido pelos produtores e o mais usado para identificar vacas com mamites subclínicas. O teste é realizado nas explorações, onde se junta um reagente ao leite (Teepol + Bromocresol púrpura), homogeneiza-se e faz-se a leitura após 10 segundos. Após o contacto do reagente com o leite, forma-se uma gelatina que é originada pela aglutinação das proteínas. De acordo com a espessura do gel, o resultado é dado em scores (tabela 13) (Teixeira *et al.* 2008).

Resultado TCM	Interpretação	Reacção observada	CCS (células/mL)
0	Negativo	Nenhuma reacção	0-200.000
T	Duvidoso	Ligeira precipitação	150.000 – 500.000
1	Fraco Positivo	Precipitação distinta mas sem formação de gel	400.000 – 1.500.000
2	Positivo distinto	Mistura viscosa com formação de gel	800.000 – 5.000.000
3	Forte Positivo	Viscosidade muito aumentada. Gel forte que é coeso e com uma superfície convexa	> 5.000.000

Tabela 13 Interpretação do TCM (Jackson & Cockcroft 2002)



Ilustração 13 Teste californiano de mamites (TCM). Cristiana Correia, 2016

O Teor Microbiano Total (TMT) avalia a qualidade do leite e da ocorrência de mamites na exploração (Teixeira *et al.* 2008). Este teor inclui todos os microrganismos contados em placa a 30°C, num meio de cultura genérico, incluindo assim, bactérias, bolores e leveduras que só mediante um isolamento para meio de cultura selectivo permitirá identificar a que grupo ou género pertence.

Existem outros testes para detectar mamites numa exploração tais como medição da Condutividade eléctrica, N-acetil-b-D-glucosaminidase (NAgase) e detecção de anticorpos no leite. Estes testes ainda não estão muito divulgados pelas explorações.

O diagnóstico microbiológico é particularmente importante nas mamites por, além de auxiliar na escolha dos agentes terapêuticos, contribuir para a adoção de medidas profiláticas ao verificar se os agentes envolvidos são de carácter contagioso ou ambiental (Langoni *et al.* 2009).

1.8. Tratamento

O principal objectivo do tratamento das mamites é reduzir ou eliminar a infecção do úbere. O tratamento pode ser administrado em duas fases diferentes: durante a lactação e durante o período de secagem. A administração durante o período de secagem tem como objectivos: tratar as infecções ocorridas durante a lactação, evitando a transferência destas para a próxima lactação e reduzir as novas infecções passíveis de ser contraídas durante o período seco (Blowey & Edmondson 2010).

Independentemente da causa da mamite, existem vários motivos pelos quais se deve aplicar algum tratamento:

- Restabelecer a produtividade da vaca;
- Impedir o agravamento da mamite;
- Evitar lesões do úbere a longo prazo e possivelmente irreversíveis;
- Impedir a propagação da infecção a outros animais;
- Reduzir a probabilidade de casos recorrentes;
- Melhorar o estado de saúde geral da vaca e o seu bem-estar (Blowey & Edmondson 2010).

Actualmente, no tratamento das mamites contagiosas aconselha-se geralmente a antibioterapia parental e também intramamária. Quando existem sinais de toxémia, além da utilização de um anti-inflamatório com propriedades anti-tóxicas (flunixinina meglumina), é essencial a fluidoterapia endovenosa com soros hipertónicos salinos com acesso simultâneo e *ad libitum* a água para que a animal compense a resultante hipernatrémia. As vacas que apresentarem recidivas após o tratamento devem ser candidatas a refugio (Teixeira *et al.* 2008).

No tratamento das mamites ambientais utilizam-se frequentemente anti-inflamatórios não esteroides (flunixinina meglumina), fármacos que promovem a ejeção de leite (ocitocina) para a subsequente realização da ordenha a fundo, sendo ainda aconselhada a utilização de pomadas tópicas mamárias para a diminuição da inflamação (por exemplo substâncias demulcentes). Nas mamites ambientais também se recomenda a fluidoterapia em situações em que existam sinais de toxémia (Teixeira *et al.* 2008).

Todas as vacas que se encontram em tratamento devem ser marcadas de uma forma facilmente visível, para que o seu leite não seja depositado no tanque com as consequentes penalizações para o produtor (Teixeira *et al.* 2008).

A escolha de um antibiótico para o tratamento da mamite deve ser tomada com base em vários critérios:

- Sensibilidade antibiótica das bactérias isoladas;
- Capacidade de penetração no úbere;
- Capacidade para persistir no úbere numa concentração suficiente para destruir as bactérias depois de uma administração ou várias;
- Eficácia na presença de leite;
- Se é um bactericida ou um bacteriostático;
- Intervalo de segurança;
- Solubilidade lipídica, propriedades de ligação às proteínas plasmáticas e nível de pH em solução;
- Preço. (Blowey & Edmondson 2010)

1.9. Controlo e profilaxia

A estratégia de controlo das mamites pode ser subdividida em três partes:

1. Reduzir os reservatórios de infecção. Isto significa manter o ambiente o mais limpo possível e reduzir o número de vacas que transportam organismos contagiosos, por exemplo através do tratamento das vacas secas e “*post-dipping*” de tetos após a ordenha.
2. Controlo da propagação por vectores. Isto é particularmente importante para os organismos contagiosos, onde as tetinas desempenham um papel fulcral na sua transmissão.
3. Optimizar as defesas do hospedeiro. Manter os tetos e as extremidades das tetinas em boas condições é obviamente um componente vital do controlo da mamite e, mais uma vez, é influenciado pela função da máquina de ordenha (Blowey & Edmondson 2010).

As medidas adequadas para a prevenção e controlo da mamite diferem consoante o tipo de organismo presente, seja contagioso ou ambiental. Embora algumas medidas, como uma máquina de ordenha correctamente funcional, sejam úteis na prevenção de doenças predisponentes, é fundamental que os principais agentes patogénicos que provocam mamite numa exploração sejam identificados para formular estratégias de controlo mais eficazes (Quinn *et al.* 2011).

O controlo da mamite ambiental é mais problemático e não responde às medidas preventivas adoptadas para a mamite contagiosa. Portanto, a redução da exposição da extremidade dos tetos aos patogéneos ambientais e a maximização da resistência da vaca às infecções intramamárias são as principais estratégias a serem implementadas para o controlo da mamite ambiental (Neto & Zappa 2011).

A prevenção da mamite pode ser ainda feita através da vacinação. Geralmente consiste numa vacina inactivada usada para a imunização de vacas e novilhas saudáveis em

explorações leiteiras com problemas de mamites recorrentes. O principal objectivo destas vacinas é a redução da incidência de mamites e da gravidade dos sinais clínicos.



