

Introdução

O estágio, com duração de 4 meses, decorreu, principalmente no concelho de Barcelos, de 19 de Dezembro de 2008 a 3 de Abril de 2009, em clínica e cirurgia de animais de produção, sob a orientação do Médico Veterinário Paulo Capelo. O serviço clínico e cirúrgico é sustentado numa base de clínica ambulatoria essencialmente em gado leiteiro. Nesse período foram prestados serviços médico-veterinários numa média de 10 explorações por dia, perfazendo uma média de cerca de 50 serviços por semana. As explorações eram maioritariamente de estabulação livre, com efectivos superiores a 30 animais.

No quadro I estão dispostos os principais motivos de chamada.

Quadro 1- Motivos de chamada

Motivo	Nº de casos	Percentagem
Anorexia	276	37,7%
Claudicação	58	7,9%
Gestação	28	3,8%
Diarreia	27	3,7%
Mastite	109	14,9%
Oftalmologia	5	0,7%
Obstetrícia	57	7,8%
Vaca caída	89	12,2%
Respiratório	83	11,3%
Total	732	100%

No quadro anteriormente apresentado, pode verificar-se que o principal motivo de chamada é a anorexia, um sinal muito inespecífico que, após o exame clínico, indicava o sistema afectado que a originava. O segundo motivo da solicitação, denominado mastite, engloba as alterações como a diminuição da produção de leite, alteração do úbere, aumento de células somáticas e alteração do leite produzido.

Analisando a casuística, e como se verifica no gráfico 1, verifica-se, que as patologias do foro gastrointestinal (Problemas GI), incluindo os deslocamentos de abomaso, são o grupo de patologias mais frequentemente observadas, cerca de 40% dos casos. Dentro dos distúrbios gastrointestinais incluem-se enterites, indigestões, acidoses entre outros. A razão para a exclusão do deslocamento de abomaso, do grupo de distúrbios gastrointestinais, é devido ao elevado números de casos observados e à sua resolução cirúrgica.

O grupo de deslocamento do abomaso engloba ambos os deslocamentos para a esquerda e direita (DAE e DAD, respectivamente), tal como a torção do abomaso para a direita. Verificou-se durante este período que havia uma maior incidência de deslocamento para o lado esquerdo,

como é referido na bibliografia (Smith, 2002). Os processos de torção do ceco, presentes no grupo dos distúrbios gastrointestinais, verificaram-se após a mudança de silagem de milho e apenas se observaram num intervalo de tempo de 3 semanas em seis explorações.

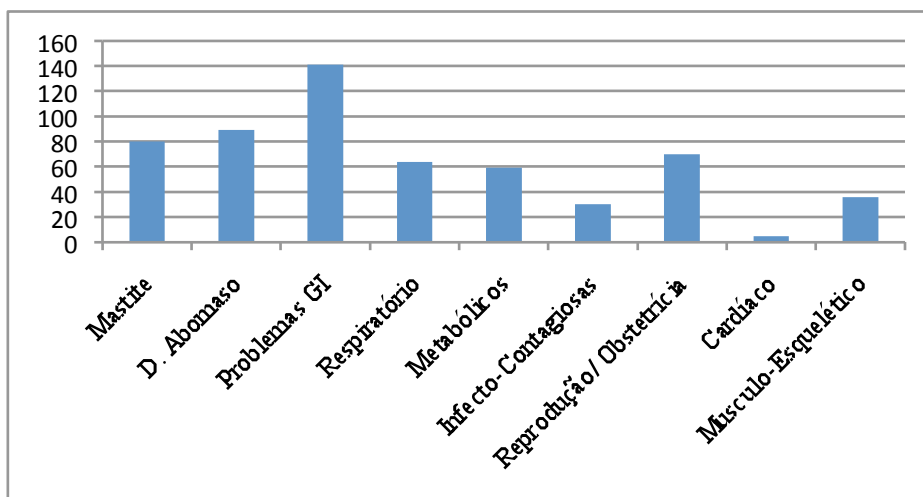


Gráfico 1- Casos diagnosticados

O segundo grupo de afecções mais frequente foi o grupo das mastites, sendo cerca de 14% dos casos diagnosticados. Dentro deste grupo encontram-se as mastites de cariz ambiental e contagioso, sendo as mais observadas as de cariz ambiental. Segue-se o grupo de reprodução e obstetrícia, que perfazem a percentagem de 12% e que conjugam problemas, como metrite e infertilidade, a realização de partos e diagnósticos de gestação. No gráfico 2 observa-se a proporção dos casos assistidos de reprodução e obstetrícia durante o período de estágio.

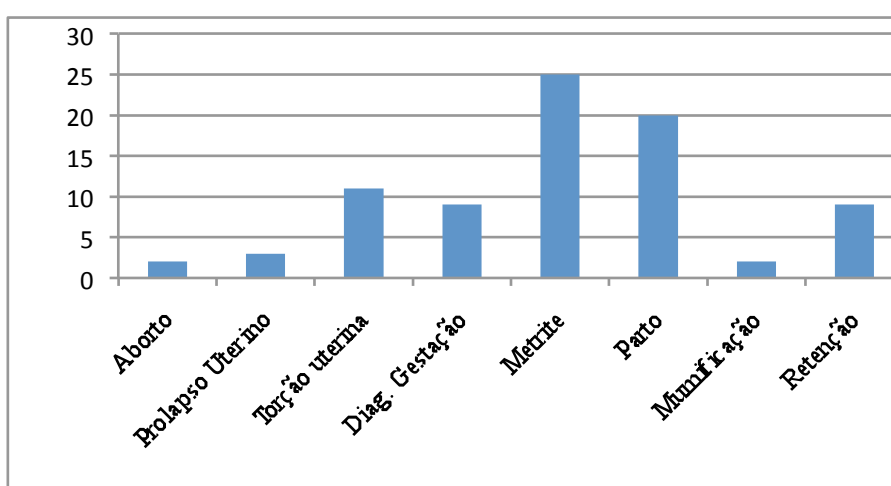


Gráfico 2 – Reprodução & Obstetrícia

Os problemas respiratórios aparecem em quarto lugar das patologias com maior incidência. O número de casos aumentava exponencialmente durante os períodos de maior amplitude térmica e períodos de maior pluviosidade, tratando-se na sua maioria de pneumonias.

Os distúrbios metabólicos perfazem 10% dos casos, sendo o mais frequente a hipocalcémia clínica pós e pré parto.

Nos restantes casos incluem-se os de oftalmologia, doenças infecciosas, podologia, lesões do sistema músculo-esquelético e aparelho cardíaco. Relativamente aos casos de oftalmologia, o agente responsável pela afecção era exclusivamente o agente *Moraxella bovis*.

Nos casos de podologia, os mais frequentes eram laminite nos membros anteriores e abscessos subsolares. Por outro lado no que diz respeito às doenças infecciosas, eram frequentemente observados casos de BVD, IBR e *Neospora*, que eram identificados pelos sinais clínicos e posteriormente era colhido sangue para confirmação laboratorial de diagnóstico, através existência de anticorpos específicos.

As lesões no sistema músculo-esquelético verificavam-se mais frequentemente na forma da lesão do nervo obturador ou da raiz nervosa, com origem na vértebra lombar número 6 (L6) no pós-parto, durante a passagem do feto durante o parto, principalmente em primíparas, causando a compressão e consequente queda do animal.

De referir também as afecções do aparelho cardíaco que foram na sua totalidade provocadas pela presença de um objecto metálico que causava reticulopericardite traumática.

Com a confirmação de diagnóstico, uma parte representativa das patologias referidas eram de resolução cirúrgica. Verifica-se no gráfico 3, quais foram as principais intervenções cirúrgicas realizadas. Confirma-se a grande representatividade dos casos de afecção do abomaso, principalmente na alteração topográfica para a esquerda.

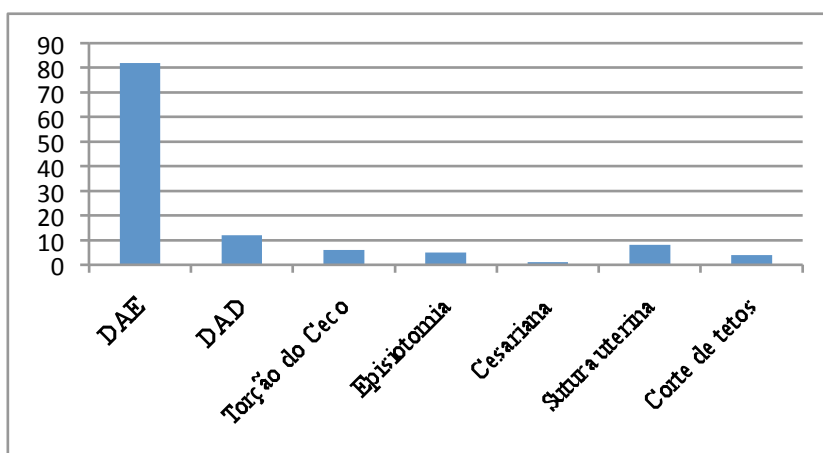


Gráfico 3 – Cirurgias realizadas

Analisando a casuística, verificamos que a maior parte dos problemas são de origem no sistema gastrointestinal, porém, mesmo sendo a incidência de mastites menor, o tratamento e as perdas de leite são muito mais prejudiciais a nível económico. A partir desta observação, a escolha do tema do foi óbvia, uma vez que era esta a parte que maior interesse me despertava.

A opção pelo tema das mastites provocadas por *Streptococcus agalactiae* foi devida a várias razões, nomeadamente, aos números de casos confirmados de mastites provocadas por este agente, pela importância económica deste tipo de problema e ainda pela característica recidivante deste tipo de infecção na ausência de medidas de controlo. (Smith, 2002).

