Universidade de São Paulo
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA E NOS PERÍODOS PRÉ E PÓS- PARTO NA OCORRÊNCIA DE MASTITE

Claudia Ribeiro do Valle

Dissertação de Mestrado apresentada à Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP em 13 de julho de 2000, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia, na área de concentração de Qualidade e Produtividade Animal.

Orientadora: Prof^a.Dr^a. Elizabeth O. da Costa
Freitas Guimarães

Universidade de São Paulo
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA E NOS PERÍODOS PRÉ E PÓS- PARTO NA OCORRÊNCIA DE MASTITE

Claudia Ribeiro do Valle

Dissertação de Mestrado apresentada à Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP em 13 de julho de 2000, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia, na área de concentração de Qualidade e Produtividade Animal.

Orientadora: Prof^a.Dr^a. Elizabeth O. da Costa
Freitas Guimarães

FICHA CATALOGRÁFICA

V181i Valle, Claudia Ribeiro do
Influência da suplementação de vitamina E nos
períodos pré e pós-parto na ocorrência de mastite / Claudia
Ribeiro do Valle. -- Pirassununga, 2000.
76 p. + anexos.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, 2000.

Orientador: Profª. Drª. Elizabeth O. da Costa F. Guimarães.

1. Mastite 2. Vitamina E 3. Selênio 4. Antioxidante
5. Vacas leiteiras I. Título.

Gostaria , nesse momento em que tanta emoção está me povoando, as palavras fluíssem e através delas eu pudesse compartilhar a intensidade desse sentimento com todas as pessoas queridas e presentes na trajetória desse trabalho .

“Muita coisa importante falta nome”

“...a gente sente mais é o que o corpo a próprio é: coração bem batendo. Do que o que: o real roda e põe diante: _ Essas são as horas da gente. As outras, de todo tempo, são as horas de todos. ”

Guimarães Rosa

Dedico este trabalho

*Aos meus pais, Rosa Maria e Francisco de Salles,
Que me ensinaram a perseverança, me incentivaram e
compreenderam nos momentos de cansaço.*

*Ao Reny, a quem muito amo,
Que compartilhou cada momento deste trabalho, me
ajudando a encontrar o fio da meada deste novelo.*

*À professora Elizabeth, minha orientadora,
Que foi a grande responsável por eu ter trilhado este
caminho.*

*Aos amigos do Napgama: Andréa, Eliana, Felício e Jocelina ,
Que muito me ajudaram, tornando possível a realização
deste trabalho.*

*Aos amigos das fazendas: Heloísa, Romildo, José Américo, Pedro
e Cláudio,
Que me apoiaram e participaram com muito boa vontade
do experimento de campo.*

Agradecimentos

*À professora Elizabeth Oliveira da Costa,
pelo grande incentivo e amizade.*

*Aos professores Zanetti e Carolina
pela colaboração e apoio.*

*Ao Laboratório de Nutrição do Depto. de Zootecnia da FZEA
pelas análises realizadas.*

*Ao Napgama
laboratório que foi o lar do experimento*

*À Darcy, do Depto. de Informática da FMVZ-USP
pela colaboração prestada.*

*Aos amigos do Napgama:
Andrea, Carolina, Eliana, Felício, Jocelina, Marco e Nilson,
pelo apoio e dedicação.*

*Aos amigos das fazendas:
Heloisa, Romildo, José Américo, Pedro e Cláudio,
pela grande colaboração e paciência.*

*Aos proprietários das fazendas, em especial à Sra. Maria Elizabeth, ao
Esmerino e ao Emmanuel,
pela compreensão e desprendimento.*

*À Gláucia, secretária da pós-graduação,
pela disponibilidade e paciência.*

*Aos bibliotecários, especialmente ao Marcelo,
pela grande atenção dispensada .*

*Aos professores e colegas da Pós-graduação, especialmente aos amigos
Edilene e Lauriston,
pela amizade e companhia.*

*À minha prima e amiga Maria,
pela colaboração na redação do trabalho.*

*Ao Reny e à Adriana,
Que na convivência diária me apoiaram e me compreenderam nos
momentos difíceis.*

*Em especial, ao Sr. Roberto Rodrigues Viana,
Que por sua grande sensibilidade, permitiu a continuidade e a conclusão
do experimento, emprestando os animais que foram por ele adquiridos.*

*À Premix,
Que forneceu a vitamina utilizada .*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Antioxidantes	4
2.2 Vitamina E e selênio	5
2.3 Carotenóides	13
2.4 Fontes alimentares de vitamina E	13
2.5 Absorção e excreção de vitamina E	14
2.6 Biopotência de fontes de vitamina E	15
2.7 Determinação de concentrações de selênio e vitamina E	17
2.8 Requerimentos e suplementação	19
2.9 Hipervitaminose	21
2.10 Resposta imune	22
2.11 Mastite clínica	24
2.12 Mastite subclínica	25
2.13 Mastite infecciosa	26
3 OBJETIVOS	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Formação dos grupos experimentais.....	30
4.2 Preparação e administração da vitamina E	30
4.3 Características das propriedades	32
4.4 Métodos	35
4.4.1 Diagnóstico de mastite	35
4.4.2 Análise de selênio	37
4.4.3 Análises estatísticas	37

5 RESULTADOS	38
6 DISCUSSÃO	58
7 CONCLUSÕES	67
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Foto: Medidas e embalagens da vitamina E	31
Figura 2 - Foto: Administração de vitamina E por via oral	31
Figura 3 - Gráfico: Ocorrência de mastite clínica, mastite subclínica e de infecções intramamárias na primeira semana de lactação nos três grupos experimentais	40
Figura 4 - Gráfico: Ocorrência de mastite clínica nos três grupos experimentais	41
Figura 5 - Gráfico: Ocorrência de mastite subclínica nos três grupos experimentais	42
Figura 6 - Gráfico: Ocorrência de infecções nos três grupos experimentais	43
Figura 7 - Gráfico: Ocorrência de infecções por <i>Staphylococcus</i> sp nos três grupos experimentais	43
Figura 8 - Gráfico: Ocorrência de infecções por <i>Streptococcus</i> sp nos três grupos experimentais	44
Figura 9 - Gráfico: Ocorrência de infecções por <i>Corynebacterium</i> sp nos três grupos experimentais	46
Figura 10 - Gráfico: Ocorrência de mastite clínica (MC) nos três grupos experimentais, nas três fazendas.....	47
Figura 11 - Gráfico: Ocorrência de mastite subclínica (MS) nos três grupos experimentais, nas três fazendas	48
Figura 12 - Gráfico: Ocorrência de infecções nos três grupos experimentais, nas três fazendas	49
Figura 13 - Gráfico: Principais microrganismos isolados nas três fazendas	51
Figura 14 - Gráfico: Ocorrência de infecções por <i>Staphylococcus</i> sp nos três grupos experimentais, nas três fazendas	53
Figura 15 - Gráfico: Ocorrência de infecções por <i>Streptococcus</i> sp nos três grupos experimentais, nas três fazendas	54
Figura 16 - Gráfico: Ocorrência de infecções por <i>Corynebacterium</i> sp nos três grupos experimentais, nas três fazendas	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção média diária de leite dos animais, em cada mês, nas três fazendas	32
Tabela 2 - Composição da mistura mineral utilizada nas três fazendas.....	33
Tabela 3 - Composição dos alimentos utilizados nas três fazendas	34
Tabela 4 - Níveis nutricionais das dietas utilizadas nas fazendas.....	34
Tabela 5 - Resultados dos exames de tamis, CMT e microbiológicos realizados em 45 animais dos três grupos experimentais antes da secagem, na lactação que antecedeu o experimento	38
Tabela 6 - Resultados dos exames de tamis, CMT e microbiológicos realizados em 45 animais dos três grupos experimentais após o parto.....	39
Tabela 7 - Resultados dos exames de tamis, CMT e microbiológicos realizados em todos os animais dos três grupos experimentais na primeira semana de lactação	39
Tabela 8 - Resultados dos exames de tamis realizados nos animais dos três grupos experimentais durante a lactação	40
Tabela 9 - Resultados dos exames CMT realizados nos animais dos três grupos experimentais durante a lactação	41
Tabela 10 - Resultados dos exames microbiológicos realizados nos animais dos três grupos experimentais durante a lactação	42
Tabela 11 - Ocorrência de infecções por <i>Staphylococcus</i> sp, <i>Staphylococcus</i> C+ e <i>Staphylococcus</i> C- nos três grupos experimentais	43
Tabela 12 - Ocorrência de infecções por <i>Streptococcus</i> sp, <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i> e <i>Streptococcus uberis</i> nos três grupos experimentais	44
Tabela 13 - Ocorrência de infecções por <i>Corynebacterium</i> sp nos três grupos experimentais	45
Tabela 14 - Resultados dos exames de tamis realizados nos três grupos experimentais, nas três fazendas	47
Tabela 15 - Resultados dos exames CMT realizados nos três grupos experimentais, nas três fazendas	48
Tabela 16 - Resultados dos exames microbiológicos realizados nos três grupos experimentais, nas três fazendas.....	49

Tabela 17 - Resultados dos exames microbiológicos realizados nas três fazendas. Microrganismos isolados	50
Tabela 18 - Ocorrência de infecções por <i>Staphylococcus</i> sp, <i>Staphylococcus</i> C+ e <i>Staphylococcus</i> C- nos três grupos experimentais, nas três fazendas.....	52
Tabela 19 - Ocorrência de infecções por <i>Streptococcus</i> sp nos três grupos experimentais, nas três fazendas	54
Tabela 20 - Ocorrência de infecções por <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Streptococcus</i> <i>dysgalactiae</i> e <i>Streptococcus uberis</i> nos três grupos experimentais, nas três fazendas	55
Tabela 21 - Ocorrência de infecções por <i>Corynebacterium</i> sp nos três grupos experimentais, nas três fazendas	56
Tabela 22 - Análises sorológicas de selênio	57

RESUMO

VALLE, C.R. **Influência da suplementação de vitamina E nos períodos pré e pós-parto na ocorrência de mastite.** Pirassununga, 2000. 76 p. Tese (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