Ilustração 14 Vacina para mamites causada por *Staphylococcus aureus*, coliformes e estafilococos coagulase negativos (www.hipra.com)

1.10 Considerações económicas

Nos efectivos de ruminantes leiteiros, a mamite é quase sempre a doença que causa mais prejuízos. Estas perdas económicas devem-se a custos directos e custos indirectos:

Custos directos:

1. Leite descartado.
2. Custo dos medicamentos e assistência veterinária.

Custos indirectos:

1. Penalizações devido ao aumento da contagem de células somáticas.
2. Diminuição da produção de leite durante a restante da lactação devido ao dano do úbere e / ou infecção subclínica.
3. Requisito de trabalho extra para o tratamento das mamites.
4. Taxas mais elevadas de refugo, com a consequente perda de potencial genético.
5. Mortes nas explorações. (Radostitis *et al.* 2000, Blowey & Edmondson 2010).

Uma redução substancial da incidência das mamites nas explorações leiteiras só é possível através da implementação de programas de controlo muito rigorosos (Teixeira *et al.* 2008).

2. MAMITE POR *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASE-NEGATIVOS

1. Etiologia

Os principais patogéneos da mamite, como o *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* e coliformes, frequentemente causam episódios clínicos de mamite, resultando em danos no úbere, juntamente com inflamação substancial, detectável por um aumento das células somáticas. Estes patogéneos muitas vezes persistem no úbere por um longo período de tempo e pode exigir terapia antimicrobiana prolongada. Por outro lado, os agentes patogénicos menores da mamite tais como *Corynebacterium spp.* e *Staphylococcus*

coagulase-negativo geralmente causam reacções menos graves. Actualmente, o SCN é o grupo mais prevalente de bactérias isoladas através do leite bovino em vários países (Pyörälä e Taponen, 2009; Reyher *et al.*, 2011). A mamite causada pelo SCN é tipicamente uma reacção subclínica leve (Schukken *et al.*, 2009) que é mais comumente associada ao aumento das células somáticas do leite.

Em estudos realizados recentemente em diferentes países, os estafilococos coagulase-negativos (SCN) foram a causa mais comum de infecção intramamária, tendo sido descritos como patogéneos emergentes da mamite (Tenhagen *et al.*, 2006; Pyömälä e Taponen, 2009; Sampimon *et al.*, 2009^a).

A infecção intramamária por SCN é um foco de atenção crescente nos rebanhos leiteiros, tendo sido reconhecido que os SCN consistem num grupo heterogéneo de microorganismos (Vanderhaeghen *et al.* 2015).

Os estafilococos coagulase-negativos tornaram-se os principais patogéneos subclínicos da mamite bovina em várias regiões e países (Piepers *et al.*, 2007; Reyher *et al.*, 2011; SztachaĔska *et al.*, 2016). A pesquisa com base na identificação genotípica demonstrou a presença abundante de diversas espécies do SNC em diferentes ambientes bovinos, como o ambiente das vacas (Piessens *et al.*, 2011), amostras de leite (Santos *et al.*, 2008, Park *et al.*, 2011; Persson Waller *et al.*, 2011) e habitats relacionados com o úbere (Taponen *et al.*, 2008; De Visscher *et al.*, 2014, 2016a).

Ao serem analisados os estudos com dados de espécies confiáveis, mais de 20 espécies de SCN foram até agora isoladas no leite de bovinos (Taponen *et al.*, 2007; Sampimon *et al.*, 2009b, Park *et al.*, 2011a, Persson Waller *et al.*, 2011, Piessens *et al.*, 2011, Supré *et al.*, 2011, Mørk *et al.*, 2012; Quirk *et al.*, 2012). No entanto, em geral, são encontradas apenas 5 espécies: *Staphylococcus chromogenes*, sendo geralmente as espécies mais frequentemente detectadas, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus haemolyticus* e *Staphylococcus epidermidis* no leite de bovinos (Onni *et al.*, 2010, 2012; Koop *et al.*, 2012^a).

O SCN normalmente coloniza a pele do teto, a extremidade do teto e o canal do teto. O aumento dos níveis de SCN do tanque pode resultar de uma má desinfecção do teto (“*post-dipping*”) ou de uma má condição da pele do teto (Blowey & Edmondson 2010).

Segundo Blowey & Edmondson (2010), este agente é classificado como agente contagioso. Os SCN têm vindo a tornar-se um microorganismo emergente ao nível das infecções intramamárias. Estes organismos são particularmente conhecidos por estarem presentes em novilhas prenhas, (Blowey & Edmondson 2010).

2. Epidemiologia

A alta prevalência de infecções por SCN no pré-parto de novilhas (Fox, 2009) que ainda não foram expostas ao processo de ordenha sugere que existem outras fontes de transmissão além da máquina de ordenha. Como o SCN é abundantemente livre de vida nos rebanhos leiteiros (Rendos *et al.*, 1975, Matos *et al.*, 1991), podemos supor que o ambiente das vacas é uma possível fonte de SCN causando infecção intramamária. A contaminação por este agente é feita através de procedimentos inadequados de ordenha, pouca higiene, feridas ou irritação na pele e quando o “*post-dipping*” não é aplicado (Rebhun 1995). A presença deste microorganismos é mais elevada em explorações que diminuíram o número de infecções causadas por outros patogêneos, sendo mais frequente em vacas na primeira lactação (Neto & Zappa 2011).

Embora se pense que as taxas de cura espontânea da infecção intramamária por SCN são geralmente elevadas (Harmon *et al.*, 1986, Deluyker *et al.*, 2005, Taponen *et al.*, 2006), vários estudos têm relatado que as infecções do SCN podem ter uma longa duração e, por vezes, persistem durante a lactação (Rajala-Schultz *et al.*, 2009), ou ainda durante todo o período seco (Timms e Schultz, 1987; Rainard *et al.*, 1990; Chaffer *et al.*, 1999; Taponen *et al.* 2006). Aparentemente, muitas espécies da SCN podem causar infecção intramamária persistente em ruminantes, incluindo as 5 principais espécies (Aarestrup *et al.*, 1999, Tapons *et al.*, 2007, Gillespie *et al.*, 2009, Piessens *et al.*, 2011, Supré *et al.*, 2011; Koop *et al.*, 2012b; Mørk *et al.*, 2012), algumas espécies menos frequentemente detectadas como *Staphylococcus hyicus* (Gillespie *et al.*, 2009, Rajala-Schultz *et al.*, 2009), *Staphylococcus warneri* (Taponen *et al.*, 2007, Koop *et al.*, 2012b, Mørk *et al.*, 2012), *Staphylococcus cohnii* (Supré *et al.*, 2011) e *Staphylococcus devriesei* (Supré *et al.*, 2011).

A prevalência do SCN é mais comum em novilhas novas e prenhas, e alguns autores têm mostrado que isso pode levar a rendimentos reduzidos no pós-parto. Existem ainda dados que demonstram que o tratamento intramamário de novilhas 6 meses antes do parto pode ser benéfica nestas situações mas existem riscos associados, nomeadamente a remoção do tampão de queratina natural e a introdução de novas infecções, sobretudo por coliformes, leveduras ou bolores (Blowey & Edmondson 2010).