Mastites em Bovinos

A mastite é a inflamação do parênquima da glândula mamária que, independentemente da sua origem, é caracterizada por alterações químicas e físicas no leite, acompanhadas de alterações patológicas no tecido glandular (Blowey & Edmondson, 1999; Smith, 2002).

No sector leiteiro, esta patologia é a que apresenta maior morbilidade e consequentemente a responsável pelos maiores prejuízos económicos aos produtores. Os prejuízos são directos e indirectos; Os directos são referentes ao leite desperdiçado e aos gastos com o veterinário e medicação; Os indirectos referem-se à diminuição da produção de leite, às possíveis penalizações nas contagens células somáticas (CCS) e de resíduos de antibióticos, à necessidade de mais mão-de-obra, de refugio e à possibilidade de morte desses animais (Blosser, 1979; Janzen 1970). É estimado que cerca de três em cada dez vacas lactantes desenvolvam anualmente uma mastite. Sendo que do universo das vacas com mastite, 7% tenham que ser refugadas e que 1% morram das complicações da mastite (Smith, 2002).

Nas últimas quatro décadas a diminuição da incidência de casos de mastites por vaca nos países desenvolvidos foi devido ao estabelecimento das medidas preventivas dos cinco pontos do Reino Unido que consistem no: tratamento e registo de todos os casos clínicos, lavagem dos tetos e desinfecção após cada ordenha, terapia das vacas secas, eliminação selectiva de todos os casos de mastites crónicas e manutenção periódica da máquina de ordenha (Parker *et al*, 2007).

Classificação das mastites

As mastites são normalmente divididas em duas categorias, nomeadamente as mastites de origem contagiosa e de origem ambiental. A divisão é assim realizada tendo em conta como se realiza a infecção. (Smith, 2002).

As mastites ambientais são assim denominadas pois os agentes infectantes encontram-se normalmente no ambiente, sendo os principais agentes destas mastites a *Escherichia coli*, o *Streptococcus dysgalactiae* e o *Streptococcus uberis*. Existem porém outros agentes menos frequentes como *Enterobacter spp*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Pasteurella*, fungos e leveduras (Blowey & Edmondson, 1999).

As mastites contagiosas são classificadas assim, devido à excreção do agente infeccioso e transmissão para outro animal. Os principais agentes são o *Staphylococcus aureus*, o *Streptococcus agalactiae* e o *Corynebacterium bovis* (Radostitis, 2000). De referir a crescente importância dos Estafilococos coagulase negativos, agentes contagiosos, anteriormente considerados agentes infecciosos de menor importância, mas cuja prevalência e virulência têm vindo a aumentar (Pyorala & Taponen, 2009). Para além da glândula mamária, estes agentes têm capacidade de colonizar outros tecidos e aparelhos, como o tracto urinário permitindo-lhes ser fonte de contágio para outros animais (Smith, 2002). As mastites contagiosas foram diminuindo a incidência ao longo das últimas décadas devido em grande parte ao aumento do efectivo e a maiores produções de leite por cabeça e das medidas preventivas implementadas (Blowey & Edmondson, 1999).

As mastites provocadas por algas e fungos, sendo mais raras, apresentam menor interesse clínico (Radostitis, 2000). Porém a alga do género *Prototheca* tem elevado o seu interesse, uma vez que os casos confirmados de mastites provocadas por este agente têm aumentado, e principalmente devido ao risco para a saúde pública e às resistências que apresenta a determinados fármacos (Marques *et al*, 2006).

Existem, também, intervenção viral em certas mastites, com a diminuição das defesas do hospedeiro e com a colonização posterior com agentes bacterianos. Devido ao pouco conhecimento, a importância dos vírus e a sua repercussão económica é reduzida, mas necessita de ser mais aprofundada (Wellenberg *et al*, 2002).

A classificação de mastites de acordo com o quadro clínico exibido é dividida em mastite clínica e subclínica. (Smith, 2002).

A mastite clínica caracteriza-se por sinais visíveis de inflamação, aumento de volume e da temperatura do quarto afectado, dor, rubor e mudanças na aparência macroscópicas do leite. A aparência macroscópica do leite pode ser de aspecto aquoso, com grumos e coágulos além de outras substâncias como fibrina, soro, sangue e pús; podem estar acompanhadas ou não de reacções sistémicas orgânicas, como perda de apetite, hipertermia apatia e por vezes, morte consequente de choque séptico e endotóxico (Smith, 2002).

Devido à grande variabilidade, dentro das mastites clínicas definem-se divisões, nomeadamente a mastite clínica hiper-aguda, com o aparecimento de sinais clínicos locais e sistêmicos de um modo abrupto; mastite clínica aguda, que tal como a anterior, os sinais são também repentinos, mas de menor severidade; a mastite clínica sub-aguda, alteração repentina e com menor severidade de sinais que a anterior, podendo por vezes verificar-se apenas a alteração do leite; mastite crónica, chamada assim devido à persistência da mastite, subclínica e clínica, por mais de dois meses, com consequente substituição do tecido glandular por tecido conjuntivo fibroso (Radostitis, 2000).

A mastite subclínica ocorre quando a glândula mamária é infectada, e no leite aumentam o número de leucócitos detectados através de testes de rotina, tal como o Teste Californiano de Mastites (TCM), definindo a CCS e a contagem bacteriana do leite retirado de cada um dos quartos. O leite apresenta um aspecto normal e a glândula mamária não exhibe sinais visíveis de inflamação. Com a não efectivação do diagnóstico precoce, a maior parte dos tipos de infecção subclínica resultam em fibrose do tecido mamário, aumento do tamanho e da consistência do úbere, diminuição da produção do leite ou evolui para mastite clínica. Este tipo de mastite está principalmente associado aos agentes *Streptococcus agalactiae* e ao *Staphylococcus aureus* (Radostitis, 2001).

Verifica-se na figura 1 a representação da proporção e da distribuição das mastites clínicas e subclínicas.

Como se pode constatar na figura 1, o círculo exterior é representativo do ciclo reprodutivo de uma vaca leiteira, as setas grossas representam os locais temporais típicos da ocorrência de mastites clínicas, as setas mais finas indicam quando será mais frequente as mastites ambientais.

O padrão circular a negro, indica a probabilidade de ocorrer mastites subclínicas na primeira lactação e o padrão ponteadado a probabilidade na segunda lactação. Daí se infere que a ocorrência de mastites anteriores aumenta a probabilidade da ocorrência de recidivas e que com o aumento da idade e das lactações as mastites também se tornam mais frequentes (Gruet *et al*, 2001).

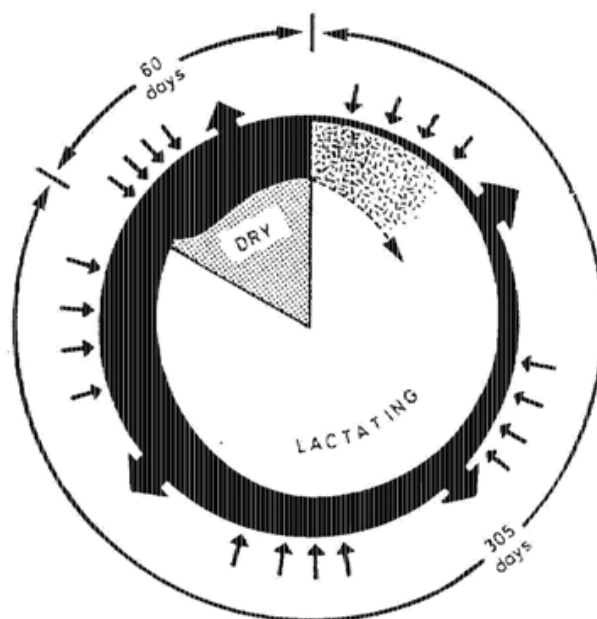


Figura 1 - Adaptado de Gruet *et al*, 2001

Mastite por *Streptococcus agalactiae*

O *Streptococcus agalactiae* é uma bactéria gram positiva, não hemolítica (Brochet *et al*, 2006), é pertencente ao Grupo B de *Streptococcus*, grupo diferenciado devido ao conjunto de antígenos ramnose, N-acetilglucosamina e galactose (Norcross & Stark, 1970). Este agente é um agente obrigatório da glândula mamária, altamente contagioso, responsável por uma mastite subclínica com inflamações agudas intermitentes (Smith, 2002).

A bactéria *Streptococcus agalactiae* é particularmente importante porque é extremamente infecciosa, passando de vaca para vaca através do sistema de ordenha e, sendo subclínica, é muitas vezes ignorado pelo ordenhador (Meiri-Bendek *et al*, 2002).

A patogenia pode ser dividida em três fases: a entrada pelo esfíncter do teto, a proliferação e invasão da glândula mamária.

O método de entrada no teto para esta bactéria depende mais do diâmetro do lúmen do teto do que do comprimento do teto, em comparação com as restantes espécies de *Streptococcus* (Radostitis, 2000). Este organismo não invade o parênquima da glândula mamária, mantendo-se na superfície do epitélio e sobrevive apenas durante curtos espaços de tempo na pele dos tetos ou noutras localizações. A virulência de algumas estirpes está relacionada com as diferenças genéticas na capacidade de aderência ao epitélio da glândula mamária (Keefe, 1997). A bactéria consegue-se manter até três semanas em material inorgânico, daí a importância de medidas de higiene e controlo, para evitar a persistência deste agente na sala de ordenha (Radostitis, 2000).