Setenta e sete vacas distribuídas em três propriedades foram divididas em três grupos: G1 (sem suplementação vitamínica), G2 (suplementação com 1000 UI de vitamina E durante 30 dias antes do parto previsto e 30 dias após o parto), G3 (suplementação com 1000 UI de vitamina E de 30 a 15 dias antes do parto previsto e 3000 UI de 15 dias antes do parto a 30 dias após o parto). Todas as propriedades continham os três grupos, sendo que as vacas foram sorteadas para cada grupo de acordo com a ordem de parição e a data prevista para o parto, para que ficassem homogeneamente distribuídas. Na interrupção da lactação que antecedeu o experimento, os quartos mamários foram tratados com antibióticos específicos para o tratamento de vacas secas. Os animais foram alimentados com silagem de milho e concentrado, permanecendo confinados com acesso a piquetes de descanso. Foram efetuados os exames: tamis, CMT e microbiológico do leite de cada quarto mamário, logo após a fase colostrar e uma vez por mês durante a lactação, para o diagnóstico de mastite. Foram colhidas amostras de soro de 20% dos animais e dos alimentos fornecidos para a análise de selênio. Os resultados obtidos mostraram que a ocorrência de mastite clínica foi maior ($p<0,05$) no grupo não suplementado do que nos grupos suplementados. Não foram verificadas diferenças estatísticas entre os três grupos quanto à ocorrência de mastite subclínica. Os principais microrganismos isolados foram *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Corynebacterium* sp. A ocorrência de infecções intramamárias foi maior ($p<0,05$) no grupo G3 do que nos grupos G2 e G1 e maior ($p<0,05$) no grupo G2 do que no grupo G1. Em relação à ocorrência de mastite nas fazendas, foi verificado maior ($p<0,05$) ocorrência da forma clínica no grupo G1 do que nos demais grupos apenas em uma delas e quanto às infecções intramamárias, o grupo G3 apresentou maior ($p<0,05$) ocorrência que o grupo G1 em todas as fazendas. Os resultados das análises sorológicas de selênio mostraram que as concentrações do elemento nos animais estavam adequadas.

Palavras-chaves: mastite, vitamina E, selênio, antioxidante, vacas leiteiras.

ABSTRACT

VALLE, C.R. **The influence of vitamin E supplementation during the pre and post-parturition period on the occurrence of bovine mastitis.** Pirassununga, 2000. 76 p. Tese (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

Seventy seven dairy cows, kept in three herds were randomly allocated in three homogeneous groups: Group 1, control group (without vitamin E supplementation), Group 2 (supplementation of 1,000 UI of vitamin E during 60 days, thirty days prior and 30 days post-parturition) and Group 3 (supplementation of 1,000 UI of vitamin E from the thirtieth day to the fifteenth day before parturition, and, then, a supplementation of 3,000 UI from the fourteenth day before parturition until the thirtieth day after it). All the cows in the groups received a long-action intramammary antibiotic at the drying off. Animals were fed with corn silage and concentrate-mixture, and they were confined in a free stall system with grass paddock. Examinations were performed at the drying off, in the first week of lactation and once a month during lactation. Strip cup, CMT and the microbiological exams were used. Twenty percent of the animals of each group were randomly assigned for selenium analysis. The obtained results showed that clinical mastitis occurrence in Group 1 was significantly higher than in Groups 2 and 3. In relation to subclinical mastitis cases, no significant differences were detected among the groups. Microorganisms that were most frequently isolated were: *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Corynebacterium* sp. Results obtained for mammary gland infections showed a higher level of infections in supplemented groups compared to the control group. The occurrence of clinical mastitis in Group 1 was significantly higher than in Groups 2 and 3 only in one of the dairy herds. The occurrence of the intramammary infections was significantly higher in Group 3 than in Group 1 in all herds. The results obtained from selenium analysis demonstrated to be range of recommended levels.

Key words: vitamin E, selenium, antioxidant, mastitis, dairy cows.

1 INTRODUÇÃO

Os produtores de leite estão encontrando numerosas dificuldades para continuarem sua atividade devido às pressões do mercado advindas, principalmente, do Mercosul. A necessidade de adoção de tecnologia para melhorar a produtividade do rebanho e a qualidade do leite tem sido imprescindível para reequilibrar os custos e garantir o valor comercial do produto.

Para que seja obtida a qualidade na produção deve-se atentar para o controle da mastite, principal doença de rebanhos leiteiros, responsável por perdas tanto em quantidade de leite produzido como por sensíveis alterações na composição do produto. A mastite diminui os teores de lactose, caseína, Ca^{++} , P^{+++} , gorduras e aumenta os teores de imunoglobulinas, lipase, Na^+ , e Cl^- (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1978; COSTA, 1991; MILLER et al., 1993).

A prevenção e o tratamento da mastite são preocupações primárias da indústria leiteira. As práticas como a higiene na ordenha, a redução da exposição aos patógenos ambientais e o tratamento de vacas secas com antibióticos são medidas que têm reduzido a ocorrência da doença (SORDILLO et al., 1997), mas não o suficiente para diminuir o impacto econômico da mesma (POLITIS et al., 1996).

Mesmo em rebanhos bem manejados, poder-se-ia esperar, de acordo com WEISS et al. (1998), 50 casos de mastite clínica por 100 vacas durante o período de um ano. O custo de um caso de mastite clínica gira em torno de 100 a 140 dólares. Este custo inclui gastos com veterinário, medicamentos, queda na produção e descarte de leite. Para um rebanho bem manejado de 100 vacas, o custo anual com mastite clínica gira em torno de 6000 dólares. O custo com mastite subclínica é mais difícil de quantificar, mas acredita-se ser maior do que o da clínica, elevando o custo total anual para 17500 dólares.

Nos levantamentos feitos em rebanhos leiteiros de São Paulo e Minas Gerais, 72 % das vacas apresentaram mastite subclínica em pelo menos um quarto e a taxa de quartos afetados foi de 46 %. A porcentagem de animais com mastite clínica foi de 17,45 %

(COSTA et al., 1995a). Considerando que a mastite subclínica reduz de 3 % a 46 % a produção de leite no quarto afetado, pode-se perceber que estes rebanhos estão perdendo, em média, cerca de 12 % da produção de leite em decorrência da mastite. Os prejuízos por mastite subclínica em propriedades, nestas mesmas regiões, corresponderam em média a US\$ 317,00 por vaca/ano e US\$ 21000,00 por propriedade/ano (COSTA et al., 1999).

O uso de antibióticos para combater as infecções intramamárias é associado à possibilidade de desenvolver resistência e à contaminação dos alimentos com resíduos dos mesmos. Uma indicação da seleção de patógenos devido ao uso de antibióticos é observado com a modificação da prevalência de agentes etiológicos de mastite (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1978). Em países onde os antibióticos são largamente utilizados, *Streptococcus agalactiae* tem sido erradicado, contudo, a prevalência de microrganismos Gram positivos não tem diminuído como esperado, sendo que *Staphylococcus aureus* está substituindo gradualmente os estreptococos como o principal agente isolado (SANDHOLM et al., 1990). Portanto, é necessário reavaliar e descobrir medidas que possam reduzir os índices da doença a níveis aceitáveis, evitando o uso excessivo de medicamentos.

Um dos meios de diminuir o impacto da mastite na indústria leiteira é através do aumento da habilidade natural da vaca de resistir às infecções. A defesa da glândula mamária contra os patógenos causadores de mastite é mediada por diversos fatores anatômicos, celulares e solúveis. A eficiência destes mecanismos de defesa, após a penetração do patógeno pelo canal do teto, é que determinará a resistência da glândula às novas infecções intramamárias. Existem certos períodos na lactação em que as defesas não operam adequadamente, deixando a vaca mais susceptível à mastite. As estratégias auxiliares para melhorar a resposta imune da glândula mamária durante esta fase de imunodepressão podem ter grande impacto na habilidade da vaca em resistir às infecções (SORDILLO et al., 1997; COSTA, 1998).

Uma resposta imune ativa envolve a produção de milhões de novas células, de proteínas e de hormônios que requerem uma grande produção de energia através de caminhos que produzem oxidantes. Além disto, as células fagocitárias como os neutrófilos e os macrófagos produzem radicais livres nas reações respiratórias que são usadas para destruir os microrganismos fagocitados (NOCKELS, 1996). O acúmulo de peróxidos de

hidrogênio nos polimorfonucleares é associado à uma redução na destruição intracelular de patógenos (SMITH et al.,1997).

A deficiência de substâncias protetoras naturais ou a exposição excessiva aos estímulos produtores de oxidantes podem resultar em “stress” oxidativo. O envolvimento do “stress” oxidativo na etiologia de certas doenças em vacas leiteiras é sugerido pela constatação da redução da retenção de placenta e da mastite quando são utilizadas as suplementações com a vitamina E e o selênio. A vitamina E é essencial para o crescimento, a reprodução, a prevenção de várias doenças e a proteção da integridade dos tecidos (MILLER et al., 1993; Mc DOWELL et al., 1996; COSTA et al., 1997; SMITH et al., 1997).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Antioxidantes

Os radicais livres e os radicais oxidantes podem produzir efeitos deletérios aos tecidos animais se houver deficiência de antioxidantes. Estes oxidantes são produzidos durante o metabolismo e podem ser aumentados por exercícios aeróbicos, “stress”, injúria nos tecidos e infecções. O “stress” pode desencadear um episódio infeccioso no animal por diminuir os antioxidantes que são necessários para ativar a resposta imune. Os nutrientes antioxidantes são muito importantes para a proteção dos tecidos animais da destruição oxidativa. A quantidade de antioxidantes necessária à uma resposta imune ampla é maior que a quantidade sugerida pelos requerimentos do NRC (NOCKECLS et al., 1996).