3. Factores de virulência e patogénese

Os estafilococos coagulase-negativos (SCN), juntamente com outros agentes, tais como *Corynebacterium spp.*, são comumente considerados como patogêneos menores de mamite, em oposição aos principais agentes patogénicos tais como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* e *Streptococcus agalactiae*. No entanto, resultados contraditórios em aspectos como o efeito do SCN na contagem de células somáticas e na produção de leite, o

potencial de virulência e a epidemiologia do SCN encontrados no leite, originaram confusão quanto à importância real do SCN para a saúde do úbere (Pyörälä & Taponen, 2009).

A formação de biofilme por parte dos SCN é um excelente método para promover e manter a presença bacteriana, reforçando a sua presença no tecido do úbere externo e interno. Consequentemente, a formação de biofilmes tem sido sugerida como sendo um factor importante envolvido na fixação e manutenção do SCN, originando subsequentemente uma infecção intramamária (Clutterbuck *et al.*, 2007).

4. Sinais clínicos

A infecção intramamária por SCN permanece geralmente subclínica, levando apenas ao aumento leve a moderado da concentração de células somáticas, sobretudo em comparação com as infecções intramamárias por patogéneos maiores de mamite (Djabri *et al.*, 2002, Supré *et al.* 2011).

Juntamente com a diminuição da produção de leite, resultados positivos do TCM e contagens de células somáticas aumentadas, normalmente abaixo das 500.000 células/ml, não existem sinais clínicos que identifiquem de forma patognomónica a infecção por SCN. Nos casos de mamite em novilhas, devemos suspeitar sempre de infecção por SCN ou por *Staphylococcus aureus* (Djabri *et al.*, 2002, Rebhun 1995).

5. Diagnóstico

Os SCN podem ser causa de mamite clínica ou subclínica, ou simplesmente um contaminante saprófita do teto, devido às gotas de leite que permanecem no canal do teto após a ordenha. No entanto, se a cultura de leite de uma vaca com uma contagem de células aumentada produz um crescimento puro de SCN, então estes organismos deverão ser a causa principal de uma mamite (Blowey & Edmondson 2010). Sendo assim, é muito importante descartar os primeiros 4-6 jactos de leite antes de fazer a colheita da amostra para bacteriologia. Se isto não for feito, quaisquer *Staphylococcus* coagulase-negativos isolados na amostra podem ter origem no canal do teto (Blowey & Edmondson 2010).

6. Tratamento

Em alguns países, a mamite subclínica é tratada com antibioterapia durante a lactação, enquanto noutros, os casos de mamite subclínica e mesmo as mamites clínicas não são tratadas ou são tratadas através de outros métodos, como a ordenha frequente. Com base nos relatórios disponíveis, a mamite causada pelo SCN parece responder bem ao tratamento com antimicrobianos. A cura bacteriológica pode variar de 80% a 90% (Pyörälä & Pyörälä, 1998,

Taponen *et al.*, 2003a, 2006). No entanto, a taxa de cura para a mamite causada pelo SCN resistente à penicilina ronda os 20% (Pyörälä & Pyörälä, 1998).

Não existe consenso quanto à duração do tratamento da mamite por SCN. De acordo com um estudo recente, a extensão do tratamento até 8 dias não melhorou as taxas de cura da mamite subclínica por SCN, em comparação com o tratamento de 2 dias (Deluyker *et al.*, 2005). Com base na revisão da literatura e na experiência da autora, é nossa opinião que a mamite por SCN geralmente responde bem à terapia antimicrobiana e que a duração deve ser de 2-3 dias. O tratamento intramamário com antimicrobianos também pode ser recomendado em quartos com mamite persistente. A selecção de antimicrobianos deve ser baseada em testes de sensibilidade. Se a penicilina G é o tratamento de primeira escolha, a produção de beta-lactamase pode ser determinada por um teste rápido de nitrocefina para avaliar a sensibilidade à penicilina dos isolados (Pyörälä, 2006).

Para infecções persistentes por SCN, o tratamento antimicrobiano durante a secagem é uma boa escolha, já que as taxas de cura das vacas secas são geralmente muito altas para infecções por SCN (Newton *et al.*, 2008). Segundo Sears (2003), o tratamento da vaca seca com antibióticos eliminam 80 a 100 % das infecções por estafilococos coagulase-negativos. (Lopes *et al.* 2014).

7. Prevenção e controlo

A prevenção é a chave para combater o problema das mamites, quer quando são provocadas por SCN quer por outros agentes. Os SCN têm sido considerados como oportunistas da pele do teto e daí terem acesso ao interior do teto, provocando assim a mamite (Devriese & Dekeyser, 1980).

As medidas de controlo contra agentes patogénicos contagiosos, tais como a desinfecção da tetina entre ordenhas, reduzem as infecções do SCN no rebanho (Hogan *et al.*, 1987). Quanto ao “*post-dipping*”, a não realização deste procedimento pode aumentar significativamente a prevalência de infecções por SCN (Lam *et al.*, 1997b).

As novilhas grávidas têm uma maior prevalência de infecção pelos SNC em comparação às vacas. Na resolução do problema das mamites por SCN, o foco deve ser, portanto, sobre as novilhas, isto é, no seu ambiente, alimentação e maneio antes do parto. Os autores acreditam que o bem-estar e o conforto das novilhas podem ser factores importantes para uma boa saúde do úbere. A terapia com antibióticos de aplicação intramamária no pré-parto para novilhas reduziu o número de infecções do SCN durante a primeira lactação, mas o efeito sobre a contagem das células somáticas foi variável (Oliver *et al.*, 2003; Middleton *et al.*, 2005). Entre outras medidas preventivas contra a mamite, os vedantes de tetos passaram a ser usados como uma alternativa ou complemento à terapia antimicrobiana da vaca seca (Huxley

et al., 2002). Os vedantes de tetos foram testados em novilhas no pré-parto, tendo reduzido significativamente o risco de infecções intramamárias e de mamite clínica no pós-parto (Parker et al., 2007). Nesse estudo, foi demonstrado um efeito protector contra infecções pelos SCN.

IV. ESTUDO CLÍNICO

1. INTRODUÇÃO

Após a análise dos dados das amostras das quatro explorações foi evidente que o *Staphylococcus* coagulase-negativo foi o agente mais isolado nas explorações. Os casos de mamites por *Staphylococcus* coagulase-negativo tem vindo a aumentar nas explorações leiteiras e por este motivo decidi incidir o meu estudo neste agente.

Os objectivos do estudo foram: 1- determinar a importância relativa como agente de mamites dos *Staphylococcus* coagulase-negativos em 4 explorações do concelho de Barcelos; 2- avaliar as práticas de manejo aplicadas e a correlação com o agente; 3 - avaliar a contagem de células somáticas no leite; 4 – Analisar a sensibilidade dos antibióticos aos *Staphylococcus* coagulase-negativos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização das explorações

Neste relatório foi realizado um estudo em quatro explorações situadas no concelho de Barcelos. Nestas explorações era feito um acompanhamento desde 2013, apesar de no relatório serem apenas usados os dados referentes ao ano de 2016.