O método de transmissão é realizado de teto para teto e de vaca para vaca por fômites, vitelos, máquinas de ordenha e pelas mãos do ordenhador que apresentem contaminação prévia do agente (Smith, 2002). A presença desta bactéria na flora comensal do tracto urinário, na garganta e no recto dos humanos, pode servir como fonte de contaminação e dispersão do agente, durante a ordenha (Keefe, 1997). Um factor relevante, no controlo, é o bom funcionamento da máquina da ordenha e de todos os seus componentes, principalmente o vácuo e a boa colocação das tetinas uma vez que as diferenças de pressão podem levar à sucção de leite pelo teto e a colonização da glândula mamária por parte do *S. agalactiae* (Blowey & Edmondson, 1999; Radostitis, 2000).

Após a entrada do agente, a infecção demora cerca de 1 a 4 dias e a inflamação cerca de 3 a 5 dias. A proliferação do agente dá-se pelos ductos lactíferos, seguindo para os gânglios linfáticos através das paredes, levando à libertação de polimorfonucleados (PMN) para o leite. Neste ponto com o tecido secretor já invadido e lesionado e devido a uma reacção sistémica à infecção, ocorre uma diminuição abrupta da produção de leite. Nesta fase se a infecção não for debelada, o

processo anterior de invasão continua nos restantes lóbulos da glândula mamária, com posterior fibrose e atrofia do tecido glandular (Radostitis, 2000).

A imunidade da glândula mamária é muito importante para o combate a esta situação. Os aspectos morfológicos como a presença do esfíncter do teto funcional, o comprimento do teto, a presença de ácidos gordos e proteínas na camada de queratina que impedem a adesão de bactérias, ajudam a prevenir as mastites (Gruet *et al*, 2001). A principal linha de defesa são os PMN (Boutet *et al*, 2004), porém como a infecção se processa inicialmente no leite e não no tecido glandular, a defesa primordial é feita pelas imunoglobulinas (Ig). As principais Igs envolvidas nesta acção são as IgA, IgM, e maioritariamente as IgG₁ e IgG₂. Contudo a produção de globulinas no leite normalmente é muito baixa, após a infecção o seu número sobe consideravelmente, estimando-se que por essa altura o efeito desse aumento de produção seja inócuo no combate à infecção já estabelecida (Norcross & Stark, 1970). A IgG₁ é um anticorpo aglutinante e neutralizante que actua como opsonina na fagocitose de macrófagos sendo o anticorpo mais importante numa glândula saudável. Já a IgG₂ actua como opsonina dos neutrófilos que possuem receptores específicos.

Os PMN presentes na resposta à infecção são predominantemente macrófagos (35-79%), linfócitos B e T (10-24%), e leucócitos polimorfonucleados (2-15%) (Gruet *et al*, 2001). Além da resposta celular, são libertados na glândula mamária compostos da resposta reactiva como componentes do complemento, responsáveis pela posterior fibrose da glândula, os lipossacarídeos, leucotrienos, interleucinas e factor de necrose tumoral α (Gruet *et al*, 2001).

Epidemiologia

O *S. agalactiae* é a maior causa de mastite em explorações onde medidas de controlo de mastites contagiosas não são correctamente instituídas ou estão ausentes (Radostitis, 2000).

A infecção provocada não constitui um risco para a vida do animal, mas a manutenção da infecção a um nível subclínico, com uma taxa de auto recuperação baixa, promove a dispersão do agente no efectivo devido à contínua presença do mesmo no sistema de ordenha (Keefe, 1997). A fonte do microrganismo no leite é assumida como proveniente da glândula mamária (Jayarao *et al*, 2004), nos animais subclínicos não identificados nem diagnosticados (Keefe, 1997), uma vez que a frequência da presença de *S. agalactiae*, tal como *S. aureus*, aumentava paralelamente com o aumento das contagens de células somáticas em análise a tanques de leite (Smith, 1984; Jayarao *et al*, 2004).

Em relação à prevalência de infecções por este agente, um estudo referia que 85 a 95% das mastites subclínicas diagnosticadas tinham origem em *S. aureus* e *S. agalactiae* (Smith, 1984). Dados referentes a um estudo americano (Wilson *et al*, 1997) observaram que 10,1% das culturas de leite, num universo de cem mil colheitas retirado directamente dos animais, apresentavam presença de *S. agalactiae* como único agente infeccioso. Este agente era o segundo mais frequente, a uma distância mínima dos agentes do género *Staphylococcus*.

Em estudos similares, em que a análise do leite era também realizada por colheita individual, verificou-se a presença de pelo menos um caso positivo em 56% das explorações, num estudo realizado no estado norte-americano de Ohio (Keefe, 1997). Verificou-se também que 60% das explorações apresentavam pelo menos um caso num universo de 29 explorações (Keefe, 1997) e 7, 81% dos animais num universo de 23 138 animais em 50 explorações (Gonzalez *et al*, 1988).

Em estudos em que a análise era feita ao tanque do leite em várias explorações, constatavam-se valores de *S. agalactiae* seriam de 44% num universo de 998 explorações (Oliver & Mitchell, 1984), 47% num universo de 2931 explorações (Hogan *et al*, 1986), 32% num universo de 1971 explorações (Goldberg *et al*, 1991), 11% em 1350 explorações (Schoonderwoerd, 1993) e 14,4 %, num universo de 452 explorações (Keefe *et al*, 1997)

No quadro 2 pode-se comparar os valores consoante os estudos referenciados com colheitas individuais e no quadro 3 em colheitas de tanque de leite.

Quadro 2 – Colheita individual

Estudos	Prevalência	Universo do estudo
Gonzalez RN <i>et al</i> , 1988	7,81%	23 138 Animais de 50 explorações
Keefe, 1997	56%	48 Explorações com pelo menos 1 vaca infectada
Keefe <i>et al</i> , 1997	60%	29 Explorações com pelo menos 1 vaca infectada
Wilson <i>et al</i> , 1997	10,1%	105 083 Vacas em 1601 explorações

Quadro 3 – Colheita do tanque do leite

Estudos	Prevalência	Universo do estudo
Oliver & Mitchell, 1984	44%	998 Explorações
Hogan <i>et al</i> , 1986	47%	2931 Explorações
Goldberg, <i>et al</i> , 1991	32%	1971 Explorações
Schoonderwoerd, 1993	11%	1350 Explorações
Keefe <i>et al</i> , 1997	14,4%	452 Explorações

Num estudo germânico (Tenhagen *et al*, 2006), em que os dados se referem à análise de leite de vacas sãs, é apenas observada a bactéria em 0,5% das análises, mas de referir que só se observavam agentes infecciosos em 26,4% das colheitas, sendo o *Corynebacterium spp* o mais representativo seguido dos Estafilococos coagulase negativos.

Relativamente à incidência de mastites por *S. agalactiae*, foram alcançados dados fornecidos por um estudo, de duração de quase dois anos, em que o aparecimento de novas explorações com animais infectados era de 3,5 explorações quinzenalmente em cada cem explorações livres (Keefe *et al*, 1997).

Em novilhas em pré parto, a incidência é extremamente reduzida, quer como agente infectante quer como a presença do agente na glândula mamária, uma vez que como a fonte de contágio principal, a máquina de ordenha, ainda não foi utilizada nesse grupo de animais do efectivo leiteiro (Fox, 2008).

Verifica-se que ocorreu uma diminuição das mastites contagiosas nas últimas décadas, devido em grande parte à implementação de medidas de controlo (Gonzalez *et al*, 1990). De referir também que a baixa prevalência de mastites contagiosas está relacionada directamente com as baixas contagens de células somáticas no tanque da exploração e a situação inversa também se verifica (Erskine *et al*, 1987).

Numa comparação com os dados obtidos durante o estágio, não se podem tirar conclusões exaustivas devido ao reduzido número de casos recolhidos. Tendo em conta os dados obtidos das mastites subclínicas em que o agente foi identificado, 12,5% delas foram provocadas pelo *S. agalactiae*, sendo a causa de mastite mais vezes identificada a causada pelo género *Streptococcus spp*, de origem ambiental, com 52% num universo de 25 casos.

Sinais Clínicos

A mastite provocada por *Streptococcus agalactiae* pode apresentar quadros subclínicos e clínicos (aguda e crónica), predominando o quadro subclínico.

Num quadro clínico, observa-se normalmente a hipertermia com a duração de um ou dois dias, simultaneamente com a diminuição da produção de leite, sem grande alteração no aspecto macroscópico do leite. Sinais como edema, dor e aumento do volume do quarto afectado também se podem verificar. Além destes sinais, ocorrem outros menos específicos como aumento da frequência respiratória, taquicardia, eritema e dor da pele do quarto afectado. A repetição desses episódios é periódica, separada por intervalos sem sinais aparentes, porém a inflamação moderada do úbere verificava-se constantemente (Keefe, 1997; Radostitis, 2000; Smith, 2002).

Os sinais clínicos observados, com a infecção experimentalmente induzida, eram iniciados com episódios agudos de mastite, redução da produção de leite e secreção de leite alterado, acompanhada de febre transitória. Este processo inicial repetia-se por intervalos em que os episódios se manifestavam com menor severidade (Radostitis, 2000). Pode-se, portanto, dividir a afecção clínica em três categorias:

- Sub-aguda, quando o animal está febril e com anorexia;
- Aguda, quando a inflamação do úbere é grave, mas não se observa reacção orgânica sistémica marcada;
- Crónica, quando o úbere não se encontra hipertrofiado, com ausência de dor e de temperatura, sendo que a presença de coágulos no leite e a baixa produção são os únicos indícios de anormalidade (Radostitis, 2000). A cronicidade pode ser apenas estabelecida se a infecção, mesmo sem sintomatologia, ultrapassar os dois meses de duração (Radostitis, 2001).

De referir que, normalmente, este tipo de mastite se manifesta, na maior parte dos casos, como subclínica, não havendo mais sinais como a redução da produção de leite e o aumento do número de células somáticas. A contagem das células somáticas é, essencialmente, a mensuração da concentração de leucócitos na glândula mamária, servindo como método de identificação da presença de inflamação (Radostitis, 2001; Smith, 2002).