Durante o metabolismo são produzidos diversos oxidantes como: radicais livres, superóxido ($O_2\cdot$), radical peroxil ($ROO\cdot$), radical hidroxil ($OH\cdot$) e outros oxidantes não radicais como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2). O radical livre é um átomo ou molécula que contém um par (ou pares) instável de elétrons que pode remover um elétron de outro composto, tornando-o oxidado e, possivelmente, formando outro radical livre. Os efeitos deletérios dos radicais livres (lipoperoxidação, danos ao DNA e destruição de proteínas) são tidos como causadores de câncer, doenças inflamatórias, arteriosclerose e envelhecimento (NOCCKELS, 1996). Os efeitos indiretos dos oxidantes são devidos ao consumo competitivo de energia, aumentando a utilização de glicose e interferindo em funções metabólicas importantes (MILLER et al., 1993).

Para controlar os oxidantes produzidos nas células, os antioxidantes doadores de elétrons atuam em cadeia, interrompendo as reações oxidativas. Os principais antioxidantes são os lipossolúveis como: vitamina E, β -caroteno e, talvez, vitamina A e hidrossolúveis como: vitamina C, glutathiona e uratos. Um exemplo de antioxidante é o α -tocoferol, presente na parte fosfolipídica das membranas, o qual doa elétrons para os radicais livres melhor do que os ácidos graxos poliinsaturados que, quando oxidados, podem se tornar radicais livres e causar a oxidação em cadeia de ácidos graxos poliinsaturados adjacentes, provocando lesões na membrana. Outra maneira de controlar os oxidantes é através de

enzimas como, por exemplo, a glutathione peroxidase que converte peróxidos de hidrogênio produzidos a água e oxigênio (NOCKELS et al.,1996; SMITH et al.,1997).

Quando as células são incapazes de controlar a produção ou a remoção dos radicais livres e dos peróxidos oxidantes, uma das conseqüências é a destruição das membranas. A destruição das membranas resulta em perdas de enzimas das células que entram na circulação. As enzimas creatina quinase e desidrogenase láctica são freqüentemente usadas para predizer lesões tissulares (NOCKELS, 1996).

Alguns antioxidantes são enzimas que podem reduzir os oxidantes nas células. O zinco e o cobre são necessários para a enzima cobre-zinco superóxido dismutase que converte superóxido a peróxido de hidrogênio no citosol. Este é então reduzido a água pela selênio dependente glutathione peroxidase. Esta enzima pode converter peróxidos lipídicos a álcoois. Uma enzima similar, a manganês superóxido dismutase está presente na mitocôndria. A quantidade e a função destas enzimas podem ser limitadas não somente pela quantidade do mineral mas também pela quantidade de proteína disponível. O zinco e o cobre são ligados às proteínas metalotioneína e ceruloplasmina, respectivamente, as quais têm propriedades antioxidantes (MILLER et al.,1993; NOCKELS et al.,1996).

2.2 Vitamina E e selênio

A vitamina E foi isolada como α -tocoferol. O nome tocoferol é derivado do grego, sendo que “tokos” significa parto ou descendência , “pherein” quer dizer criar ou dar a luz e “ol” designa um álcool. O nome vitamina E foi proposto porque seria a próxima designação alfabética das vitaminas (Mc DOWELL, 1989).

O resultado mais significativo da deficiência de vitamina E e de selênio é a degeneração dos tecidos. A doença do músculo branco, que causa a degeneração do músculo estriado sem o envolvimento nervoso, é o maior sintoma clínico da deficiência destes em ruminantes recém nascidos. Esta doença pode se desenvolver no útero ou extra útero e é caracterizada no jovem ruminante por fraqueza, rigidez e deterioração dos músculos dificultando a postura em pé do animal, seguida por perda de peso, prostração e

morte. Bezerros doentes apresentam estriações brancas, degenerações e necroses dos músculos esqueléticos e cardíacos. A musculatura da língua pode ser afetada impedindo a sucção ao mamar. Casos crônicos ou agudos podem ser vistos em bezerros mais velhos, principalmente em situações de “stress” como transporte, reagrupamentos ou mudanças abruptas na alimentação. Nestes casos poderão ocorrer mortes súbitas causadas pela degeneração do miocárdio. Na forma aguda são encontrados distúrbios motores como andar tenso ou cambaleante, tremores musculares e perspiração. Casos de miopatia são pouco descritos em adultos, entretanto, podem ocorrer em novilhas com crescimento rápido somado ao “stress” de uma gestação adiantada ou parto (Mc DOWELL et al., 1996).

Estudos publicados nos últimos anos têm demonstrado a importância da vitamina E e do selênio na manutenção da saúde do rebanho, sendo que a deficiência destes aumenta a incidência de retenção de placenta, de metrites e altera a síntese de hormônios esteróides e prostaglandinas (Mc DOWELL et al., 1996; MILLER et al., 1993; SMITH et al., 1997).

A função metabólica do selênio está intimamente ligada à vitamina E. Ambos protegem as membranas biológicas da degeneração oxidativa. A vitamina E e a glutathione peroxidase (enzima que contém selênio) fazem parte do sistema antioxidante presente nas células, atuando em dois diferentes níveis. A glutathione peroxidase atua no citosol e a vitamina E é parte integrante das membranas lipídicas (Mc DOWELL et al., 1996).

SMITH et al. (1984) comparando com o grupo controle (não suplementado), administraram uma injeção com 0,1 mg Se/kg de peso vivo, 21 dias antes do parto, e suplementaram com uma dose diária de 0,74 g de vitamina E por vaca, durante o período seco. Estes autores observaram um decréscimo de 37% na incidência de mastite clínica em animais que receberam apenas vitamina E. A injeção de selênio provocou uma pequena redução (12 %) da mastite clínica no grupo suplementado comparado ao controle. Não houve evidência de interação entre os dois suplementos em relação à mastite clínica. Quanto a duração desta, os resultados apresentaram 44% de redução para a suplementação com vitamina E, 46% para a suplementação com selênio e 62% para vitamina E + selênio comparados ao controle, indicando uma possível interação entre ambos.

WEISS et al. (1990) estudando a suplementação de selênio e de vitamina E em vacas no período periparto, concluíram que os animais alimentados com uma dieta com aproximadamente 0,3 ppm de Se e 110 UI / kg de MS (matéria seca) de vitamina E, durante o período seco, e recebendo uma injeção de 50 mg de Se e 300 UI de vitamina E, 21 dias antes da data prevista para o parto, mantiveram uma adequada atividade da glutathione peroxidase e concentrações de Se no plasma e no sangue. Continuando a alimentação com dieta similar em vitamina E e Se no início da lactação, estes padrões adequados foram mantidos. Alimentando com altas quantidades de vitamina E, durante o período seco, a queda nas concentrações plasmáticas de α -tocoferol no período periparto foi reduzida mas não eliminada. Com o progresso da lactação e com o aumento da ingestão de matéria seca, a concentração plasmática de α -tocoferol não foi diferente entre animais suplementados e não suplementados. A suplementação de curta duração com vitamina E aumentou a concentração plasmática de α -tocoferol em níveis acima da concentração de animais suplementados por longos períodos, sugerindo que, após um período de suplementação insuficiente, a absorção da vitamina pode ser superior.

HOGAN et al. (1990) estudaram os efeitos da suplementação de vitamina E e de selênio para vacas leiteiras cujos neutrófilos foram desafiados *in vitro*. Estes autores observaram que a vitamina E aumentou a lise intracelular de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* por ação dos neutrófilos. O selênio aumentou somente a lise de *Staphylococcus aureus*. Não foram detectadas interações significativas entre os suplementos. A habilidade fagocitária dos neutrófilos tanto para *Staphylococcus aureus* quanto para *Escherichia coli* foi independente da suplementação.

Alguns estudos mais recentes têm se concentrado na importância da vitamina E durante as duas ou três semanas que precedem ou sucedem o parto, uma vez que este período é crítico pela supressão da resposta imune de certas células, aumentando consequentemente a susceptibilidade à mastite (HOGAN et al., 1993a; WEISS et al., 1998).

A vitamina E parece ser especialmente importante para a saúde da glândula mamária durante o período periparto. As concentrações plasmáticas de α -tocoferol começam a cair do 7º ao 10º dia antes do parto e permanecem baixas durante 3 a 5 dias

depois do parto sendo que, a partir deste período começam a aumentar. Quando as concentrações plasmáticas de α -tocoferol são mantidas durante o período periparto, por injeções de α -tocoferol, a lise intracelular de patógenos pelos neutrófilos sangüíneos é ampliada (HOGAN et al.,1990).

A recomendação do NACIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC), 1989 para a quantidade total de vitamina E e não somente a suplementada é de 15 UI/kg de matéria seca ingerida por dia. Baseando-se nas médias diárias de ingestão de matéria seca das vacas, a quantidade de vitamina E ingerida é de 150 UI e 300 UI/dia para vacas secas e em lactação respectivamente. Entretanto, a incidência de mastite clínica é reduzida quando as vacas são suplementadas com quantidades que excedem as recomendações do NRC, para dietas contendo 0,1 ou 0,3 ppm de selênio. As ações do selênio e da vitamina E são sinérgicas e as melhores respostas são obtidas quando ambos são usados (WEISS et al., 1997).

BATRA et al. (1992) avaliaram a incidência de mastite em 224 vacas submetidas ou não à suplementação de vitamina E durante o período seco e os três primeiros meses de lactação. O grupo suplementado recebeu 1000 UI no pré-parto e 500 UI no período em lactação. As concentrações sangüíneas de vitamina E foram maiores para o grupo suplementado. Não houve diferença significativa entre os grupos em: porcentagem de quartos CMT positivos, número de casos de mastite clínica e porcentagem de vacas infectadas com mastite clínica. Quanto aos patógenos, *Staphylococcus aureus* foi isolado em 31,6 % e 39,1 % das amostras dos grupos controle e suplementado respectivamente. Este foi o microrganismo isolado com maior frequência seguido por coliformes, isolados em 26,3 % no grupo controle e 18,8 % no suplementado. Outros *Streptococcus*, que não *Streptococcus agalactiae* foram isolados somente nos animais suplementados em 4,4 % das amostras. Dos quartos CMT positivos, não foram isolados os microrganismos em 38,1 % do controle e 37,7 % do grupo suplementado. Amostras compostas de leite dos quartos foram coletadas nos 56º, 112º, 168º, 224º e 280º dias de lactação para contagem de células somáticas sendo que, as vacas do grupo suplementado apresentaram menor contagem no 112º dia comparadas ao grupo controle.