Identificação da exploração 1:

1. Características gerais:

Bovinos leiteiros da raça Holstein Frísia;

Número total de animais – 140;

Número de animais em lactação – 112;

Regime intensivo;

2. Tipo de instalação: os animais estavam divididos por lotes (viteleiro, novilhas, maternidade, vacas em lactação e vacas secas). Os animais estavam em estabulação permanente, os cubículos eram em colchão e o chão em cimento ripado.

3. Alimentação: sistema de alimentação de mistura total – UNIFEED (silagem de milho, feno) e alimento concentrado.

Na exploração o manejo reprodutivo era feito através de inseminação artificial. Na exploração era ainda realizada a vacinação com Bovilis - IBR®, Bovilis - BVD® (de 6 em 6 meses) e ainda com Coxevac® (de 9 em 9 meses). A ordenha era mecânica, os tetos eram limpos com um papel (um para cada vaca) e era realizado o *post-dipping*. Em relação á limpeza da vacaria, era feita 2 vezes por dia através de rodos mecânicos.

Identificação da exploração 2:

1. Características gerais:

Bovinos leiteiros da raça Holstein Frísia;

Número total de animais – 220;

Número de animais em lactação – 150;

Regime intensivo.

2. Tipo de instalação: os animais estavam divididos por lotes (viteleiro, novilhas, maternidade, vacas em lactação e vacas secas no mesmo lote). Os animais estavam em estabulação com acesso ao exterior, os cubículos eram em cimento e serrim e o chão em vigas de cimento e chão ripado.

3. Alimentação: sistema de alimentação de mistura total – UNIFEED (silagem de milho, feno) e alimento concentrado.

Nesta exploração o manejo reprodutivo era feito através de inseminação artificial. Na exploração era ainda realizada a vacinação com Bovilis - IBR® e Bovilis - BVD® (de 6 em 6 meses). A ordenha era mecânica, os tetos eram lavados com jacto de água e limpos com um papel e era realizado os "*post-dipping*". Em relação á limpeza da vacaria era feita através de um "mini-tractor".

Identificação da exploração 3:

1. Características gerais:

Bovinos leiteiros da raça Holstein Frísia;

Número total de animais – 120;

Número de animais em lactação – 90;

Regime intensivo.

2. Tipo de instalação: os animais estavam divididos por lotes (viteleiro, novilhas, maternidade (local macio onde são colocados também os animais doentes), vacas em lactação e secas no mesmo lote). Os animais estavam em estabulação permanente com utilização de cubículos. Estes eram em colchão e por cima era espalhado bicarbonato de cálcio. O chão era em vigas de cimento.

3. Alimentação: sistema de alimentação de mistura total – UNIFEED (silagem de milho, feno) e alimento concentrado.

A beneficiação das vacas era feita através de inseminação artificial. Na exploração era ainda realizada a vacinação com Bovilis - IBR®, Bovilis - BVD® (de 6 em 6 meses) e Bovipast® (de 6 em 6 meses). A ordenha era mecânica, os tetos eram limpos com um pano e era realizado o “*post-dipping*”. O ambiente da ordenha era limpo, os ordenhadores utilizavam luvas. Durante a ordenha antes de colocar as tetinas eram eliminados os primeiros jactos de leite. Em relação à limpeza da vacaria, era feita através de um “mini-tractor”.

Identificação da exploração 4:

1. Características gerais:

Bovinos leiteiros da raça Holstein Frísia;

Número total de animais – 114;

Número de animais em lactação – 82;

Regime intensivo.

2. Tipo de instalação: os animais estavam divididos por lotes (viteleiro, novilhas, maternidade e vacas em lactação e vacas secas no mesmo lote). Os animais estavam em estabulação permanente, eram em colchão e por cima era espalhado bicarbonato de cálcio e o chão em vigas de cimento.

3. Alimentação: sistema de alimentação de mistura total – UNIFEED (silagem de milho, feno) e alimento concentrado.

Na exploração, através de inseminação artificial. Na exploração era ainda realizada a vacinação com Bovilis - IBR®, Bovilis - BVD® (de 6 em 6 meses). A ordenha era mecânica, os tetos eram limpos com um pano e era realizado *post-dipping*. Em relação à limpeza da vacaria, era feita através de um “mini-tractor”.

Em relação às amostras, a recolha do leite para a análise era feita na maior parte das vezes de todos os quartos só em alguns casos é que era feita apenas de um quarto.

Normalmente, apenas é feita uma recolha por vaca (recolha dos 4 quartos), no entanto, se a vaca apresentar um dos quartos ou mais com mamite clínica, é realizado uma recolha separada de cada quarto.

As análises realizadas no laboratório foram para a identificação do agente, contagem de células somáticas e antibiograma.

3. RESULTADOS

Depois de analisados todos os dados das amostras de cada exploração, foi notável que os *Staphylococcus* coagulase-negativos eram o grupo de agentes com maior prevalência e por esse motivo o estudo foi baseado neste agente e na contagem das células somáticas que está associada a este agente. Nas tabelas 14, 15, 16 e 17, são apresentadas as contagens das

células somáticas de cada exploração com os respectivos gráficos. Também são apresentados os gráficos de cada exploração.

Intervalo contagem de células somáticas (células/ml)	Nº. de casos
0-200.000	23
200.000 – 500.000	12
500.000 – 1.500.000	5
1.500.000 – 5.000.000	5
> 5.000.000	2

Tabela 14 Contagem células somáticas - Exploração 1

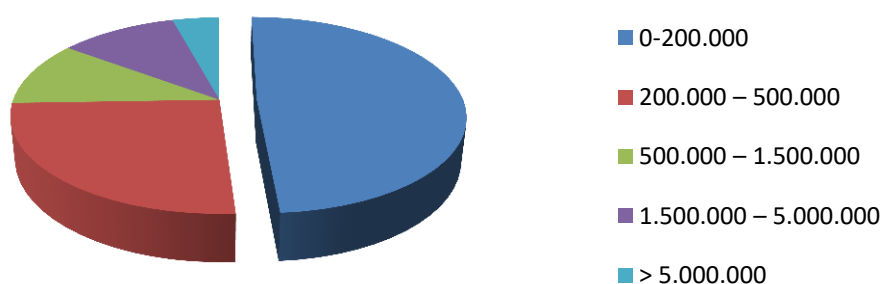


Gráfico 2 Contagem células somáticas - Exploração 1

Intervalo contagem de células somáticas	Nº. de casos
0-200.000	52
200.000 – 500.000	15
500.000 – 1.500.000	11
1.500.000 – 5.000.000	14
> 5.000.000	2
Leite impróprio	3