Os dados clínico-patológicos variam consoante a fase de desenvolvimento da sintomatologia. Contagens de bactérias no leite são elevadas durante as fases iniciais, mas são reduzidas na altura em que as contagens de células somáticas são elevadas, acto coincidente com o aumento do volume e consistência do úbere. Os valores de células somáticas sobem na razão de 10 a 100 vezes, nos dois primeiros dias, voltando à normalidade após dez dias do início da infecção.

Quando as mudanças inflamatórias afectam a linha epitelial das células acinares responsáveis pela excreção de leite, verifica-se a excreção de coágulos no leite. De referir que quando se verificam coágulos na excreção do leite, já a infecção se estendeu bastante e a parte maior do dano já ocorreu. Nesta fase, o aumento do úbere é devido à inflamação do tecido interalveolar e da secreção retida, daí que seja um bom procedimento a ordenha frequente de modo a diminuir a hipertrofia e a promover a melhor dispersão de fármacos administrados (Radostitis, 2000).

Controlo e Prevenção

O principal aspecto que se pretende obter com a instituição de um controlo de mastites é a produção de leite de boa qualidade. Significa portanto, que os responsáveis que implementam o controlo além de criarem situações para a redução do sofrimento animal, têm também que promover a viabilidade económica. (Radostitis, 2001).

Normalmente, nas explorações onde se pretende implementar programas de controlo de mastites cujo agente é o *S. agalactiae*, verificam-se valores de CCS entre 900 000 a 2 240 000 células/ml nos quartos afectados, daí se correlacionar directamente os valores de células somáticas do efectivo com vacas infectadas. Normalmente, se na análise do tanque apresentar valores superiores a 500 000 células/ml é indicativo de problemas e se os valores rondarem 700 000 células/ml podem estar até 50% do efectivo afectado. Os objectivos de um controlo de mastites contagiosas consistem em utilizar técnicas de modo a manter determinados valores, como a CCS do tanque e contagem bacteriana (NMC, 2001) dentro dos valores apresentados no quadro 2.

Quadro 2 - Valores a atingir na monitorização de mastites contagiosas (Adaptado de Radostitis, 2000)

Objectivo	Valores	Frequência da Monitorização
CCS do tanque	< 200 000 células/ml	Mensalmente
Contagem bacteriana	< 10 000 ufc/ml	Mensalmente
Vacas com mastite	< 1%	Quinzenalmente
Violação de Resíduos	Nunca	Diariamente

A contagem de células somáticas no tanque do leite é correlacionada indirectamente com a quantidade de leite produzido, podendo assim constatar que quando ocorre um aumento das contagens celulares, individual ou no efectivo, ocorreu uma infecção na glândula mamária. A análise poderá ser realizada individualmente ou por análise do tanque do leite (Radostitis, 2000), sendo o último mais utilizado nos programas de controlo de mastites contagiosas, uma vez que torna o controlo mais económico e mais preditivo. Além deste aspecto, outras situações são de

considerar, tal como as penalizações no valor do leite, por excesso das contagens celulares e de contagens bacterianas em leite cru. Uma vez determinados os problemas dentro da exploração através da medição dos valores de células somáticas, o processo de controlo irá ser estabelecido. Deve começar primeiro ao nível da observação do processo de ordenha, onde se irão rever processos e definir pontos críticos no sistema de ordenha e na higiene dos processos. Após a observação do plano de controlo a ser estabelecido, deve ter como base três pontos, nomeadamente: **a prevenção de novas infecções**, **a eliminação da infecção** e finalmente de uma **monitorização do controlo** após a implementação (Dodd, 1983; Radostitis, 2001).

Neste primeiro ponto, **prevenção de novas infecções**, certos procedimentos fazem parte indissociável dele como, a desinfecção dos tetos após a ordenha, a higiene do úbere antes da ordenha, a correcta colocação das tetinas, o estabelecimento da ordem de animais a ordenhar e a desinfecção das tetinas.

O procedimento de desinfecção dos tetos após a ordenha, com substâncias germicidas, é considerado em conjunto com o tratamento em vacas secas, como um dos pontos de controlo mais importantes em mastites contagiosas (Smith, 1991; Radostitis, 2001; Whist *et al*, 2006). A desinfecção do teto é um processo simples, eficiente e económico, podendo diminuir a presença de bactérias na pele do teto de 50% a 90% (Boddie & Nickerson, 1990; Radostitis, 2001). Este sistema também pode ser aplicado através de spray, embora seja menos eficiente e menos económico. É considerada uma boa prática alternar a família de agentes de germicidas, uma vez que pode criar resistências a determinadas bactérias contagiosas (Erksine, 1998). As principais famílias de germicidas utilizados são, os iodofóros, a clorina, clorito de sódio acidificado, hipocloreto de sódio, clorhexidina, o peróxido de hidrogénio, os amónios quaternários, o álcool benzílico entre outros (Watts *et al*, 1984; NMC, 2001). Além de factores antimicrobianos, podem também ter propriedades regeneradoras da pele, como a glicerina. Num estudo, verificou-se que 58,5% das vacas apresentavam a presença de *Streptococcus agalactiae* não usando a desinfecção no fim da ordenha (Oliver & Mitchell, 1984).

A higiene do úbere antes da ordenha tem como por objectivo principal, a diminuição dos agentes contagiosos que se encontram na pele no úbere, tal como os agentes ambientais. Comparado com o processo anterior, a sua importância preventiva é menor dentro das mastites contagiosas (Radostitis, 2001), ainda que tenha sido estabelecida uma significativa associação entre a higiene do úbere e a presença de mastites contagiosas (Schreiner & Ruegg, 2003). Neste ponto do processo deve-se recorrer à utilização de toalhas de papel individualizadas e luvas de látex de modo a diminuir a probabilidade de contaminação por parte do ordenhador. A água não deve ser

utilizada, uma vez que promove a maior concentração de bactérias na ponta do teto devido à gravidade. A utilização de germicida antes da ordenha começa a ser mais utilizada, principalmente à base de iodo, porém apresenta o problema de poder aumentar os valores de iodo no leite (Radostitis, 2001). A manutenção das camas e toda a exploração deve permitir um ambiente seco, limpo e confortável de modo a diminuir a conspurcação do úbere (NMC, 2001).

Durante a ordenha, é necessária a estimulação do teto, para ocorrer a libertação de oxitocina para permitir a descida do leite, logo a colocação da tetina deve ser feita no intervalo de 1 a 1,5 minuto após o processo de higienização do teto, de modo a maximizar essa estimulação, diminuindo assim o leite residual e aumentando o leite recolhido (Radostitis, 2001). A colocação das tetinas deve ser correcta de modo a diminuir as pressões negativas, que ocorrem quando entram grandes quantidades de ar, criando forças de impacto que promovem a formação de aerossóis de leite que entram no canal do teto e podem disseminar agentes contagiosos, como se observa na figura 2 (Blowey & Edmondson, 1999).

O estabelecimento de ordem de ordenha é bastante importante porque limita a ocorrência de novas infecções, uma vez que os animais com mais risco de apresentarem infecção se encontram no final da linha de ordenha. Normalmente a ordem estabelecida é iniciada com as novilhas,

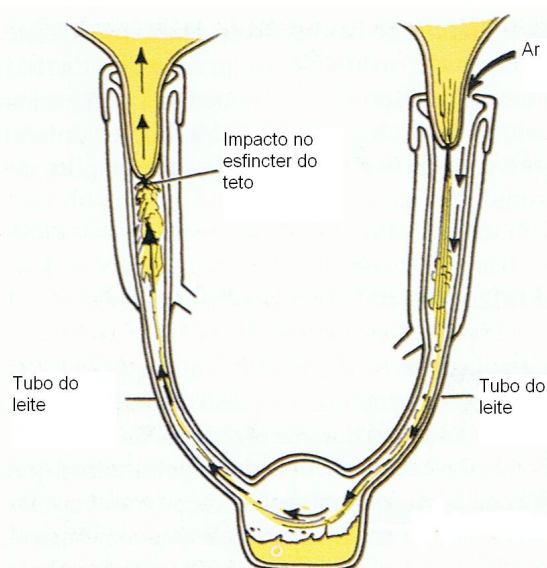


Figura 2 – Forças de Impacto (Blowey & Edmondson

depois as vacas multíparas acabadas de parir, seguidas das vacas com elevadas contagens de células somáticas, mastites clínicas crónicas e casos clínicos actuais (Radostitis, 2001).

A desinfecção das tetinas entre cada vaca ordenhada é de extrema importância de modo a tentar travar o processo de disseminação de organismos contagiosos. Por vezes é um processo trabalhoso, demorado e dispendioso uma vez que após a colocação do desinfectante é necessária a remoção com água (Blowey & Edmondson, 1999).

Na última década tem se verificado o aumento da utilização de ordenhas automáticas, logo o procedimento de controlo apresenta certas diferenças. Nestes casos o controlo é garantido electronicamente pelo dispositivo de ordenha, com a medição das alterações do leite através da condutividade eléctrica (Rasmussen *et al*, 2002).

A eliminação da infecção é também um factor de controlo e será abordado mais à frente no capítulo tratamento. O tratamento pode por vezes ser utilizado, mas sendo muito dispendioso e podendo apresentar falhas, por vezes o refugo de animais, de modo a retirar a fonte da bactéria é a medida mais vantajosa a nível sanitário e económico.