Investigando a atividade da glutathione peroxidase, as concentrações de vitamina E, de vitamina A e de β -caroteno no soro, a contagem de células somáticas, as infecções bacterianas no úbere e a incidência de mastite clínica, JUKOLA et al. (1996) concluíram que, com o aumento do selênio no soro, a incidência de todas as infecções diminuíram (-17,7 %) incluindo infecções por *Staphylococcus aureus* (-31,7 %) e por *Corynebacterium* sp (-70,6 %). Não houve associações entre as diferentes infecções e a contagem de células somáticas com as concentrações séricas de vitamina E, de vitamina A ou de β -caroteno. A baixa concentração de selênio não aumentou a incidência de mastite clínica. As concentrações de selênio no sangue de 200 μ g/L foram consideradas suficientes para otimizar a saúde da glândula mamária.

NDIWENI & FINCH (1996) avaliaram a ação *in vitro* da vitamina E em polimorfonucleares neutrófilos bovinos e observaram que as altas concentrações desta causaram a agregação das células, mas não afetaram a viabilidade das mesmas. A migração casualizada de polimorfonucleares (PMN) expostos a baixas concentrações da vitamina foi aumentada e esta apresentou efeito estimulatório maior do que o selenito, entretanto, doses excessivas apresentaram pouco efeito. A quimiotaxia foi aumentada após a suplementação com baixas concentrações de vitamina E. A vitamina E aumentou significativamente a fagocitose de *S. aureus* opsonizados por PMN de bovinos. Em contraste, HOGAN et al. (1990) relataram que a suplementação *in vivo* de vitamina E não exerceu efeito na capacidade fagocitária *in vitro* dos mesmos. No estudo de NDIWENI & FINCH (1996) foi observado que a suplementação com selenito apresentou um efeito levemente inibitório. No mesmo trabalho, verificou-se que, quando *S. aureus* foi incubado por 2 horas com estes antioxidantes, na ausência de PMN, não houve influência na viabilidade deste microrganismo, demonstrando, portanto, não haver ação antibacteriana direta. Foi também observado pelos mesmos autores que os PMN expostos à vitamina E e ao selênio produziram quantidades de superóxido levemente superiores às das PMN não tratadas, portanto, provavelmente apresentaram maior capacidade de lise de microrganismos fagocitados. Por outro lado, as concentrações muito altas apresentaram efeito inibitório na produção de superóxidos. Neste estudo foram verificados também os

efeitos da suplementação combinada dos dois elementos e não foi evidenciado qualquer efeito sinérgico.

Segundo POLITIS et al. (1996), a suplementação de 3000 UI de vitamina E, durante quatro semanas antes do parto e oito semanas após o parto, aumentou a resposta quimiotática dos neutrófilos sangüíneos. Não houve diferença na produção de superóxido ou fatores quimiotáticos por macrófagos da glândula mamária. A suplementação de vitamina E evitou a redução das concentrações sangüíneas da mesma e a supressão periparto da quimiotaxia dos neutrófilos sangüíneos, como observado no grupo não suplementado.

Segundo WEISS et al. (1997), vacas que receberam uma dieta com 1000 UI/dia de vitamina E durante o período seco e 500 UI/dia durante os primeiros 30 dias de lactação, apresentaram uma diminuição de 30% da mastite clínica nos primeiros 7 dias de lactação frente às vacas que receberam 100 UI/dia nestes mesmos períodos. A redução da mastite clínica foi de 88% no mesmo período em vacas que receberam 1000 UI/dia durante o período seco até 15 dias antes do parto, que passaram a receber 4000 UI/dia nas duas semanas que antecederam o parto e subsequentemente, 2000 UI/dia nos 30 dias após o parto. A prevalência de mastite clínica causada por *Staphylococcus* sp foi de 6,8% (controle), 0 e 1,3% para doses crescentes da vitamina. A porcentagem de quartos com novas infecções no parto foi 11,8% menor para as vacas que receberam altas doses de vitamina E. Segundo estes mesmos autores, as concentrações plasmáticas mínimas de 3µg/ml α -tocoferol são necessárias no periparto quando o selênio é marginal e, para tanto, precisa-se suplementar com vitamina E acima de 1000 UI/dia quando volumosos conservados são a base da dieta.

Com relação à incidência de mastite clínica durante os 30 dias pós-parto, ERSKINE et al. (1997) não observaram efeito quando uma única injeção de 3000 UI de vitamina E foi administrada por via sistêmica, aproximadamente duas semanas antes do parto.

Suplementando diariamente por via oral as vacas leiteiras no pré-parto e durante toda a lactação, ZANETTI et al. (1998) observaram que a incidência de mastite subclínica diagnosticada através do exame CMT foi de 56,25% para o grupo não suplementado,

37,5% para o grupo suplementado com 5mg de selênio, 56,25% para o grupo suplementado com 500 UI de vitamina E e 62,5% para o grupo que recebeu 5mg de selênio + 500 UI de vitamina E. Neste estudo, detectou-se uma redução significativa na incidência de mastite subclínica apenas para os animais que receberam 5mg de selênio, não sendo verificadas diferenças com a suplementação de vitamina E, provavelmente pelo fato de que os animais, por terem tido acesso a forragens verdes, não apresentavam deficiência deste nutriente.

HOGAN et al. (1993b) testou o efeito da vitamina E como adjuvante em vacinas contra *Escherichia coli*. A vitamina E somente aumentou a concentração de IgM no soro mas não exerceu efeito no título de IgM no leite. A mistura de vitamina E + adjuvante incompleto de Freud resultou em aumentos nos títulos de IgM no leite e no soro comparados com os títulos do adjuvante de Freud utilizado sozinho. A mistura da vitamina E + adjuvante de Freud propiciou uma maior persistência nos títulos de IgM e apresentou um efeito sinérgico ao reduzir a severidade dos sinais clínicos sistêmicos da doença.

Comparando as concentrações de α -tocoferol no leite, no plasma e nos neutrófilos do leite e do plasma de vacas com mastite clínica aguda com vacas sem mastite, BARRET et al. (1997) observaram que, a inflamação intramamária aguda causada por infusão de lipopolissacarídeo ou *E. coli* resultou em aumento da concentração de α -tocoferol no leite dos quartos desafiados mas não afetou a concentração plasmática. As concentrações de α -tocoferol nos neutrófilos do leite e do sangue não diferiram entre os tratamentos. Aproximadamente 25% e < 10% do α -tocoferol do leite de glândulas com mastite clínica e glândulas sadias, respectivamente, foram associados com neutrófilos. Em estudo similar, HOGAN et al. (1996) observaram que as concentrações de α -tocoferol no leite foram 60% maiores 24 e 48 horas após o desafio com *E. coli* e não detectaram alterações nas concentrações plasmáticas. As concentrações de α -tocoferol no leite foram correlacionadas positivamente com as contagens de células somáticas em todas as amostragens. Durante a fase aguda da mastite, a concentração de gordura caiu, sendo que esta é a fonte primária de α -tocoferol, enquanto a concentração de α -tocoferol aumentou, indicando que este estava associado aos neutrófilos.

O quadro apresentado a seguir contém o resumo das principais publicações envolvendo vitamina E e selênio da revisão de literatura.

Resumos de estudos da revisão de literatura envolvendo vitamina E e selênio.