Tabela 15 Contagem de células somáticas - Exploração 2

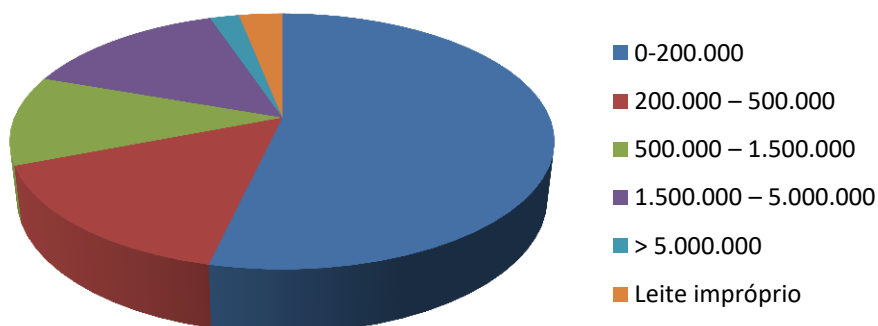


Gráfico 3 Contagem células somáticas – Exploração 2

Intervalo contagem de células somáticas	Nº. de casos
0-200.000	11
200.000 – 500.000	2
500.000 – 1.500.000	1
1.500.000 – 5.000.000	-
> 5.000.000	-

Tabela 16 Contagem células somáticas - Exploração 3

Intervalo contagem de células somáticas	Nº. de casos
0-200.000	2
200.000 – 500.000	2
500.000 – 1.500.000	2
1.500.000 – 5.000.000	-
> 5.000.000	1

Tabela 17 Contagem células somáticas - Exploração 4

Nas explorações mencionadas, também foi realizado o antibiograma para determinar as sensibilidades aos antibióticos para assim tentar escolher o antibiótico mais adequado para eliminar os agentes etiológicos. No relatório apenas são usados os dados do antibiograma dos *Staphylococcus coagulase-negativos* (Tabela 18).

	Exploração 1			Exploração 2			Exploração 3			Exploração 4		
	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I
AMOX/AC-CLAV	0	4	0	0	2	0	0	5	0	0	1	0
CEFALEXINA	0	4	0	0	2	0	0	4	0	0	1	0
CEFQUINOMA	0	4	0	0	2	0	0	5	0	1	0	0
GENTAMICINA	0	4	0	0	2	0	0	5	0	1	0	0
CEFOPERAZONA	0	4	0	0	2	0	0	5	0	0	0	1
CLOXACILINA	0	4	0	0	2	0	0	3	2	0	1	0
ERITROMICINA	1	3	0	0	2	0	0	4	1	-	-	-
LINCOMICINA/NEOMICIN	0	1	0	0	1	0	0	5	0	0	1	0
PENICILINA	0	4	0	0	2	0	1	4	0	1	0	0

Tabela 18 Resultados do Antibiograma das explorações

4. DISCUSSÃO

Após a análise dos dados, os *Staphylococcus coagulase-negativos* eram o grupo de agentes com maior prevalência nas explorações.

Na exploração 1, apareceram 47 casos de mamite provocada pelo SCN. A higiene da vacaria e da ordenha tinha algumas falhas, era visível a presença de fezes em algumas camas e no chão da vacaria, a limpeza dos tetos era feita com um papel para cada animal, as tetinas não eram higienizadas de animal para animal, as vacas mamílicas eram ordenhadas no meio

das outras e não no final da ordenha, os ordenhadores não lavavam as mãos entre animais, antes da colocação das tetinas não eram eliminados os primeiros jactos de leite.

Todos estes problemas são factores favoráveis à transmissão de agentes causadores de mamites na exploração. Em relação aos SCN, estes agentes são encontrados normalmente na pele do teto, daí ter acesso ao interior da glândula mamária, originando assim uma infecção intramamária, sendo por isso difícil ter a certeza se é a causa de mamite ou simplesmente um contaminante do teto. No entanto, para ter a certeza se os SCN são a causa de mamite, a contagem de células somáticas tem que estar aumentada. Por isso é que a prática de descartar os primeiros jactos de leite é importante, tanto quando é para realizar uma amostra para análise ou antes de colocar as tetinas.

Na análise das amostras, 23 casos de mamites por SCN não tinham a contagem de células somáticas aumentadas, enquanto 24 casos das mesmas amostras apresentavam as células somáticas aumentadas, o que significa que metade dos isolamentos de SCN não seriam causa de mamites e sim apenas um contaminante do teto. Isto pode dever-se ao facto de durante a colheita de leite para análise não terem sido descartados os primeiros jactos de leite.

Na exploração 2, foram detectados 97 casos de mamites por SCN. Nesta exploração, como na anterior, havia falhas de higiene da vacaria e da ordenha. Estas falhas eram: presença de fezes em algumas camas e no chão da vacaria, a limpeza dos tetos era feita com jacto de água e o mesmo pano servia para vários animais, as tetinas não eram higienizadas de animal para animal, as camas que tinham serrim estavam húmidas, os ordenhadores não lavavam as mãos entre animais, antes da colocação das tetinas não eram eliminados os primeiros jactos de leite. Todos estes problemas eram factores favoráveis à transmissão de agentes causadores de mamites na exploração.

Na análise das amostras da exploração 2, 52 casos de mamites por SCN não tinham a contagem de células somáticas aumentadas, enquanto 45 casos das mesmas amostras apresentavam as células somáticas aumentadas (tabela 15), o que significa que mais de metade dos isolamentos de SCN não eram causa de mamites e sim apenas um contaminante do teto. Isto pode dever-se ao facto de durante a colheita de leite para análise não terem sido descartados os primeiros jactos de leite.

Na exploração 3 e 4, foram detectados 14 (exploração 3) e 7 (exploração 4) casos de mamites por SCN. Nestas explorações, as falhas de higiene eram menores em comparação às explorações mencionadas anteriormente, mas mesmo assim estavam presentes. Estas falhas eram: a limpeza dos tetos era feita com um pano para cada animal, as tetinas não eram higienizadas de animal para animal. Para além das falhas nesta exploração, existiam melhores práticas de higiene, os ordenhadores usavam luvas e faziam a higiene das mesmas entre

animais, nas camas era espalhado bicarbonato de cálcio, não era visível a acumulação de fezes nas camas, a sala de ordenha era higienizada e eram eliminados os primeiros jactos de leite antes de colocar as tetinas. Estas boas práticas de higiene contribuíam para a redução na incidência de mamites.

Na análise das amostras da exploração 3, 11 casos de mamites por SCN não tinham a contagem de células somáticas aumentadas, enquanto 3 casos das mesmas amostras apresentava as células somáticas aumentadas (tabela 16). Este facto significava que mais de metade dos isolamentos de SCN não eram causa de mamites e sim apenas um contaminante do teto. Isto pode dever-se ao facto de durante a colheita de leite para análise não terem sido descartados os primeiros jactos de leite, ou existir algum erro durante a colheita de leite para análise, mesmo existindo a prática de descartar os primeiros jactos de leite antes de colocar as tetinas.

Na análise das amostras da exploração 4, 2 casos de mamites por SCN não tinham a contagem de células somáticas aumentadas enquanto 5 casos das mesmas amostras apresentava as células somáticas aumentadas (tabela 17), o que significa que maior parte das mamites eram provocadas pelo SCN.

Nas explorações estudadas também foram feitos antibiogramas para ver a sensibilidades dos agentes aos antibióticos (tabela 18). Os SCN eram sensíveis à maior parte dos antibióticos.