A monitorização do sistema de ordenha tem de ser também assegurada, de modo a que todo o processo seja seguro. Aspectos como a pulsação, o vácuo, os meios de desinfecção das tubagens entre outros, são pontos de controlo periódicos necessários de modo a não promoverem um ciclo de agentes contagioso para os úberes dos animais do efectivo (Blowey & Edmondson, 1999; Peris *et al*, 2002)

Os factores de risco são um aspecto a ter em atenção, uma vez que têm que ser contornados de maneira a se estabelecer processos de controlo concretos e eficazes.

Não é documentada nenhuma susceptibilidade de raças de bovinos à infecção por *S. agalactiae*, mas verifica-se maior incidência em vacas com mais partos e nos momentos iniciais do período pós-parto/lactação (Radostitis, 2000; Tenhagen *et al*, 2006). Verifica-se ainda que com o aumento da idade e do número de partos ocorre um aumento da incidência de quartos afectados, sendo a infecção por *S. agalactiae* praticamente ausente em novilhas antes do parto (Nickerson, 2009). O período de lactação é também um factor de risco, uma vez que se verificam maior incidência em certos pontos do ciclo de lactação da vaca. Em certos casos verifica-se maior incidência se o ciclo sofrer alterações temporais, como em períodos de secagem maiores que dois meses, em períodos de lactação maiores que 355 dias e quartos infectados à data da secagem (Robert *et al*, 2008)

As características produtivas, morfologia e condição física do úbere e tetos, são também factores de risco. De facto, um elevado índice de produção de leite e o aumento do diâmetro do canal do teto têm sido associados ao aumento de CCS e ao risco de infecção intramamária (Slettbakk *et al*, 1995), tal como a alteração da morfologia do úbere que pode promover ao aparecimento de mastites (Radostitis, 2000) e que o menor comprimento do teto promove o aparecimento de novas mastites (Robert *et al*, 2008)

A nutrição é também um factor de risco, uma vez que uma nutrição com a ausência de antioxidantes, vitamina A, vitamina E e selénio, provoca uma maior debilidade e consequentemente maior susceptibilidade a determinados tipos de mastite. A suplementação nutricional é uma resposta para esta situação (Radostitis, 2000).

As patologias que debilitam a resposta imunológica como as retenções placentárias, o BVD, as lesões e as inflamações nos tetos, são associadas a uma elevada incidência de mastites e a lesões

podais (Radostitis, 2000). Situações como stress diminuem também a resposta imunológica, devido ao processo de libertação de corticoesteróides.

Factores como o clima, qualidade e manejo do alojamento, estruturação e sistema de limpeza dos pavilhões, tipo de camas e pluviosidade, interagem com a influência do grau de exposição do úbere aos agentes de mastites patogénicas. Má ventilação, reservatórios de água conspurcada e áreas enlameadas, onde as vacas se reúnem, são também factores de risco (Radostitis, 2000).

As estações do ano são também um factor de risco, pois a relação entre a incidência de mastites e a época do ano é variável, dependendo das condições geográficas e climáticas. Em climas temperados, a incidência da mastite é mais elevada no Outono e Inverno, uma vez que os partos ocorrem dentro dos pavilhões e prolongam-se por um período mais alargado. Nestas condições, de longos Invernos, há mais probabilidade de se verificar uma elevada concentração dos agentes infecciosos nas camas dos animais (Radostitis, 2000).

Diagnóstico

A mastite por *S. agalactiae*, uma vez que na maioria dos casos se manifesta na forma subclínica, o seu diagnóstico seguro só pode ser obtido por via laboratorial (Meiri-Bendek *et al*, 2002).

Sendo esta bactéria representante do grupo B de *Streptococcus*, origina um produto extracelular que na presença da hemolisina estreptococal β , causa na zona de inoculação em agar-sangue, a completa hemólise, referida como reacção de CAMP (Keefe, 1997). O teste pode ser realizado por um teste de aglutinação em látex comercial, que contém os reagentes necessários para a realização da identificação em qualquer laboratório (Radostitis, 2001). Este teste apresenta, segundo alguns estudos, a sensibilidade de 97,6% (Hogan, 1988) e 100 % (Poutrel, 1983) e de especificidade de 98,2% (Hogan, 1988) e de 100% (Poutrel, 1983).

Ao contrário de outras espécies de *Streptococcus* esta espécie não hidrolisa a esculina (Keefe, 1997). Existe ainda outra característica que tem sido explorada de modo a ser permitida a sua identificação, é a habilidade para produzir colónias pigmentadas quando o crescimento se realiza em meio anaeróbio (Keefe, 1997).

Resumindo, a identificação é feita após a colocação num meio de cultura, como agar-sangue, e baseia-se na morfologia das colónias, a não hidrólise da esculina, o teste de CAMP positivo e o padrão de hemólise (Dinsmore *et al*, 1991).

Para a análise de identificação do *S. agalactiae*, tanto leite congelado como refrigerado podem ser utilizados, independentemente de a origem ser do tanque ou amostra individual da vaca (Keefe, 1997). Porém, foi constatado que a presença da bactéria no tanque do leite não é muito

elevada em vacas subclínicas, devido à flutuação da excreção deste agente (Andersen *et al*, 2002) A congelação da amostra não parece alterar os dados em comparação com a refrigeração, com a vantagem de se poder armazenar até quatro semanas sem alteração das colónias recuperadas (Keefe, 1997). Verificou-se que não havia diferença relevante ao nível de sensibilidade e especificidade entre a colheita pós e pré ordenha, nem com a colheita de 0,01 e 0,05 ml em ambos os casos (Dinsmore *et al*, 1991).

Devido à natureza da infecção do *S.agalactiae*, a presença da bactéria no tanque assume-se como proveniente do úbere da vaca, daí que a especificidade para testes de identificação no tanque do leite seja de 100% (Keefe, 1997).

Testes como ELISA, PCR e IFA, são utilizados na identificação do agente contagioso. O teste de PCR é baseado na única sequência de ADN dentro das unidades 16S dos genes de rARN do *Streptococcus agalactiae*. Este método permite a identificação de uma bactéria em 1 mL de leite cru (Meiri-Bendek *et al*, 2002).

A contagem de células somáticas é também um factor importante para o diagnóstico de uma infecção intramamária, principalmente as subclínicas, sendo o seu principal indicador (Riekerling *et al*, 2007). Normalmente um úbere sem alterações apresenta o valor de 50 000 células por ml, sendo que dessas 74 a 97%% são macrófagos e linfócitos e apenas de 3 a 26% de PMN. Em caso de mastite quase a totalidade das células somáticas são os PMN, podendo ser o seu número até à ordem dos milhões (Gruet *et al*, 2001). A contagem de células somáticas pode ver o seu número alterado devido à mastite, como já referido, mas também pelo agente causador da infecção, por causa da idade e da fase da lactação da vaca (Blowey & Edmondson, 1999). Foi verificado que as maiores contagens celulares são normalmente provenientes de infecção subclínica por *S. agalactiae* (Jayarao *et al*, 2004).

A contagem pode ser feita numa vaca individualmente, definindo o estado do úbere ou ao efectivo inteiro de modo a conseguir definir a severidade, a dispersão das mastites no efectivo e as decisões a se poder tomar (Radostitis, 2000). Salientar que a leitura mais eficaz é feita quando a recolha é feita imediatamente antes da ordenha da manhã. São vários os métodos de contagem de células somáticas que podem ser utilizados, nomeadamente:

- Contador Fossomatic e Coulter, são métodos que realizam a contagem automática, com a desvantagem de apresentar resultados com possíveis variações no valor de 15% (Blowey & Edmondson, 1999);
- Prova de Mastite da Califórnia (TCM), prova para definição de mastite subclínica, com possibilidade de obtenção de resultados de forma grosseira e rápida no campo. Tem como

base a reacção de gelificação, que acontece em maior proporção consoante maior for a presença de células somáticas no leite (Blowey & Edmondson, 1999);

- Prova de Whiteside (WMT), a reacção é feita com o reagente hidróxido de sódio que coagula na presença de mais de 500 000 ml/células na amostra do leite (Blowey & Edmondson, 1999).
- Contagem microscópica directa, realizada raramente com a utilização do microscópio e a contagem é efectuada directamente pelo observador (Blowey & Edmondson, 1999).

Além da CCS, outros métodos podem ser utilizados para a identificação de afecções subclínicas, como a actividade da n-Acetil- β -D-glucosaminidase que é um indicador para mastites subclínicas e está melhor correlacionado com a degradação proteica que a CCS (Urech *et al*, 1999).

Tratamento

Este agente é normalmente responsivo à terapêutica intramamária, tal como à terapia sistémica, embora a última não apresente vantagens médicas e clínicas relevantes, uma vez que os *Streptococcus* se encontram na superfície das membranas (Gruet *et al*, 2001). Porém em situações clínicas em que haja mais que um quarto afectado o tratamento sistémico apresenta bons resultados (Sérieys *et al*, 2004). Estes casos necessitam de ser tratados rápida e efectivamente de modo a melhorar o quadro clínico e evitar a dispersão o agente contagioso. A utilização em conjunto das vias intramamária e o parenteral pode aumentar a eficiência do tratamento. No entanto, o tratamento intramamário apresenta a vantagem de obter valores mais elevados de antibióticos no leite (Gruet *et al*, 2001), mas apresenta menor eficiência na presença de elevadas contagens de células somáticas (Weaver, 1987).

No caso das infecções subclínicas se verificarem em fase de final de lactação, deve-se adiantar o processo de secagem da vaca de modo a eliminar o processo infeccioso (Radostitis, 2001). Ter em atenção as características deste tipo de infecções, uma vez que é necessário verificar a rentabilidade do tratamento durante o período de lactação. A possibilidade de novo contágio, na ausência de programas concretos de controlo, os gastos elevados e perda do leite com antibiótico, são aspectos a ter em conta na aplicação do tratamento (Gruet *et al*, 2001). De notar que este tipo de mastite é das poucas subclínicas que se apresenta economicamente rentável de tratar durante o período de lactação (Radostitis, 2000).