PUBLICAÇÃO	TRATAMENTOS	RESULTADOS	AGENTES	
1984 SMITH, et al. Ohio	Vit. E (n=20) AP- 0.74 g Se (n=19) 0,1 mg/kg pv IM 21 dias antes do parto Vit. E + Se (n=21) AP-0.74 g vit. E + 0,1 mg / kg pv IM 21 dias antes do parto Controle (n=20) não suplementado	Vit. E -37 % MC -44 % duração MC Se -12 % MC -46 % duração MC Vit. E + Se -37 % MC -62 % duração MC	70 % patógenos ambientais isolados	
1990 HOGAN, et al. Ohio	(n=21) Ausência de suplementação - período seco e 21 dias de lactação. Suplementação - de 21 a 51 dias de lactação 1- Vit. E (600 UI / dia) 2- Se (0,3 ppm na dieta + injeção no dia 21 PP de 50mg de selenito de sódio suspenso em 680 UI de acetato de d- α -tocoferol) 3- Vit. E + Se (1 + 2) 4- não suplementado	Vit. E aumentou a destruição intracelular de <i>S. aureus</i> e <i>E.coli</i> pelos neutrófilos sanguíneos. Se aumentou a destruição intracelular de <i>S. aureus</i> e não alterou a resposta em relação a <i>E.coli</i> . Não houve interações entre vit. E e Se. A habilidade fagocitária dos neutrófilos foi independente da suplementação. Valores sanguíneos de Se, glutatona peroxidase e vit. E não diferiram entre os grupos nos dias de secagem, parto e 21 da lactação. No dia 51 da lactação as concentrações sanguíneas e plasmáticas de Se e atividade da glutatona peroxidase > com Se e concentrações de α -tocoferol >com vit. E.		
1990 WEISS, et al. Ohio	1- (n=21) Vit. E AP- 70UI / kg MS (60 dias) PP- 40 UI / kg MS (53 dias) Se AP- 0,2 ppm / kg MS (60 dias) PP- 0,3 ppm / kg MS (53 dias) 2- (n=6) Vit. E PP- 40 UI / kg MS (de 21 a 53 dias) Se PP- 0,3 ppm/kg MS (de 21 a 53 dias) 3- (n=6) Vit. E PP- 40 UI / kg MS (de 21 a 53 dias) 4- (n=6) Se PP- 0,3 ppm / kg MS (de 21 a 53 dias) (n=22) não suplementado	Concentrações plasmáticas de Se foram mantidas no grupo suplementado (0,1 μ / ml) e decresceram nos grupos não suplementados (0,05 μ / ml) durante o período seco. Durante a lactação, concentrações plasmáticas de Se de vacas suplementadas de 21 a 53 dias PP aumentaram rapidamente não diferindo do grupo 1. A atividade da glutatona peroxidase no sangue foi menor para os grupos não suplementados, sendo que a curta suplementação melhorou os níveis, mas não atingiu os níveis do grupo 1. As concentrações de α -tocoferol no plasma foram menores para os animais não suplementados exceto no dia 53 PP onde não foram detectadas diferenças.		
1992 BATRA, et al. Ottawa	Vit. E (n=112) AP-1000 UI / dia PP- 500 UI / dia (0-90 dias) Controle (n=112)não suplementado	Vit. E< CCS somente no 112º dia da lactação % MC, CMT e % vacas infectadas = ao controle	Controle <i>S.aureus</i> 31,6% Colif. 26,3% <i>Strep.</i> sp 0 %	Vit. E <i>S.aureus</i> 39,1% Colif. 18,8% <i>Strep.</i> sp 4,4%
1996 JUKOLA, et al. Helsinki	(n=511) Investigação da atividade da glutatona peroxidase, Se, vit. E, vit. A e β -caroteno na saúde da glândula mamária.	Se - > concentração sanguínea < infecção (-17,7 % todos patógenos; -31,7 % <i>S.aureus</i> ; -70,6 % <i>Corynebacterium</i> sp) Se - < concentração sanguínea não aumentou a incidência de MC. Concentrações séricas de vit. E, vit. A ou β -caroteno - não foram associadas com infecções e CCS.		
1996 NDIWENI & FINCH Newbury	PMN extraídos do sangue de primíparas foram expostos, <i>in vitro</i> , a várias concentrações de <i>dl</i> - α -tocoferol e selenito de sódio.	Vit. E - > dose resultou em > agregação de PMN, dose não alterou a viabilidade < doses melhoraram a migração casualizada de PMN e > doses apresentaram pouco efeito. Fagocitose de <i>S. aureus</i> - aumentou com doses até 5 μ g/ml. Superóxido produção - < doses estimularam e > doses inibiram. Se - > dose resultou em < viabilidade e > agregação. < doses melhoraram a migração casualizada e > doses foram inibitórias. Fagocitose de <i>S. aureus</i> - apresentou pequeno efeito inibitório. Superóxido produção - pequeno aumento com a suplementação. Não foram observados efeitos sinérgicos entre vit. E e Se.		
1996 POLITIS, et al. Burlington	Vit. E AP (4 semanas) e PP (8 semanas) - 3000 UI / dia + 5000 UI IM (dose única) 7 dias AP Controle não suplementado	Vit. E evitou a supressão da resposta quimiotóxica dos neutrófilos; não afetou a produção de fatores quimiotáticos pelos macrófagos e a produção de superóxidos.		
1997 ERSKINE, et al. Michigan	Vit. E (n=204) 3000 mg IM 8 a 14 dias AP Controle (n=216) não tratado	% MC = ao controle		
1997 WEISS, et al. Ohio	1-Vit. E (n=22) AP e PP-100 UI / dia 2-Vit. E (n=22) AP-1000 UI / dia e PP- 500 UI / dia 3-Vit. E (n=22) AP-1000 UI por 46 dias e 4000 UI por 15 dias e PP 2000 UI / dia durante a lactação (n=66) todas as dietas continham 0,1 ppm de Se Período de suplementação PP = 30 dias	Primíparas 1-infecção 56,2 % MC 37,4% 2-infecção 57,2 % MC 14,2 % 3-infecção 20,9 % MC 0 %	múltiparas 1-infecção 17,9% MC 17,9% 2-infecção 14,9 % MC 17,9 % 3-infecção 10 % MC 3,8 %	primíparas <i>Stap.</i> 1- 46,9 % 2- 25 % 3- 16,7 % <i>Strep.</i> 1- 3,1 % 2- 14,3 % 3- 4,2% Colif. 1- 6,2 % 2- 17,9 % 3- 0 %
1998 ZANETTI, et al. Pirassununga, S.P.	Total (n=48) 30 dias AP até o final da lactação 1- Controle 2- Se - 5 mg via oral 3- Vit. E - 500 UI via oral 4- Se - 5 mq + vit. E - 500 UI via oral	1- CMT - 56,25 % 2- CMT - 37,5 % 3- CMT - 56,25 % 4- CMT - 62,5 %	Se soro - 0,029 ppm Se soro - 0,057 ppm Se soro - 0,028 ppm Se soro - 0,068 ppm	

PP= pós-parto; AP= antes do parto; MC= mastite clínica, CMT= California Mastitis test; CCS= contagem de células somáticas; vit. E= vitamina E; Se= selênio; *Stap.*= *Staphylococcus* sp; *Strep.*= *Streptococcus* sp, Colif.= coliformes, PMN = polimorfonucleares neutrófilos, pv= peso vivo.

2.3 Carotenóides

Outros carotenóides (que não tem atividade pró-vitamina A), em adição ao β -caroteno, atuam como antioxidantes. CHEW (1994) fez uma revisão sobre a atuação de β -caroteno na resposta imune de bovinos. Em um dos estudos, as vacas holandesas foram suplementadas diariamente com: tratamento 1 (53000 UI de vitamina A); tratamento 2 (173000 UI de vitamina A); tratamento 3 (53000 UI de vitamina A + 300 mg de β -caroteno). A suplementação foi durante 3 semanas antes do parto e 3 semanas após o parto. A incidência de novas infecções intramamárias foi de 49%, 50% e 27% para os tratamentos 1, 2 e 3 respectivamente. Em outro estudo, as vacas foram suplementadas por 4 semanas pré-parto e 8 semanas pós-parto. O leite de vacas suplementadas com β -caroteno apresentou um conteúdo de células somáticas 38% menor que o conteúdo do leite de animais suplementados com apenas vitamina A. Outros estudos revelam que o β -caroteno aumenta a blastogênese linfocitária, estimula a fagocitose e a habilidade para destruir patógenos por neutrófilos durante o período seco e pré-parto.

2.4 Fontes alimentares de vitamina E

Oito formas de vitamina E são encontradas na natureza: quatro tocoferóis (α , β , γ e δ) e quatro tocotrienóis (α , β , γ e δ). As diferenças entre α , β , γ e δ são devidas à localização dos grupos metil no anel. A diferença entre tocoferol e tocotrienol é devida à insaturação no final de um lado da cadeia (Mc DOWELL, 1989).

A vitamina E é abundante na maioria dos grãos de cereais, particularmente no germe e nos subprodutos contendo germe. Existe uma larga variação no conteúdo de vitamina de um alimento em particular, com muitos alimentos variando o valor de seu conteúdo de três a dez vezes. Um exemplo é o leite de vaca que apresenta cinco variações estacionais em seu conteúdo de α -tocopherol. As forragens verdes, incluindo os fenos de boa qualidade, são excelentes fontes, sendo a alfafa especialmente rica. A concentração de tocoferóis por unidade de matéria seca em forragens frescas está entre cinco a dez vezes maior do que na maioria dos cereais e seus subprodutos (Mc DOWELL et al., 1996).

O conteúdo de vitamina E na forragem é afetado pelo estágio de maturação no momento da colheita e pelo tempo do corte até a desidratação. As perdas na estocagem podem atingir 50% em um mês. Têm sido observadas perdas de 54-73% na alfafa estocada a 33°C durante 12 semanas e de 5-33% na desidratação comercial da mesma. As dietas de rebanhos confinados são sempre dependentes de forragens ensiladas como fonte de volumoso, sendo que estas contêm somente de um quinto a um sexto da quantidade de vitamina E presente nas forragens frescas cortadas no estado vegetativo (Mc DOWELL et al., 1996). O aumento da participação de volumosos estocados na dieta dos animais aumenta a probabilidade de ocorrer deficiência de vitamina E (HOGAN et al. 1993a; Mc DOWELL et al., 1996; SMITH et al., 1997).

Como a estabilidade de todos os tocoferóis que ocorrem na natureza é baixa, há substanciais perdas da atividade da vitamina E em alimentos processados e estocados. As fontes de vitamina E nos alimentos são deterioradas sob condições que promovem a oxidação dos mesmos (calor, oxigênio, umidade, gorduras oxidadas e minerais). Para concentrados, a oxidação aumenta após a moagem, a mistura com minerais, a adição de gorduras e a peletização. Quando os alimentos são peletizados, a destruição de vitaminas A e E pode ocorrer caso a dieta não contenha antioxidantes suficientes para prevenir suas aceleradas oxidações sob condições de umidade e de altas temperaturas (Mc DOWELL et al., 1996).

2.5 Absorção e excreção da vitamina E

A absorção da vitamina E está ligada à digestão de gorduras e é facilitada pela bile e pela lipase pancreática. Sua absorção depende da solubilização micelar, assim, falhas na função pancreática ou na produção biliar resultam em má absorção (NACIONAL RESEARCH COUNCIL, 1987). A maior parte da vitamina E é absorvida na forma de álcool. Os esterres são hidrolisados nas paredes intestinais e o álcool livre passa destas para a corrente linfática e daí para a circulação geral, permitindo assim sua atuação como antioxidante (Mc DOWELL, 1989).

Estudos indicam que a vitamina E é bem menos absorvida ou retida no organismo quando comparada à vitamina A. A vitamina E recuperada nas fezes, segundo estudo de dosagens, variou entre 65% a 80% em humanos, ratos e galinhas e foi de 25% para frangos. Não está determinada a quantidade da vitamina fecal que é parte inabsorvida e a que é excreção biliar. A bile tem concentração de tocoferol similar à do sangue (Mc DOWELL, 1989).

A vitamina E é aderida principalmente às lipoproteínas. Os tocoferóis passam através das membranas placentárias em quantidades insuficientes, mas estão concentrados no colostro (Mc DOWELL et al., 1996).

A vitamina E é estocada em todos os tecidos corporais, principalmente no fígado, porém, este contém somente uma fração da reserva corporal total se comparado à reserva hepática da vitamina A que chega a 95%. Pequenas quantidades de vitamina E podem persistir no corpo por longos períodos, sendo que as reservas são exauridas rapidamente por ácidos graxos poliinsaturados nos tecidos. A taxa de excreção é proporcional à ingestão destes. A maior rota de excreção da vitamina absorvida é a bile, onde aparece na forma livre (Mc DOWELL, 1989).