Na exploração 1, os SCN eram sensíveis à associação amoxicilina-ácido clavulânico, cefalexina, cefquinona, gentamicina, cefoperazona, cloxacilina, eritromicina, lincomicina/neomicina e penicilina. Nesta exploração apenas apareceu resistência à eritromicina.

Na exploração 2, os SCN eram sensíveis à associação amoxicilina-ácido clavulânico, cefalexina, cefquinona, gentamicina, cefoperazona, cloxacilina, eritromicina, lincomicina/neomicina e penicilina, não apresentando nenhuma resistência.

Na exploração 3, os SCN eram sensíveis à associação amoxicilina-ácido clavulânico, cefalexina, cefquinona, gentamicina, cefoperazona, cloxacilina, eritromicina, lincomicina/neomicina e penicilina. Nesta exploração apenas apareceu resistência à penicilina e resultados intermédios à cloxacilina e eritromicina.

Na exploração 4, o SCN é sensível à associação amoxicilina-ácido clavulânico, cefalexina, cefquinona, gentamicina, cefoperazona, cloxacilina, lincomicina/neomicina e penicilina. Nesta exploração apareceu resistência à penicilina, gentamicina e cefquinona e resultados intermédios à cefoperazona.

O antibiograma é importante a nível clínico para o tratamento. Com os resultados o tratamento pode ser mais específico.

Em relação ao controlo nas explorações, este deveria incidir sobre a higiene da vacaria e da ordenha. As explorações têm que ter planos de limpeza da vacaria para não haver acumulação de fezes. A limpeza das camas também é um ponto importante no controlo das mamites, estas devem estar limpas e sem humidade. As camas devem ser em material que não seja abrasivo para os úberes e é aconselhado o uso de bicarbonato de cálcio. Na ordenha, as práticas de higiene incidem sobre o bom funcionamento do equipamento, limpeza das tetinas, os ordenhadores devem lavar as mãos e usar luvas, devem sempre ser rejeitados os primeiros jactos de leite antes de colocar as tetinas, as vacas mamíticas devem ser ordenhadas no final da ordenha, os tetos devem desinfectar-se após a ordenha (*“post-dipping”*), os quartos das vacas secas e os casos clínicos devem ser todos tratados, deve haver o refugio de animais com mamite crónica, utilização de vacina e fornecimento de alimento logo após a saída da ordenha. Esta última prática vai incentivar os animais a irem à manjedoura e assim não vão logo deitar-se, podendo o esfíncter do teto, que ficou aberto devido à ordenha, encerrar, o que reduz a entrada de microrganismos.

No tratamento de mamites por SCN, deve ser usada antibioterapia parentérica e intramamária, estando ainda recomendado o uso de anti-inflamatório.

V. CONCLUSÃO/DISCUSSÃO

O estágio foi uma experiência enriquecedora, quer nível a profissional quer a nível pessoal. A casuística, sendo tão variada, ajudou-me a por em prática todos os conhecimentos que adquiri ao longo dos 6 anos de curso, proporcionando-me ainda a aquisição de novos conhecimentos e experiência a nível prático.

A mamite é a doença com maior impacto económico nas explorações leiteiras, traduzindo-se na diminuição da produção de leite, leite que não é aproveitado para o tanque, custos com medicamentos e assistência veterinária, e refugo de animais.

De um modo geral para os produtores, as mamites que os preocupavam mais eram as clínicas pois eram obviamente visíveis através dos sintomas, não dando a importância devida às mamites subclínicas, sem sintomas visíveis. De qualquer forma, constatei que os produtores preocupavam-se cada vez mais com as mamites devido às conseqüentes perdas e penalizações. Estas penalizações eram feitas quando a contagem de células somáticas ultrapassava as 250.000 células/ml.

A mamite provocada por *Staphylococcus* coagulase-negativos é cada vez mais frequente nas explorações leiteiras. O aparecimento deste agente nas amostras muitas das vezes não é indicativo de mamite pois os SCN são contaminantes da pele do teto, aproveitando-se dos restos de leite no canal do teto para multiplicarem-se. Sendo assim, a não eliminação dos primeiros jactos de leite antes da colheita pode levar ao isolamento destes agentes no laboratório, mesmo não tendo qualquer participação em processos mamíticos. Só uma cultura pura de SCN associada a um aumento das células somáticas é que permite considerá-los como os agentes etiológicos de mamite. Mesmo assim, a importância relativa das mamites por SCN tem aumentado, o que se pode dever a práticas de higiene das vacarias deficitárias.

Na minha opinião, o grande problema das explorações é a falta de higiene das vacarias, acumulação de fezes, equipamentos de ordenha com mau funcionamento, a ordenha não ter a higiene necessária e o uso de leite de vacas mamíticas para alimentar os vitelos. Outro problema com que me deparei durante o estágio foi o uso, inicialmente, em caso de mamite de antibioterapia com 0 dias de intervalo para o leite, uso justificado pelo simples facto de não desperdiçarem leite para conseguirem atingir as cotas leiteiras.

O Médico Veterinário em casos de mamites tem o dever de aconselhar os produtores sobre o controlo e prevenção e fazer um tratamento adequado a cada caso com o objectivo de melhorar a qualidade do leite.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. Aarestrup, F. M., H. D. Larsen, and N. E. Jensen. 1999. Characterization of *Staphylococcus simulans* strains isolated from cases of bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 66:165–170.
2. Blowey R, Edmondson P (2010). "Mastitis control in dairy herds." 2th Edition, Farming Press.
3. Chaffer, M., G. Leitner, M. Winkler, A. Glickman, O. Krifucks, E. Ezra, and A. Saran. 1999. Coagulase-negative staphylococci and mammary gland infections in cows. *Zentralbl. Veterinärmed B* 46:707–712.
4. Clutterbuck, A. L., E. J. Woods, D. C. Knottenbelt, P. D. Clegg, C. A. Cochrane, and S. L. Percival. 2007. Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet. Microbiol.* 121:1–17.
5. De Visscher, A., S. Piepers, F. Haesebrouck, and S. De Vlieghe. 2016a. Teat apex colonization with coagulase-negative *Staphylococcus* species before parturition: distribution and species-specific risk factors. *J. Dairy Sci.* 99:1427–1439.
6. De Visscher, A., K. Supré, F. Haesebrouck, R. N. Zadoks, V. Piessens, E. Van Coillie, S. Piepers, and S. De Vlieghe. 2014. Further evidence for the existence of environmental and host-associated species of coagulase-negative staphylococci in dairy cattle. *Vet. Microbiol.* 172:466–474.
7. De Visscher A, Piepers S, Haesebrouck F, Supré K, De Vlieghe S. 2017. Coagulase-negative *Staphylococcus* species in bulk milk: Prevalence, distribution, and associated subgroup- and species-specific risk factors. *J. Dairy Sci.* 100:629–642
8. Deluyker, H. A., S. N. Van Oye, and J. F. Boucher. 2005. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 88:604–614.
9. Djabri, B., Bareille, N., Beaudeau, F., Seegers, H., 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet. Res.* 33, 335–357.