Infecções tratadas em todas as fases de lactação têm uma taxa de sucesso entre os 90 a 100% com a utilização de Eritromicina, Penicilina, Cloxacilina e Cefalosporinas. Agentes como

Gentamicina, Neomicina, Nitrofurazina e Polimixina B apresentam uma actividade não muito bem sucedida contra este agente (Radostitis, 2000). Procaína penicilina G é universalmente utilizada com a dose de 100 000 unidades, doses superiores a estas apresentam a desvantagem de períodos maiores de resíduos no leite (Radostitis, 2000). Para fornecer um aumento do espectro de acção antibacteriana, principalmente contra Gram negativos, agentes como a Novobiocina são adicionados à Penicilina G, aumentando assim a taxa de sucesso na cura (Erksine *et al*, 1996; Keefe, 1997).

Foram referidas resistências a Trimetopim, Tetraciclina e Estreptomicina, este último com elevada resistência num estudo realizado em oito estirpes de *S.agalactiae* recolhidas de úberes infectados em dez regiões francesas (Guérin-Faubleé *et al*, 2002).

Num estudo norte-americano foram testadas 39 estirpes de *S. agalactiae* e conferiu-se que nenhuma era resistente à penicilina, 95% eram susceptíveis à Lincomicina e Eritromicina, 75% eram susceptíveis a Tetraciclina, mas havia resistências de maior valor a Estreptomicina e Espectomicina (Brown, 1990). Noutros artigos, verifica-se que havia susceptibilidade absoluta num universo de 7 (McDonald *et al*, 1976) e 14 colónias (Matthews, 1992), a Penicilina, Eritromicina e a Tetraciclina.

A importância da distribuição do antibiótico é também relevante, sendo que dos agentes referidos, a Penicilina G, Novobiocina, Cefalosporinas e Cloxacilina são de distribuição limitada por via intramamária e parenteral. A Eritromicina apresenta uma boa destruição por ambos os modos de administração, ao contrário da Gentamicina que apresenta uma pobre distribuição (Gruet *et al*, 2001). De referir que todos os dados dos fármacos referidos são originários de estudos *in vitro*, numa tentativa de prever o comportamento do fármaco *in vivo*, podendo ser o comportamento no meio biológico completamente diferente, daí a importância de verificar o comportamento no interior da glândula mamária. Num estudo de revisão (Craven, 1987) referente ao comportamento *in vivo*, verificou-se que 84% das vacas apresentavam cura no tratamento com Penicilina. A Cloxacilina apresentava valores de eliminação da bactéria de 98% a 100% (Keefe, 1997).

Existem várias estratégias para debelar este problema, sendo que devem passar pelo efectivo inteiro e não apenas tratar individualmente o problema, uma vez que provavelmente ocorreram novos surtos, possivelmente com resistências a antibióticos utilizados. Uma das estratégias para a eliminação deste tipo de mastite subclínica é a “terapia relâmpago”, método que consiste na definição de susceptibilidade do agente infeccioso, a eliminação do agente através de antibióticos intramamários em todo o efectivo, seguido de bons procedimentos sanitários de modo a eliminar

o agente (Gruet *et al*, 2001; Radostitis, 2000). Além da referida estratégia, existe o denominado tratamento paralelo, que consiste no tratamento de casos clínicos de quartos afectados com posterior despiste de mastites subclínicas através do TCM e na presença de CCS elevadas, realizar o mesmo tratamento do que o quarto afectado (Blowey & Edmondson, 1999; Gruet *et al*, 2001).

O “tratamento relâmpago” pode não ser sempre eficaz, pois podem ser introduzidas vacas infectadas. Situações como o descuido dos ordenhadores pode causar de novo a introdução do agente dentro do ciclo infeccioso, a terapia de vacas secas pode não ser por vezes bem administrada e o agente continuar presente no efectivo e, por último, numa situação de utilização da terapia relâmpago de modo selectivo, algumas vacas afectadas não tenham sido seleccionadas para serem alvos de tratamento (Blowey & Edmondson, 1999). De frisar o elevado custo económico da aplicação deste tratamento em explorações com um efectivo muito numeroso.

O tratamento da vaca no final da lactação é denominado tratamento da vaca seca (Gruet *et al*, 2001; Robert, 2008). Esta técnica apresenta várias vantagens em comparação com o tratamento com a vaca em lactação, permitindo elevadas doses, uma vez que já não há leite a aproveitar, o antibiótico apresenta maior disponibilidade já que não há a ordenha duas vezes por dia, ficando o antibiótico presente durante largos períodos. Este tratamento tem como objectivo o tratamento curativo, se a vaca estiver perto do final da lactação, situação bastante frequente como se observa na figura 1, eliminando assim a possibilidade de infecção no início do período de secagem (Gruet *et al*, 2001). Os valores para eliminação da infecção por *Streptococcus agalactiae* são na ordem dos 75 a 99% dos casos, com vários agentes antibióticos (Schultze & Mercer, 1976).

Novas estratégias de tratamento têm sido investigadas, tal como imunomodulares, como as citocinas, novas formulações, por exemplo lipossomas e micropartículas, que permitem um aumento da componente activa dos fagócitos e o aumento e longevidade da actividade antimicrobiana (Gruet *et al*, 2001). Componentes provenientes de *S.aureus* e *S.epidermidis*, as bacteriocinas, com actividade inibitória mostraram-se eficazes contra o *S. agalactiae*, demonstrando assim ser uma alternativa não antibiótica no combate às mastites por este agente (Coelho *et al*, 2007).

Uma variedade de tratamentos de suporte, como oxitocina, remoção de leite frequente, fluidoterapia endovenosa ou por via ruminal e anti-inflamatórios esteróides e não esteróides, são utilizados de modo a promover uma cura mais precoce em casos clínicos (Shim *et al*, 2004).

Estão disponíveis vacinas que conferem protecção contra o *S. agalactiae*, sendo concebidas através de extractos bacterianos que contêm antigénios das estirpes mais comuns, ou antigénios

purificados que não podem ser conjugados com transportadores de modo a aumentar a eficácia imunológica. Assim sendo, estas vacinas não são muito utilizadas, devido aos problemas associados com o pequeno espectro de eficácia que oferecem, aos seus custos de produção e ainda devido a certos casos de instabilidade dos seus efeitos. Além destes factores, algumas formas crónicas de mastite estão associadas a formas bacterianas intracelulares que apresentam protecção imune que dificultam a entrada dos factores vacinais (Talbot & Lacasse, 2005)

No caso de mastites crónicas, com grande dificuldade de resolução, o refugo dos animais pode ser a única opção económica e sanitariamente viável.

Nos dois casos em que se verificou a presença identificada de *Streptococcus agalactiae*, ambas apresentavam infecção mista por esse agente mais um agente secundário. No caso referido, a análise nº1 apresentava infecção também do género *Bacillus*, agente ambiental de pouca relevância, enquanto na análise número 2, de outra vaca, apresentava infecção por uma bactéria do género *Corynebacterium*, que é um agente contagioso. De grande relevância o facto de ambas estarem em períodos de lactação, vacas múltiparas, sem secagem no período seco anterior. No Caso I foi detectada resistência do *S. agalactiae* ao antibiótico Pirlimicina, enquanto no Caso 2 a sensibilidade *in vitro* era total a todos os antibióticos testados (Anexo I e II).

Importância Económica

A mastite é a patologia mais dispendiosa para reverter os seus efeitos (Wilson *et al* 1997), sendo que as maiores perdas económicas do sector leiteiro estão relacionadas com as mastites (Blosser, 1979). As mastites são responsáveis por 15% dos refugos nos Estados Unidos (Gruet *et al*, 2001), constatando-se assim a importância desta afecção, com perda de activos económicos e piorando o reservatório genético de um efectivo.

Dentro dos valores perdidos, estima-se que 70 a 80% do dinheiro perdido relacionado com a perda de leite é devido a mastites subclínicas (Ravinderpal, 1990).

No caso das mastites por *Streptococcus agalactiae*, a importância económica é elevada, uma vez que a produção de leite diminui normalmente um quarto em cada vaca afectada, enquanto as perdas no total de uma exploração afectada rondam os 10 a 15% do potencial da produção (Radostitis 2000, Wilson, 1997). Vacas que apresentem CCS acima de normal podem perder de 9% até 43 % da capacidade de produção de quilos de leite por dia (Blosser, 1979). A perda na quantidade é seguida também por uma perda de qualidade, reduzindo assim o tempo de prateleira e a sua utilização em derivados de leite como queijo e outros produtos à base de leite (Keefe, 1997).

Ocorre consequentemente uma perda do potencial de produção de leite de vacas afectadas, perda ainda mais vincada com a necessidade de tratamento veterinário e farmacológico, fazendo também consequentemente a perda pelo leite desperdiçado devido aos resíduos de antibióticos (Blosser, 1979). Por outro lado os custos são também aumentados, com a necessidade de maior trabalho laboral.

De referir que as necessidades nutricionais da vaca são iguais, daí que o valor investido em alimentação também se perca. Concluindo, o somatório do dinheiro investido, com o capital perdido, verifica-se que este tipo de mastite é um problema sério para uma exploração e que apresenta todo o interesse evitar o seu aparecimento.

Casos Clínicos

A solicitação da assistência veterinária foi a diminuição da produção de leite recidivante, por parte de dois elementos do efectivo.

A exploração verificava a presença de 60 animais, com 35 em lactação em regime intensivo com estabulação livre sem acesso a parque exterior. O pavilhão apresentava paredes de cimento com aberturas laterais, cubículos com colchões e serrim e a superfície era de cimento ripado. Relativamente ao manejo animal, o efectivo era dividido em lotes de animais em produção, recria e lote de vacas secas. O efectivo era vacinado de seis em seis meses contra IBR e BVD (HipraBovis®) e desparasitado anualmente com Eprinex pour-on® (Eprinomectina). O sistema de alimentação é realizado através de mistura total (UNIFEED), com silagem de milho, palha e alimento concentrado.