2.6 Biopotência de fontes de suplementação de vitamina E

Segundo o NRC (1989), 1 UI de vitamina E é definida como 1 mg de acetato de *dl*- α -tocoferol. Dentre as oito classes de compostos de tocoferol, o α -tocoferol é o mais ativo para animais, mas nem sempre é a forma mais abundante nos alimentos.

O α -tocoferol é um excelente antioxidante que protege o caroteno e outros materiais oxidáveis nos alimentos e no corpo. Entretanto, no processo de ação como antioxidante ele é destruído. Como a esterificação promove a sua estabilidade, os produtos comerciais contêm usualmente as formas *d*- α -tocoferol ou *dl*- α -tocoferol.

O éster acetato é muito estável à oxidação *in vitro* e não tem atividade como antioxidante. Entretanto, como é hidrolisado no trato gastrointestinal a não-esterificado ou tocoferol livre, se torna um potente antioxidante *in vivo* (Mc DOWELL et al., 1996).

OCHOA et al. (1992) compararam seis diferentes fontes de vitamina E que diferiam quanto ao adjuvante usado, a emulsificação, o produto seco ou líquido e a forma micelizada. Todos os tecidos testados apresentaram concentrações relativamente similares de vitamina E.

As formas químicas natural (*d*) e sintética (*dl*) não são usadas igualmente e por isso têm diferentes biopotências. Tecnicamente, a forma *d* não pode ser considerada como natural pois, apesar de ser derivada de fontes naturais, sofre processamento químico (metilação e hidrogenação). O *d* livre e *dl*- α -tocoferol como álcoois e seus respectivos ésteres tem alta biopotência (Mc DOWELL et al., 1996).

As concentrações de vitamina E no soro e em certos tecidos são influenciadas pelo método de suplementação como a dosagem, a formulação química e os adjuvantes (HIDIROGLOU & SINGH, 1991; NJERU et al., 1992, 1994). Um estudo com bovinos indicou que as formas *d*- α -tocoferol e acetato de *d*- α -tocoferol resultaram em maiores concentrações séricas e teciduais de α -tocoferol do que as formas *dl* quando administradas em quantidades iguais de UI (HIDIROGLOU et al., 1988). Outros estudos encontraram resultados contrários como o de HIDIROGLOU et al. (1992) que, analisando amostras de soro de ovinos, encontrou similar biopotência para as formas *d* e *dl* de α -tocoferol em relação à quantidade de UI. Para ovinos, HIDIROGLOU & SINGH (1991) concluíram que dosagens três vezes maiores em UI da forma natural succinato de *d*- α -tocoferil, foram necessárias para promover o mesmo nível plasmático obtido com acetato de *dl*- α -tocoferil.

Embora menos estável, a vitamina E em forma de álcool resultou em maiores concentrações de α -tocoferol no soro e nos tecidos quando comparada com a forma éster, como, por exemplo, o acetato (HIDIROGLOU et al., 1988; OCHOA et al., 1992). Do ponto de vista prático, sugere-se que jovens ruminantes utilizem as formas ésteres da vitamina menos eficientemente do que as formas álcoois, nas primeiras semanas de vida (Mc DOWELL et al., 1996).

2.7 Determinação de concentrações de selênio e vitamina E

A confirmação de baixa concentração de selênio e de vitamina E nos animais é obtida quando as doenças específicas de deficiência são associadas à falta destes nutrientes. Do mesmo modo, lesões aparentes e exames histopatológicos evidenciam deficiências de selênio e ou de vitamina E.

Lesões musculares como resultado de deficiência de vitamina E e ou de selênio causam perdas de conteúdo intercelular para o sangue. Assim, níveis elevados de enzimas específicas no sangue servem como diagnóstico auxiliar na detecção de degeneração tecidual. As concentrações séricas de transaminase oxaloacético-glutâmica, de aminotransferase aspartato, de desidrogenase láctica, de fosfoquinase creatina e de desidrogenase málica indicam lesões musculares. Os testes enzimáticos são muito sensíveis e as elevações de enzimas ativas no soro são detectadas antes de aparecerem alterações patológicas ou sinais clínicos (Mc DOWELL et al., 1996).

A concentração tecidual baixa da enzima selênio dependente, glutathione peroxidase, é relativamente, um bom indicador deste elemento. A glutathione peroxidase no plasma e no fígado diminui ou aumenta rapidamente nos estados de depleção e repleção de selênio, sendo assim, as concentrações desta enzima servem como um indicador sensível de selênio na dieta. As dosagens de glutathione peroxidase têm sido sugeridas para a avaliação de selênio em bovinos, porém, como apresenta-se em pequenas quantidades e com baixa estabilidade, o uso desta técnica é limitado (VAN SAUN, 1990).

O estado nutricional com respeito à vitamina E é comumente estimado na concentração plasmática. Existe alta correlação entre os níveis plasmáticos e os hepáticos de α -tocoferol e também entre as quantidades deste na dieta e as concentrações plasmáticas. As concentrações no plasma de 0,5-1 $\mu\text{g/ml}$ são consideradas baixas para a maioria das espécies, sendo que menos de 0,5 $\mu\text{g/ml}$ é considerado deficiência. O uso de concentrações plasmáticas como indicador do estado de vitamina E de um animal deve ser interpretado criticamente segundo a especificidade de cada caso. A análise deste parâmetro é difundida pela facilidade de obtenção de amostras e devido ao fato de que a vitamina E não é estocada em quantidades apreciáveis no organismo. Entretanto, a concentração de α -

tocoferol no plasma reflete principalmente a ingestão recente deste nutriente, tendo assim, limitado valor no diagnóstico de deficiência (Mc DOWELL et al., 1996). Níveis graduados de vitamina E foram administrados a ovinos (NJERU et al., 1994) e bovinos (NJERU et al., 1995) com o intuito de analisar os métodos de avaliação de vitamina E no animal. As concentrações séricas de α -tocoferol mostraram ser um bom indicativo do “status” de vitamina E no organismo.

Existe um grande debate em torno de qual deva ser o teste ideal para prever o “status” de selênio ou a presença potencial de deficiência. Se o animal é mantido sob constante ingestão do elemento por período de meses, todos os testes apresentam acurácia igual. Entretanto, se o animal recebe diferentes níveis de suplementação, a interpretação pode diferir dependendo do método utilizado.

O selênio plasmático ou sérico é considerado um bom indicador do elemento no organismo, sendo considerado crítico para bovinos quando as concentrações são menores do que 0,03-0,04 $\mu\text{g/ml}$ (Mc DOWELL et al., 1996).

MILLER et al. (1995) examinaram amostras sorológicas de vacas distribuídas em 50 rebanhos durante o período de um ano e encontraram valores médios de 2,55 $\mu\text{g/ml}$ para vitamina E e 78,12 ng/ml para selênio. As concentrações de selênio e de vitamina E foram significativamente maiores no verão comparadas às concentrações no outono e no inverno.

Com dietas variando a concentração de selênio entre 0,1 a 0,12 ppm por kg de matéria seca, BATRA et al. (1992) encontraram concentrações plasmáticas do mineral de 35 e 35,6 ng/ml em vacas secas, 26,8 e 27 ng/ml em vacas em lactação, para animais suplementados ou não suplementados com vitamina E respectivamente.

WEISS et al. (1997), alimentando vacas com dietas contendo 0,1 ppm de selênio e diferentes níveis de vitamina E, encontraram concentrações do selênio de 0,1 $\mu\text{g/ml}$ no sangue e 0,05 $\mu\text{g/ml}$ no plasma.

Estudando os efeitos da vitamina E e do selênio em vacas leiteiras, ZANETTI et al. (1998) encontraram um aumento significativo no dia do parto para os níveis séricos de

selênio de vacas suplementadas com 5 mg do mineral, 30 dias antes do parto e durante a lactação, comparadas aos grupos não suplementados (0,057 e 0,068 ppm e 0,029 e 0,028 ppm respectivamente).

Em muitos rebanhos, a suplementação de selênio e de vitamina E cessa quando a lactação é interrompida e o fornecimento de concentrados é cortado. Neste caso, ocorre uma rápida mobilização dos estoques no período seco, sendo que a vaca pode estar em depleção no momento do parto, possibilitando o aparecimento de deficiência destes nutrientes, afetando sua saúde e a do bezerro. Análises sorológicas de selênio, de vitamina E ou da glutathione peroxidase podem não revelar com precisão o declínio destes no animal (Mc DOWELL et al., 1996).

2.8 Requerimentos e suplementação

Uma revisão de literatura sugere que o requerimento de selênio para a maioria das espécies de produção está entre 0,05 e 0,3 mg/kg de matéria seca ingerida. Esta variação ocorre tanto como resultado de diferentes fatores que podem influenciar o requerimento de um animal, como pela diversidade das opiniões quanto ao critério usado para estabelecer as necessidades. Os fatores como as fontes de selênio, a biodisponibilidade, a suplementação de vitamina E, as concentrações de antagonistas (enxofre, ferro e cobre) na dieta e os métodos usados para a análise do mineral no animal podem influenciar o requerimento de selênio (Mc DOWELL et al., 1996).

Os requerimentos de vitamina E e de selênio dependem da concentração de cada um deles na dieta. O fato da vitamina E reduzir o requerimento de selênio é conhecido e se dá através de dois caminhos: por manter o mineral na forma ativa, prevenindo sua perda e por prevenir a destruição das membranas lipídicas, inibindo a produção de peróxidos e reduzindo a quantidade de glutathione peroxidase necessária à destruição de peróxidos formados dentro das células. O selênio é conhecido por poupar a vitamina E em três níveis: preservando a integridade do pâncreas, o qual é responsável pela digestão normal das gorduras, melhorando a absorção de vitamina E; reduzindo a quantidade de vitamina E requerida para manter a integridade das membranas lipídicas via glutathione peroxidase e

auxiliando a retenção da vitamina no plasma sanguíneo por um caminho ainda não esclarecido (McDOWELL, 1989).