11. Deluyker, H.A., Van Oye, S.N., Boucher, J.F., 2005. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 88, 604–614.
12. Devriese, L.A., Dekeyser, H., 1980. Prevalence of different species of coagulase-negative staphylococci on teats and in milk samples from dairy cows. *J. Dairy Res.* 47, 155 –158.
13. Dufour S, Dohoo R, Barkema HW, DesCôteaux L, DeVries TJ, Reyer KK, Roy JP, Scholl DT 2012. Epidemiology of coagulase-negative staphylococci intramammary infection in dairy cattle and the effect of bacteriological culture misclassification. *J. Dairy Sci.* 9 5: 3110–3124
14. Fox, L. K. 2009. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. *Vet. Microbiol.* 134:82–88.
15. Gillespie, B. E., S. I. Headrick, S. Boonyayatra, and S. P. Oliver. 2009. Prevalence and persistence of coagulase-negative *Staphylococcus* species in three dairy research herds. *Vet. Microbiol.* 134:65–72.
16. Harmon, R. J., W. L. Crist, R. W. Hemken, and B. E. Langlois. 1986. Prevalence of minor udder pathogens after intramammary dry treatment. *J. Dairy Sci.* 69:843–849.
17. Hogan, J.S., White, D.G., Pankey, J.W., 1987. Effects of teat dipping on intramammary infections by staphylococci other than *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.* 70, 873–879.
18. Huxley, J.N., Greent, M.J., Green, L.E., Bradley, A.J., 2002. Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. *J. Dairy Sci.* 85, 551 –561.
19. Jackson P, Cockcroft P (2002). "Clinical examination of farm animals." Blackwell Publishing, 161-166
20. Koop, G., A. De Visscher, C. A. Collar, D. A. Bacon, E. A. Maga, J. D. Murray, K. Supré, S. De Vlieghe, F. Haesebrouck, J. D. Rowe, M. Nielen, and T. van Werven. 2012a. Short communication: Identification of coagulase-negative *Staphylococcus* species from

- goat milk with the API Staph identification test and with transfer RNA-intergenic spacer PCR combined with capillary electrophoresis. *J. Dairy Sci.* 95:7200–7205.
21. Koop, G., S. De Vliegher, A. De Visscher, K. Supré, F. Haesebrouck, M. Nielen, and T. van Werven. 2012b. Differences between coagulase-negative *Staphylococcus* species in persistence and in effect on somatic cell count and milk yield in dairy goats. *J. Dairy Sci.* 95:5075–5084.
 22. Lam, T.J.G.M., van Vliet, J.H., Schukken, Y.H., Grommers, F.J., van VeldenRusscher, A., Barkema, H.W., Brand, A., 1997b. The effect of discontinuation of postmilking teat disinfection in low somatic cell count herds. II. Dynamics of infection. *Vet. Quart.* 19, 47–53.
 23. Langoni H, Laurino F, Faccioli PY, Silva AV, Menozzi BD (2009). “Cultivo microbiológico e a sensibilidade no isolamento de patógenos nas mamites bovinas.” **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.4, 708-715
 24. Lopes LO, Lacerda MS, Ronda JB (Janeiro de 2014) “Controle e profilaxia de mastite causada por *Staphylococcus* sp. Em vacas leiteiras: revisão de literatura.” *Revista científica electrónica de medicina veterinária*, n.22.
 25. Matos, J. S., D. G. White, R. J. Harmon, and B. E. Langlois. 1991. Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. *J. Dairy Sci.* 74:1544–1549.
 26. Middleton, J.R., Timms, L.L., Bader, G.R., Lakritz, J., Luby, C.D., Steevens, B.J., 2005. Effect of prepartum intramammary treatment with pirlimycin hydrochloride on prevalence of early first-lactation mastitis in dairy heifers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 1969–1974.
 27. Mørk, T., H. J. Jørgensen, M. Sunde, B. Kvitle, S. Sviland, S. Waage, and T. Tollersrud. 2012. Persistence of staphylococcal species and genotypes in the bovine udder. *Vet. Microbiol.* 159:171–180.
 28. Neto FP, Zappa V (2011) “Mastite em vacas leiteiras- revisão de literatura.” **Revista científica electrónica de medicina veterinária**, n.16.

29. Newton, H.T., Green, M.J., Benchaoui, H., Cracknell, V., Rowan, T., Bradley, A.J., 2008. Comparison of the efficacy of cloxacillin alone and cloxacillin combined with an internal teat sealant for dry-cow therapy. *Vet. Rec.* 162, 678–683.
30. Oliver, S.P., Lewis, M.J., Gillespie, B.E., Dowlen, H.H., Jaenicke, E.C., Roberts, R.K., 2003. Prepartum antibiotic treatment of heifers: milk production, milk quality and economic benefit. *J. Dairy Sci.* 86, 1187–1193.
31. Onni, T., G. Sanna, G. P. Cubeddu, G. Marogna, S. Lollai, G. Leori, and S. Tola. 2010. Identification of coagulase-negative staphylococci isolated from ovine milk samples by PCR-RFLP of 16S rRNA and gap genes. *Vet. Microbiol.* 144:347–352.
32. Onni, T., A. Vidili, E. Bandino, G. Marogna, S. Schianchi, and S. Tola. 2012. Identification of coagulase-negative staphylococci isolated from caprine milk samples by PCR-RFLP of groEL gene. *Small Rumin. Res.* 104:185–190.
33. Park, J. Y., L. K. Fox, K. S. Seo, M. A. McGuire, Y. H. Park, F. R. Rurangirwa, W. M. Sicho, and G. A. Bohach. 2011a. Comparison of phenotypic and genotypic methods for the species identification of coagulase-negative staphylococcal isolates from bovine intramammary infections. *Vet. Microbiol.* 147:142–148.
34. Park, J. Y., L. K. Fox, K. S. Seo, M. A. McGuire, Y. H. Park, F. R. Rurangirwa, W. M. Sicho, and G. A. Bohach. 2011. Comparison of phenotypic and genotypic methods for the species identification of coagulase-negative staphylococcal isolates from bovine intramammary infections. *Vet. Microbiol.* 147:142–148.
35. Parker, K.I., Compton, C., Anniss, F.M., Weir, A., Heuer, C., McDougall, S., 2007. Subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant precalving. *J. Dairy Sci.* 90, 207–218.
36. Persson Waller, K., A. Aspán, A. Nyman, Y. Persson, and U. Grönlund Andersson. 2011. CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 152:112–116.
37. Petrovski KR, Trajcev M, Buneski G (2006) A review of the factors affecting the costs of bovine mastitis. *J South Afr Vet Assoc* 77:52–60