Após a anamnese e o exame clínico dos dois animais, verificou-se que o quadro era muito similar. O primeiro animal era uma fêmea de cerca de 4 anos de idade que se encontrava na segunda lactação, parida há mais de 2 meses. Na anamnese constata-se que a vaca não apresentava nenhuns sinais sistémicos, simplesmente houve uma diminuição da produção de leite. Devido a este quadro, o produtor realizou o teste TCM e verificou que no quarto anterior direito apresentava aumento das células somáticas. O produtor referiu que tinha realizado a utilização de antibióticos por via intramamária (Penicilina G) e a situação resolveu-se temporariamente, contudo voltou a aparecer no prazo de duas semanas. Quando questionado sobre a utilização de antibióticos para o processo de secagem, o produtor referiu que não fora utilizado.

Na realização do exame clínico verificou-se que a temperatura estava dentro dos intervalos normais (38°C), tal como a frequência cardíaca e respiratória, respectivamente 70 bpm e 20 rpm. As mucosas labiais e vaginais encontravam-se rosadas e húmidas e na palpação dos gânglios linfáticos, verificou-se nos supramamários ligeiro aumento do tamanho. Na realização da auscultação ruminal, verificou-se que as contracções ruminais se apresentavam normais. Foi, também, efectuado o exame direccionado para a glândula mamária, que consistiu na inspecção e palpação do úbere e exame do leite. Foi constatada a inexistência de alterações do úbere. Para o exame macroscópico do leite, foi realizada a ejeção de alguns jactos em que não se verificou alteração visível do leite.

No que se refere ao segundo animal tinha 5 anos e encontrava-se há 6 meses na terceira lactação. A anamnese e o quadro clínico eram idênticos ao do animal anterior, exceptuando que o quarto afectado era o anterior esquerdo e que o úbere apresentava uma consistência maior que normal.

Com o quadro definido, concluiu-se em ambos os casos a presença de uma mastite subclínica, devido às ligeiras alterações do úbere e dos gânglios linfáticos responsáveis pela drenagem linfática mamária, aliada à manutenção da normalidade de todos os restantes sistemas orgânicos. A partir desta conclusão, era necessária conseguir a definição do agente etiológico, para a definição do tratamento e de linhas de controlo. Para isso, foi definido que se devia realizar o pedido da análise do leite, com análise do agente etiológico e antibiograma, para o laboratório da SEGALAB, onde a colheita e a análise estariam sob a responsabilidade do laboratório. Durante o intervalo entre a colheita do leite e a análise, recomendou-se o tratamento com Pathozon® (Cefaperazona), de modo a não prejudicar o quadro e evitar uma possível disseminação do agente no restante efectivo.

Como se observa no Anexo I, para o primeiro animal, verificava-se a presença de *Streptococcus agalactiae* e *Bacillus spp.* Relativamente ao antibiograma, verifica-se a resistência apenas à Pirlimicina. Para o segundo animal, observa-se no Anexo II, a presença de *Streptococcus agalactiae* e *Corynebacterium bovis*. Relativamente ao antibiograma, constata-se a sensibilidade a todos os antibióticos testados. No segundo caso observa-se a presença de dois agentes contagiosos, como agentes da mastite. É constatado que infecções anteriores de *C. bovis* aumentam a probabilidade de infecções por agentes contagiosos mais importantes, como *S. aureus* e *S. agalactiae* (Parker *et al*, 2007). Sendo a probabilidade oito vezes e meia a infecção de *S. agalactiae* quando um quarto estiver previamente infectado com *C. bovis* (Pankey *et al*, 1985).

Verificou-se no caso do primeiro animal a resistência apenas à Pirlimicina, enquanto no segundo animal a estirpe de *S. agalactiae* encontrada não apresentava resistências. Seria de depreender que a estirpe seria a mesma dentro da exploração e consequentemente apresentariam uma consonância de sensibilidades aos diferentes antibióticos. Segundo um artigo (Bassegio, 1997), normalmente esta bactéria dentro de uma exploração é sempre da mesma estirpe, uma vez que têm uma origem de entrada única. Sendo assim, a explicação mais razoável para esta situação seria a criação de resistências, pelo uso indevido de antibióticos em tratamentos anteriores, da bactéria presente no primeiro animal, embora seja mais jovem e com a lactação a decorrer há menos tempo.

O antibiótico utilizado, Cefaperazona, foi bem instituído, uma vez que não havia resistências a cefalosporinas. A escolha do antibiótico tem ainda a vantagem de apresentar um reduzido intervalo de segurança para o leite.

De referir que já tinham sido anteriormente utilizados antibióticos a que os agentes apresentavam sensibilidade e a situação não se resolveu. Infere-se assim a partir destes dados, que o problema seria originário da má aplicação do programa de controlo de mastites contagiosas já estabelecido. Logo a resolução do problema passava pelo aperfeiçoamento de certas medidas que não estavam a ser eficientes. As mudanças no plano de controlo visavam como objectivo principal a eliminação do *S. agalactiae*, mensurado através da diminuição das CCS dos animais de todo o efectivo, mas principalmente dos animais afectados. A medição de células somáticas tanque do leite mensalmente já era efectuada, nunca se revelando alterações significativas. Aliado a esta medição, foi aconselhado a utilização do teste TCM em todos os animais suspeitos antes da ordenha (Blowey & Edmondson, 1999).

A higiene do úbere era um ponto que não estava muito bem aplicado, uma vez que os animais apresentavam na sala de ordenha os úberes sujos com fezes. Nesta situação foi aconselhada a maior limpeza da exploração, mas tendo em conta as dificuldades logísticas devido à arquitectura da exploração, constitui-se um ponto de difícil resolução. Adicionalmente a higienização dos tetos era realizada com panos de tecido e sem a protecção de luvas de látex e a água era utilizada para remover certos detritos sem haver enxugamento no final. Foi incentivada substituição dos panos de tecido por papel individual, a adopção de luvas de látex e a redução do uso de água na limpeza do úbere.

O procedimento de desinfecção dos tetos após a ordenha já era utilizado correctamente, com um agente à base de clorhexidina. Na observação do processo de ordenha constatou-se que a colocação das tetinas por vezes não era bem efectuada, podendo criar forças de impacto

prejudiciais para a disseminação de mastites. Verificou-se também que a desinfecção das tetinas não era realizada, foi portanto aconselhado que esse procedimento se efectuasse através da imersão das tetinas num desinfectante, após a ordenha de cada animal.

O estabelecimento da ordem de ordenha era bem efectuada com os animais de menor perigo no início e os de maior perigo no final.

A monitorização da máquina de ordenha era realizada com uma frequência de dois meses, sendo aconselhado que no surgimento de novos problemas a frequência devia ser aumentada para vistorias mensais.

Ao fim de duas semanas, após a aplicação destas medidas de controlo, nenhum animal apresentava sinais clínicos de mastite e não se verificaram diminuições na produção de leite, nem o aumento de células somáticas no tanque do leite. Os dois animais afectados já não apresentavam níveis elevados de CCS, porém ainda não tinham atingido o potencial de produção de leite possível e desejado.

Conclusão

Durante este período de estágio foi-me possibilitado, não só a aquisição de alguma experiência a nível da prática, bem como consolidar conhecimentos adquiridos ao longo de toda a Licenciatura em Medicina Veterinária.

Na componente prática, assisti à actividade clínica de animais de várias espécies de interesse pecuário, o que me permitiu um melhor conhecimento de comportamentos, técnicas de administrações de fármacos, contenções e explorações físicas, no âmbito da veterinária. Consegui desenvolver, também, uma certa “mecanização” na designação de medicamentos, associada aos respectivos princípios activos e principais patologias em que foram administrados, assim como na utilização de instrumentos e diferentes técnicas cirúrgicas, em diversas situações. Talvez o mais importante tenha sido a percepção que o desempenho técnico do “clínico de campo” se encontra condicionado por vários factores:

- A maior parte das vezes em que o clínico é solicitado, os animais já se encontram medicados pelos proprietários ou tratadores, pelo que a sintomatologia está frequentemente mascarada pelos fármacos administrados;
- Detecta-se frequentemente a ocorrência de um elevado número de casos de antibioresistência, por utilização errada de antibióticos, em excesso e em alguns casos desnecessários;

- Os resultados laboratoriais de antibiogramas ainda são demorados, pelo que muitas vezes, se recorre ao tratamento presuntivo dos casos clínicos, o que de certa forma vai contribuir também para o aumento das resistências.
- A maior necessidade de uma maior consciencialização para os factores de risco (principalmente as práticas de higiene e manejo), como forma de prevenção.

Estas condicionantes fazem com que a abordagem, em específico, das mastites de origem contagiosa se sustente a nível primário nos programas de controlo bem implementados e consequente eliminação do agente na cadeia de transmissão de maneira a eliminar novos casos. Por vezes essas situações são impossíveis de realizar e o refugo dos animais demonstra ser a situação mais vantajosa para a sanidade do efectivo e também a nível económico.