O NRC estima o requerimento de vitamina E para bovino de corte, bovino de leite e ovinos em 15 a 40 mg/kg de matéria seca. Isto é muito controvertido e recentes publicações sugerem que altos níveis de suplementação de vitamina E podem melhorar o desempenho, sendo que altas doses melhoram a qualidade de carcaças. Os fatores de importância primária que podem ter influência na suplementação de vitamina E e de selênio incluem: (1) selênio e ou vitamina E deficientes nos volumosos e concentrados; (2) pastagens excessivamente secas; (3) alimentação em confinamento onde estes nutrientes não são fornecidos ou somente forragens de baixa qualidade são oferecidas; (4) dietas com predominância de ingredientes que contêm baixos níveis de α -tocoferol e com baixa atividade; (5) dietas com ingredientes que aumentam os requerimentos de selênio (metais pesados, aflatoxinas) e vitamina E (gorduras insaturadas, água rica em nitratos); (6) métodos de colheita, de secagem, de estocagem e de conservação dos alimentos que resultam em destruição dos nutrientes; (7) aceleradas taxas de ganho, de produção e de eficiência alimentar com aumento da demanda metabólica; (8) a produção intensificada pode aumentar indiretamente a necessidade destes nutrientes pelo elevado nível de “stress”, o qual sempre aumenta a susceptibilidade às doenças (Mc DOWELL, 1989).

Baseando em dados disponíveis, um programa de suplementação de vitamina E sugere, principalmente, a utilização da administração oral e parenteral. Para a proteção continuada contra uma possível deficiência de todo o rebanho é essencial uma adequada suplementação da vitamina na dieta.

Para vacas leiteiras, uma ótima suplementação é aquela que transfere uma adequada quantidade de vitamina E para o leite, mantendo a frescura e o paladar agradável até chegar ao consumo. Mesmo no leite sob refrigeração, a gordura está propensa à auto oxidação pelo mecanismo de radicais livres. A gordura oxidada produz um sabor e um aroma que variam entre metálico, “sebo” e “papelão”. A transferência da vitamina E da dieta para o leite é muito baixa e diminui com o aumento da ingestão. Cerca de 1-2% desta vitamina foi transferida para o leite de vacas, consumindo 600 mg de α -tocoferol na dieta basal mais 1g

por dia de acetato de *d*- α -tocoferol como suplemento. Para a manutenção de 40-50 μ g de vitamina E por grama de gordura do leite, uma vaca produzindo 40 kg de leite com 3,5% de gordura e transferindo 1% de vitamina da dieta para o leite pode requerer 5,6-7,0g de acetato de *dl*- α -tocoferol diariamente. Assim, a recomendação NRC (1989) de 15 UI de vitamina E / kg de matéria seca é altamente inadequada.

Para os animais confinados e para o gado leiteiro que recebem concentrados, o método mais eficiente de suplementação de selênio é aquele que ocorre através de misturas minerais, contendo o elemento, que são combinadas com alimentos concentrados. As dietas são formuladas, tipicamente, para conter 0,1 a 0,3 mg/kg de matéria seca. Os principais métodos para suplementar o selênio em animais sob pastejo são: (1) livre acesso às misturas minerais; (2) fertilização com selênio; (3) injeções de selênio; (4) como “drench” e (5) peletes ruminais do elemento (Mc DOWELL et al., 1996).

2.9 Hipervitaminose

A vitamina E é conhecida por ser a menos tóxica das vitaminas. Entretanto, vários estudos têm demonstrado efeitos adversos com a utilização de doses extremas em ratos, frangos e humanos. Estudos com frangos indicaram que níveis de 1000 UI/kg de dieta por períodos prolongados não causaram efeitos deletérios. Em ratos, o nível máximo tolerável é, provavelmente, cerca de 2500 UI/kg. Na ausência de dados experimentais para hipervitaminose em outras espécies, o máximo tolerável pode ser referido somente por extrapolação dos estudos feitos com ratos e frangos. Um presumível nível máximo de segurança de cerca de 75 UI/kg de peso corporal por dia é sugerido como guia para as formulações de dieta. Como os requerimentos para a maioria das espécies variam de 5 a 50 UI/kg de dieta (ou 2 a 4 UI/kg de peso vivo), a ingestão 20 vezes maior do que o nível nutricional adequado pode ser bem tolerada (NRC, 1987).

Excessos moderados de vitamina E são de pequena importância, mas a alta dosagem pode induzir perturbações gastrintestinais, interferência com a absorção de vitaminas A e K e predisposição às enterites. A deficiência de vitamina A causa um comprometimento da

imunidade, aumentando a susceptibilidade às infecções, podendo inclusive aumentar a mortalidade (COTRAN et al., 1994).

2.10 Resposta imune

A glândula mamária é um órgão complexo que propicia à descendência do animal a alimentação e a resistência às doenças. Os fatores específicos e a imunidade inata associados com os tecidos mamários e a secreção têm um papel vital em proteger a glândula de doenças infecciosas. Com a seleção genética e os avanços tecnológicos, a produção de leite é bem maior do que a necessidade do bezerro recém-nascido. Este excesso é a base da indústria leiteira. Os fatores associados à produção intensiva podem afetar profundamente a imunidade da glândula mamária e a habilidade do hospedeiro de resistir à mastite (SORDILLO et al., 1996).

A glândula mamária é protegida por vários mecanismos de defesa que podem ser separados em duas categorias distintas: imunidade inata e imunidade específica. A imunidade inata, também conhecida por resposta não específica, é a defesa predominante nos primeiros estágios da infecção. Esta resposta está presente ou é ativada rapidamente no local da infecção por numerosos estímulos, entretanto, eles não aumentam por exposição repetida à mesma injúria. A resposta inata é mediada pela barreira física do canal do teto, por macrófagos, por neutrófilos e por certos fatores solúveis. Inversamente, a resposta imune específica reconhece determinado patógeno específico facilitando sua eliminação seletiva. O reconhecimento de fatores patogênicos é mediado por anticorpos, por macrofágos e por diversos linfócitos. Devido à “memória” de certos linfócitos, a resposta imune específica pode ser aumentada por exposições repetidas aos patógenos (SORDILLO et al., 1997).

A mastite ocorre quando a bactéria entra na glândula mamária pelo canal do teto. Por esta razão, este é considerado a primeira linha de defesa contra invasores. O esfíncter do teto contém músculos que ficam contraídos entre ordenhas impedindo a penetração de agentes. O canal do teto é revestido com queratina, sendo a mesma crucial para a manutenção da função de barreira. A remoção da queratina aumenta a susceptibilidade à

invasão e à colonização bacteriana. Na camada de queratina, agentes antimicrobianos têm sido identificados. Os ácidos graxos esterificados e os não esterificados presentes na queratina como o ác. mirístico, o ác. palmitoleico e o ác. linoleico são bacteriostáticos. Adicionalmente, proteínas catiônicas no canal do teto podem ligar-se eletrostaticamente aos patógenos, alterando a parede celular bacteriana, aumentando a susceptibilidade destes à pressão osmótica, levando-os a lise e morte (SORDILLO et al., 1997).

A atividade dos leucócitos existentes ou recentemente recrutados nos estágios iniciais da patogênese, exerce um papel importante no estabelecimento de novas infecções. A contagem de células somáticas no leite consiste em diferentes tipos celulares, incluindo neutrófilos, macrofágos, linfócitos e uma pequena porcentagem de células epiteliais. Na glândula mamária em lactação e saudável, a contagem total de células somáticas está em torno de $<10^5$ /ml de leite. Durante uma nova infecção, o total pode aumentar para $>10^6$ /ml de leite em poucas horas (THIERS, 1999). Vários estudos têm demonstrado que a severidade e a duração da mastite está estreitamente ligada à prontidão da resposta migratória dos leucócitos e à atividade bactericida das células no local da infecção. Algumas bactérias produzem metabólitos, enterotoxinas ou componentes da parede celular para colonizarem e se multiplicarem na glândula mamária. Estes fatores bacterianos servem indiretamente como quimiotáteis para os leucócitos. Se as células migram rapidamente da corrente sanguínea para a glândula mamária, eliminando o estímulo inflamatório decorrente da invasão bacteriana, então o recrutamento de leucócitos cessa e a contagem de células somáticas retorna aos níveis normais. Caso as bactérias sobrevivam a esta resposta imediata, a inflamação continua, resultando em migração de células do sangue em direção ao lúmen alveolar (CAPUCO et al., 1986). A prolongada diapedese dos leucócitos causa danos ao parênquima mamário, diminuindo a produção (SORDILLO et al., 1988).

Os neutrófilos são as células predominantes nos tecidos mamários e nas secreções mamárias nos estágios inflamatórios iniciais e podem constituir $>90\%$ do total dos leucócitos da glândula mamária (SORDILLO et al., 1989; THIERS, 1999). Estas células vão do sangue para a mama em resposta aos vários mediadores inflamatórios como citocinas, complemento e prostaglandinas. Uma vez no sítio da infecção, os neutrófilos fagocitam e matam as bactérias. Os neutrófilos exercem seus efeitos bactericidas através da

explosão (burst) oxidativa que produz hidroxila e radicais oxigenados que são componentes-chaves do mecanismo de destruição dependente de oxigênio. As bactérias são mortas por ação de íons superóxido, hipoclorito e peróxido de hidrogênio. Durante a fagocitose, as bactérias podem ser expostas também aos diversos reativos independentes de oxigênio, como peroxidase, lisozima, enzimas hidrolíticas e lactoferrina. Em adição, os neutrófilos são fonte de pequenos peptídeos antibacterianos, capazes de destruir um grande número de agentes causadores de mastite.

Os macrófagos são as células predominantes no leite e nos tecidos mamários saudáveis de vacas leiteiras. Os macrófagos são ativos em fagocitar bactérias, células debilitadas e componentes lácteos acumulados (SORDILLO et al., 1988). A taxa de fagocitose dos macrófagos pode melhorar substancialmente na presença de anticorpos específicos que opsonizam patógenos. Devido à ingestão indiscriminada de gorduras, caseína e outros componentes do leite, os neutrófilos e macrófagos da glândula mamária são menos efetivos na fagocitose do que os leucócitos sanguíneos (SORDILLO et al., 1988).