38. Piepers, S., L. De Meulemeester, A. de Kruif, G. Opsomer, H. W. Barkema, and S. De Vliegher. 2007. Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. *J. Dairy Res.* 74:478–483.
39. Piessens, V., E. Van Coillie, B. Verbist, K. Supré, G. Braem, A. Van Nuffel, L. De Vuyst, M. Heyndrickx, and S. De Vliegher. 2011. Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds. *J. Dairy Sci.* 94:2933–2944.
40. Pyörälä, S., 2006. Treatment of clinical mastitis: local and/or systemic? Short or long?. In: *Proceedings of the 24th World Buiatrics Congress, Nice, France*, pp. 250–259
41. Pyörälä, S.H., Pyörälä, E.O., 1998. Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989–1995). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212, 407–412.
42. Pyörälä, S., and S. Taponen. 2009. Coagulase-negative staphylococci emerging mastitis pathogens. *Vet. Microbiol.* 134:3–8.
43. Quinn PJ, Markey FC, Leonard E S, FitzPatrick SF, Hartigan PJ (2011) “In the *Veterinary Microbiology and Microbial Disease.*” 837-850
44. Quirk, T., L. K. Fox, D. D. Hancock, J. Capper, J. Wenz, and J. Park. 2012. Intramammary infections and teat canal colonization with coagulase-negative staphylococci after postmilking teat disinfection: Species-specific responses. *J. Dairy Sci.* 95:1906–1912.
45. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW (2000) “A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.” 9th Edition, Philadelphia: W. B. Saunders Company, 603-686
46. Radostits OM (2001) “Food Animal Production Medicine.” 3th Edition, Philadelphia: W. B. Saunders Company, 397-433
47. Rainard, P., M. Ducelliez, and B. Poutrel. 1990. The contribution of mammary infections by coagulase-negative staphylococci to the herd bulk milk somatic cell count. *Vet. Res. Commun.* 14:193– 198.

48. Rajala-Schultz, P. J., A. H. Torres, F. J. DeGraves, W. A. Gebreyes, and P. Patchanee. 2009. Antimicrobial resistance and genotypic characterization of coagulase-negative staphylococci over the dry period. *Vet. Microbiol.* 134:55–64.
49. Rebhun WC (1995) “Diseases of dairy cattle.” A Waverly Company, 279-308
50. “Relatório de Gestão e Contas 2015.” **Cooperativa de Barcelos**
51. Rendos, J. J., R. J. Eberhart, and E. M. Kesler. 1975. Microbial populations of teat ends of dairy cows and bedding materials. *J. Dairy Sci.* 58:1492–1500.
52. Reyher, K. K., S. Dufour, H. W. Barkema, L. Des Côteaux, T. J. DeVries, I. R. Dohoo, G. P. Keefe, J.-P. Roy, and D. T. Scholl. 2011. The national cohort of dairy farms. A data collection platform for mastitis research in Canada. *J. Dairy Sci.* 94:1616–1626.
53. Reyher K. K., Dohoo I. R., Scholl D.T., Keefe G. P., 2012. Evaluation of minor pathogen intramammary infection, susceptibility parameters, and somatic cell counts on the development of new intramammary infections with major mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.* 95: 3766–3780
54. Sampimon, O., H. W. Barkema, I. Berends, J. Sol, and T. Lam. 2009a. Prevalence of intramammary infection in Dutch dairy herds. *J. Dairy Res.* 76:129–136.
55. Sampimon, O. C., H. W. Barkema, I. M. G. A. Berends, J. Sol, and T. J. G. M. Lam. 2009a. Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds. *Vet. Microbiol.* 134:37–44.
56. Sampimon, O. C., R. N. Zadoks, S. De Vliegher, K. Supré, F. Haesebrouck, H. W. Barkema, J. Sol, and T. J. G. M. Lam. 2009b. Performance of API Staph ID 32 and Staph-Zym for identification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine milk samples. *Vet. Microbiol.* 136:300–305.
57. Santos, O. C. S., E. M. Barros, M. A. V. P. Brito, M. C. F. Bastos, K. R. N. Santos, and M. Giambiagi-deMarval. 2008. Identification of coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis using RFLP-PCR of the groEL gene. *Vet. Microbiol.* 130:134–140.

58. Smith BP (2002) "Large animal internal medicine." Third edition, Mosby Inc, 1019-1038
59. Schukken, Y. H., R. N. González, L. L. Tikofsky, H. F. Schulte, C. G. Santisteban, F. L. Welcome, G. J. Bennett, M. J. Zurakowski, and R. N. Zadoks. 2009. CNS mastitis: Nothing to worry about? *Vet. Microbiol.* 134:9–14.
60. Supré, K., F. Haesebrouck, R. N. Zadoks, M. Vanechoutte, S. Piepers, and S. De Vlieghe. 2011. Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. *J. Dairy Sci.* 94:2329–2340.
61. Sztachańska, M., W. Barański, T. Janowski, P. Pogorzelska, and S. Zduńczy. 2016. Prevalence and etiological agents of subclinical mastitis at the end of lactation in nine dairy herds in northeast Poland. *Pol. J. Vet. Sci.* 19:119–124.
62. Taponen, S., Dredge, K., Henriksson, B., Pyyhtia, A.M., Suojala, L., Junni, R., Heinonen, K., Pyorala, S., 2003a. Efficacy of intramammary treatment with procaine penicillin G vs. procaine penicillin G plus neomycin in bovine clinical mastitis caused by penicillin-susceptible, Gram-positive bacteria—a double blind field study. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 26, 193–198.
63. Taponen, S., J. Koort, J. Björkroth, H. Saloniemi, and S. Pyörälä. 2007. Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *J. Dairy Sci.* 90:3301–3307.
64. Taponen, S., J. Björkroth, and S. Pyörälä. 2008. Coagulase-negative staphylococci isolated from bovine extramammary sites and intramammary infections in a single dairy herd. *J. Dairy Res.* 75:422– 429.
65. Taponen, S., H. Simojoki, M. Haveri, H. D. Larsen, and S. Pyörälä. 2006. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Vet. Microbiol.* 115:199–207.
66. Teixeira P, Ribeiro C, Simões J (2008) "Prevenção de mamites em explorações de bovinos leiteiros." <http://www.veterinaria.com.pt/>

67. Tenhagen, B.-A., G. Köster, J. Wallmann, and W. Heuwieser. 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J. Dairy Sci.* 89:2542–2551.
68. Timms, L. L., and L. H. Schultz. 1987. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 70:2648–2657.
69. Vanderhaeghen W , Piepers S , Leroy F, Van Coillie E, Haesebrouck F , De Vliegher S. 2014. Invited review: Effect, persistence, and virulence of coagulase-negative *Staphylococcus* species associated with ruminant udder health. *J. Dairy Sci.* 97 :5275–5293
70. Vanderhaeghen W, Piepers S, Leroy F, Van Coillie E, Haesebrouck F, De Vliegher S. 2015. Identification, typing, ecology and epidemiology of coagulase negative staphylococci associated with ruminants. *The Veterinary Journal* 203 (2015) 44-51
71. www.hipra.com (visitada a 29 de Março de 2017 pelas 19:35 Horas)
72. www.saudeanimal.bayer.com (visitada a 13 de Abril de 2017 pelas 9:00 horas)
73. www.agribar.pt (visitada a 4 de Fevereiro de 2017 pelas 10:00 Horas)