Bibliografia

- Andersen HJ, Pedersen LH, Aarestrup FM, Chriél M (2002) "Evaluation of surveillance program of *Streptococcus agalactiae* in Danish Dairy Herds" **Journal of Dairy Science** **86**, 1233- 1239
- Bassegio N, Mansell PD, Browning JW, Browning GF (1997) "Strain differentiation of isolates of streptococci from bovine mastitis by pulsed-field gel electrophoresis" **Molecular and Cellular Probes** **11**, 349- 354
- Blosser TH (1979) "Economic Losses from and the National Research Program on Mastitis in the United States" **Journal of Dairy Science** **62**, 119- 127
- Blowey R, Edmonson P (1999) "Ordenãdoras mecânicas y mastitis" **Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche**, 1ª Ed, 55-88
- Boddie RL, Nickerson SC (1990) "Efficacy of two iodophor postmilking teat germicides against *Streptococcus agalactiae*" **Journal of Dairy Science** **73**, 2790- 2793
- Boutet P, Boulanger D, Gillet L, Venderplassen A, Closset R, Bureau F, Lekeux P (2004) "Delayed neutrophil apoptosis in bovine subclinical mastitis" **Journal of Dairy Science** **87**, 4104- 4114
- Brochet M, Couvé E, Zouine M, Vallaëys T, Rusniok C, Lamy MC, Buchrieser C, Trieu-Cuot P, Kunst F, Poyart C, Glaser P (2006) "Genomic diversity and evolution within species *Streptococcus agalactiae*" **Microbes and Infection** **8**, 1227-1243
- Brown MB, Scasserra AE (1990) "Antimicrobial resistance in streptococcal species isolated from bovine mammary glands". **American Journal of Veterinary Research** **51**, 2015-2020.
- Coelho ML, Nascimento JS, Fagundes PC, Madureira DJ, de Oliveira SS, Brito MA, Bastos MC (2007) "Activity of staphylococcal bacteriocins against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* involved in bovine mastitis" **Research in Microbiology** **158**, 625- 630
- Craven N (1987) "Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation - A review". **British Veterinary Journal** **143**, 410-422
- Dinsmore RP, English PB, Gonzalez RN, Sears PM, Schulte HF (1991) "Evaluation of methods for the diagnosis of *Streptococcus agalactiae* intramammary infection in dairy cattle" **Journal of Dairy Science** **74**, 1521- 1526
- Dodd FH (1983) "Mastitis- Progress on control" **Journal of Dairy Science** **66**, 1773- 1780
- Erskine RJ, Eberhart RJ, Hutchinson LJ (1987) "Herd management and prevalence of mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts" **Journal of American Veterinary Medicine Association** **190**, 1411- 1416

- Fox LK (2009) "Prevalence, incidence and risk factors of heifers mastitis" **Veterinary Microbiology** **134**, 82- 88
- Goldberg JJ, Pankey JW, Drechsler PA, Murdough PA, Howard DB (1991) "An update survey of bulk tank milk quality in Vermont" **Journal of Food Protection** **54**, 549-553.
- Gonzalez RN, Jasper DE, Farver TB, Bushnell RB, Franti CE (1988) " Prevalence of udder infections and mastitis in 50 California dairy herds". **Journal of American Veterinary Medicine Association** **193**, 323-328.
- Gonzalez RN, Jasper DE, Kronlund NC, Farver TB, Cullor JS, Bushnell RB, Dellinger JD (1990) " Clinical mastitis in two California Dairy Herd Participating in contagious mastitis control programs" **Journal of Dairy Science** **73**, 648- 660
- Gruet P, Maincent P, Berthelot X, Kaltsatos V (2001) "Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives" **Advanced Drug Delivery Reviews** **50**, 245- 259
- Guérin-Faubleé V, Tardy F, Bouveron C, Carret G (2002) " Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus* species isolated from clinical mastitis in dairy cows" **International Journal of Antimicrobial Agents** **19**, 219- 226
- Hogan JS, Pankey JW, Murdough P, Howard DB (1986) "Survey of bulk tank milk using blood-esculin agar counts. **Journal of Food Protection** **49**, 990- 993 1986;
- Janzen JJ (1970) "Economic losses resulting from mastitis. A Review" **Journal of Dairy Science** **53**, 1151- 1160
- Jayarao BM, Pillai SR, Sawant AA, Wolfgang DR, Hedge NV (2004) " Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts" **Journal of Dairy Science** **87**, 3561- 3573
- Keefe GP (1997) "Streptococcus *agalactiae*: a review", **Canada Veterinary Journal** **38**, 429-437
- Keefe GP, Dohoo IR, Spangler E (1997) "Herd prevalence and incidence of *Streptococcus agalactiae* in the Dairy Industry of Prince Edward Island" **Journal of Dairy Science** **80**, 464-470
- Marques S, Silva E, Carvalheira J, Thompson G.(2006) "In vitro antimicrobial susceptibility of *Prototheca wickerhamii* and *Prototheca zopfii* isolated from bovine mastitis" **Journal of Dairy Science** **89**, 4202- 4204
- Matthews KP, Oliver SP, Jayarao BM (1992) "Susceptibility of staphylococci and streptococci isolated from bovine milk to antibiotics" **Agri-Practice** **13**: 18-24.

- McDonald JS, McDonald TJ, Stark DR (1976) “Antibiograms of streptococci isolated from bovine intramammary infections”. **American Journal of Veterinary Research** **37**, 1185-1187.
- Meiri-Bendek I, Lipkin E, Friedmann A, Leitner G, Saran A, Friedman S, Kashi Y (2002) “ A PCR-based method for the detection of *Streptococcus agalactiae* in milk” **Journal of Dairy Science** **85**, 1717- 1723
- National Mastitis Control (2001) **Recommended mastitis control program**
- Nickerson SC (2009) “Control on heifer mastitis: Antimicrobial treatment- An overview” **Veterinary Microbiology** **134**, 128- 135
- Norcross NL, Stark DM (1970) “Immunity to mastitis: a review” **Journal of Dairy Science** **53**, 387- 393
- Oliver SP, Mitchell BA (1984) “Intramammary infections in primigravid heifers near parturition” **Journal of Dairy Science** **66**, 1180- 1885
- Pankey JW, Nickerson SC, Boddie RL, Hogan JS (1985) “Effects of *Corynebacterium bovis* infection on susceptibility to major mastitis pathogens” **Journal of Dairy Science** **68**, 2684- 2693
- Parker JI, Compton C, Anniss FM, Weir A, Heuer C, McDougall S (2007) “Subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant precalving” **Journal of Dairy Science** **90**, 207- 218
- Peris C D', Díaz JR, Segura C, Martí A, Fernández N (2003) “Influence of pulsation rate on udder health and teat thickness changes in dairy ewes” **Journal of Dairy Science** **86**, 530- 537
- Pyorala S, Taponen S (2009) “Coagulase-negative staphylococci – Emerging mastitis pathogens” **Veterinary Microbiology** **134**, 3- 8
- Radostitis OM, Gay CC, Blood DC (2000) “Mastitis” *in* **Veterinary Medicine – A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**
- Radostitis OM, Leslie KE, Fetrow J (2001) “Mastitis control in dairy herd” *in* **Herd Health – Food Animal Production Medicine 4th Edition**
- Rasmussen MD, Frimer ES, Galton DM, Peterson LG (1992) “The influence of premilking teat preparation and attachment delay on milk yield and milking performance” **Journal of Dairy Science** **75**, 2131- 2141
- Ravinderpal G, Howard WH Leslie KE, Lissemore K (1990) “Economics of mastitis control” **Journal of Dairy Science** **73**, 3340- 3348

- Robert A, Roussel P, Bareille N, Ribaud D, Sérieys F, Heuchel V, Seegers H (2008) “Risk factors for new intramammary infections during the dry period in untreated dairy cows from herds using selective dry cow therapy” **Animal** **2**, 247- 254
- Schoonderwoerd M, Rawluk S, Ollis G, Schipper C (1993) “Prevalence of *Streptococcus agalactiae* in Alberta dairy herds”. **Canada Veterinary Journal** **47**, 567-572
- Schreiner DA, Ruegg PL (2003) “Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis” **Journal of Dairy Science** **86**, 3460- 3465
- Sérieys F, Raguet Y, Goby L, Schmidt H, Friton G (2004) “ Comparative efficacy of local and systemic antibiotic treatment in lactating cows with clinical mastitis” **Journal of Dairy Science** **88**, 93-99
- Shim EH, Shanks RD, Morin DE (2004) “Milk loss and treatment cost associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows” **Journal of Dairy Science** **87**, 2702- 2708
- Slettbakk T, Jorstad A, Farver TB, Holmes JC. (1995). “Impact of milking characteristics and morphology of udder and teats on clinical mastitis in first- and second-lactation Norwegian cattle” **Preventive Veterinary Medicine** **24**, 235-244.
- Smith KL (1984) “Mastitis control: a discussion” **Journal of Dairy Science** **66**, 1790- 1794
- Smith, BP (2002). “Mastitis” in **Large Animal Internal Medicine**. 3^a Ed, 1124-1150
- Talbot BG, Lacasse P (2005) “Progress in the developmet of mastitis vaccines” **Livestock Production Science** **98**, 101- 113
- Tenhagen BA, Koster G, Wallmann J, Heuwieser W (2006) “Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany” **Journal of Dairy Science** **89**, 2542- 2551
- Urech E, Puhan Z, Schallibaum M (1999) “Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis” **Journal of Dairy Science** **82**, 2402- 2411
- Watts JL, Boddie RL, Pawnkey JW, Nickerson SC (1984) “Evaluation of teat dips with excised teats” **Journal of Dairy Science** **67**, 2062- 2065
- Wellenberg GJ, van der Poel WHM, Van Oirschot JT (2002) “Viral infections and bovine mastitis: a review” **Veterinary Microbiology** **88**, 27- 45
- Whist AC, Osteras O, Solverod L (2006) “Clinical mastitis in Norwegian herds after a combined selective dry-cow therapy and teat-dipping trial” **Journal of Dairy Science** **89**, 4649- 4659
- Wilson DJ, Gonzalez, RN, Das HH (1997) “Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production” **Journal of Dairy Science** **80**, 2592- 2598