Antígenos como bactérias, vírus e parasitas são substâncias estranhas que desencadeiam a resposta do sistema imune. Esta resposta é conseguida através de substâncias solúveis e de células específicas que são produzidas para neutralizar ou destruir um determinado antígeno. O sistema imune é dividido em celular e humoral, tendo por base a sua capacidade de resposta. A medula óssea produz os linfócitos e os órgãos linfóides primários regulam a produção e a diferenciação destes (NOCKELS, 1996). A geração da imunidade específica envolve a presença de antígenos e de linfócitos. Os linfócitos são as únicas células do sistema imune que reconhecem um patógeno invasor específico através de receptores na membrana (SORDILLO et al., 1997).

2.11 Mastite Clínica

A mastite clínica pode ser aguda ou sub-aguda, apresentando sintomatologia evidente de processo inflamatório (edema, sensibilidade, hipertermia, hiperemia) e alterações das características da secreção: leite com presença de grumos, leite aquoso, leite

com presença de sangue e secreção de aspecto purulento. Na mastite clínica crônica observa-se fibrosamento do tecido mamário, além das alterações no leite acima referidas (RADOSTITIS et al., 1994).

Baseando-se em estudos de vários autores entre 1985 e 1992, nos E.U.A., RENEAU (1993) fez referência a estimativas de perda de leite em torno de 3,0% a 47% por diminuição da produção e descarte do leite devido à ocorrência de mastite clínica durante a lactação. O autor observou ainda que quanto maior a severidade da mastite clínica, maior é a perda na produção durante a lactação, como também que, episódios de mastite no início da lactação acarretam uma maior redução na produção do que os episódios ocorridos em períodos mais avançados da mesma e que animais de alta produção são mais susceptíveis à mastite. Além disso, a incidência de mastite aumenta a cada lactação.

2.12 Mastite Subclínica

A mastite subclínica caracteriza-se pela diminuição da produção leiteira sem sintomatologia evidente, sendo que os sinais visíveis de processo inflamatório ou fibrosamento estão ausentes. Verifica-se a ocorrência da mastite subclínica através de métodos indiretos como o “California Mastitis Test” (CMT), a contagem de células somáticas, o teste de Whiteside, o Wisconsin Mastitis Test, a condutibilidade elétrica, entre outros (RADOSTITIS et al., 1994).

A mastite subclínica é a responsável pelos maiores prejuízos na produção leiteira. Segundo PHILPOT (1984), para cada caso de mastite clínica em um rebanho existem de 15 a 40 casos de mastite subclínica, sendo que muitos casos de mastite clínica são precedidos pela infecção subclínica. Segundo COSTA et al. (1994b), estima-se que para cada vaca com mastite clínica existam cerca de nove com mastite subclínica, sendo que esta proporção poderá ser bem maior ou ligeiramente menor dependendo do microrganismo prevalente. KIRK et al. (1994) afirmam que a mastite subclínica é responsável por 10 a 11% de perda no total da capacidade produtiva por vaca por ano.

2.13 Mastite Infecciosa

A mastite pode ter várias causas, sendo que a infecciosa é a mais freqüente, geralmente causada por bactérias. Os fungos e as algas também podem estar envolvidos na sua etiologia (BRAMLEY & DODD, 1984; COSTA et al., 1994a). De acordo com WATTS (1988), em trabalho de revisão sobre agentes etiológicos causadores de mastite, a mastite infecciosa é causada por aproximadamente 137 espécies diferentes de microrganismos.

No Estado de São Paulo predominam as mastites causadas por *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp e *Corynebacterium* sp (NADER FILHO et al., 1985; BALDASSI, et al., 1991; LANGONI et al., 1991; COSTA et al., 1986, 1994a; COSTA, 1998), sendo também estes os principais agentes etiológicos da mastite clínica neste mesmo estado (COSTA et al., 1995b).

A secreção de uma glândula mamária normal de um animal é livre de patógenos, portanto a detecção de um patógeno, em uma amostra assepticamente colhida, é indicativo de infecção (BRAMLEY, 1992).

Em relação aos patógenos de mastite, é comum a distinção em dois grupos, os agentes contagiosos e os ambientais. Os agentes contagiosos necessitam do animal para a sobrevivência, multiplicando-se no interior da glândula mamária, no canal do teto ou sobre a pele e são transmitidos de uma vaca infectada ou quarto infectado para uma vaca sadia ou quarto sadio, principalmente durante a ordenha. Os principais agentes contagiosos são: *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativo*, *Corynebacterium bovis*. Os agentes ambientais são oportunistas e estão presentes no ambiente em que o animal vive, sendo que a infecção pode ocorrer tanto no período entre ordenhas quanto durante a ordenha. Dentre estes, os principais são: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter aerogenes*, espécies de *Citrobacter*, *Serratia* e *Proteus*, *Streptococcus uberis*, *S. faecalis*, *S. faecium* e outros *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, Actinomicetales (*Actinomyces pyogenes*, *Nocardia asteroides* e *N. brasiliensis*), leveduras, fungos micelianos, e algas (*Prototheca zopfii*), (BRAMLEY & DODD, 1984; McDONALD, 1984; SMITH et al., 1985; SANDHOLM et al., 1990; CULLOR, 1993; COSTA, 1998).

A infecção de uma glândula sadia geralmente ocorre pela contaminação da extremidade distal do teto com a entrada do microrganismo pelo canal do teto, ocasionando a infecção intramamária. A infecção pode ocorrer também por via sistêmica como, por exemplo, em doenças como a tuberculose, brucelose, leptospirose, salmonelose, anthrax ou mesmo por bacteremias devido às infecções localizadas como, por exemplo, pododermatites, glossites, estomatites, entre outras (BRAMLEY & DODD, 1984, COSTA, 1998).

Várias possibilidades podem ocorrer facilitando a penetração do ducto do teto pelos patógenos de mastite. Um trauma pode afetar a integridade do canal do teto levando à infecção. O equipamento de ordenha mau regulado pode influenciar nas taxas de infecção devido às flutuações de vácuo e pulsação inadequada, promovendo a entrada de microrganismos patogênicos no interior do teto, facilitando a passagem de patógenos de uma vaca para outra, exacerbando qualquer tipo de lesão do teto, causando hiperqueratose ou edema. (SHEPHERD, 1996).

A interrupção da lactação também pode contribuir facilitando a instalação dos microrganismos. Na glândula mamária ativa, o fluxo de saída do leite dificulta a colonização dos microrganismos, eliminando-os mecanicamente. As alterações fisiológicas que ocorrem durante o período seco podem também facilitar a ocorrência de infecções (BRAMLEY & DODD, 1984, COSTA, 1998). Evidências clínicas e experimentais sugerem que as mudanças ocorridas durante o período seco aumentam a susceptibilidade do úbere às novas infecções (SMITH et al., 1985; SORDILLO & NICKERSON, 1988). As infecções estabelecidas durante o período seco são as principais causas de mastites clínicas nas primeiras semanas da lactação subsequente (SORDILLO, 1988; EBERHART, 1992; PANKEY & DRECHSLER, 1993).

A susceptibilidade da glândula à infecção é maior no início e no final do período seco. Entre os fatores que interferem no aumento da susceptibilidade destaca-se o aumento da população bacteriana na extremidade distal do teto pois os procedimentos de limpeza e desinfecção não são mais realizados. As modificações histológicas do canal do teto também contribuem para o aumento da susceptibilidade. Foi demonstrado que o lúmen do canal está maior no 7º dia após a secagem do que no dia 0, 16 ou 30 do período seco, sendo que, com

o avançar deste período existe a produção do tampão protetor de queratina no canal (SORDILLO & NICKERSON, 1988). Dentre os mecanismos de resistência da glândula durante o processo de involução destacam-se o aumento na concentração de células fagocíticas, de linfócitos, de imunoglobulinas e de lactoferrina, porém, este aumento pode ocorrer lentamente deixando a glândula exposta à infecção. A fagocitose por neutrófilos parece ser inibida nas secreções da glândula em involução e os linfócitos apresentam-se, neste período, menos sensíveis aos estímulos antigênicos. Além disso, no pré-parto a concentração de células somáticas e de lactoferrina diminuem acentuadamente. Neste período, a glândula se torna edemaciada e existe um aumento do volume de secreção. Alguns trabalhos demonstram a capacidade de vários patógenos de mastite de sobreviver e de crescer *in vitro* em secreções coletadas nas diferentes épocas do período seco (EBERHART, 1986; NICKERSON, 1989).

Muitas infecções intramamárias ocorrem nas duas semanas que antecedem e sucedem a parição, sendo que neste período, os animais são mais vulneráveis à deficiência de vitamina E. Quando as vacas leiteiras são alimentadas predominantemente com forragens conservadas como, por exemplo, silagens, aumenta a possibilidade de ocorrência de deficiência deste nutriente, prejudicando os mecanismos de defesa do organismo e facilitando a colonização da glândula mamária por patógenos causadores de mastite (HOGAN et al. 1993a; SMITH et al., 1997).

No Brasil, em várias fazendas leiteiras, as vacas são alimentadas exclusivamente com silagens e concentrados, havendo a possibilidade de ocorrência de deficiência de vitamina E na dieta destes animais. A interferência desta prática na ocorrência de mastite não é bem conhecida em nosso país e são escassas as investigações em relação aos efeitos da suplementação de vitamina E, no período periparto, a vacas leiteiras.

3 OBJETIVOS

Verificar o efeito da suplementação de vitamina E, por via oral, nos períodos pré e pós-parto, a vacas leiteiras alimentadas basicamente com silagem de milho e concentrados durante a lactação, quanto à: ocorrência de mastite clínica; de mastite subclínica e de infecções pelos principais patógenos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Formação dos grupos experimentais

Para a execução do experimento, setenta e sete vacas da raça holandesa ou cruzadas (grau de sangue acima de $\frac{3}{4}$ holandês) distribuídas em três propriedades foram divididas em três grupos:

Grupo 1 (controle) = sem suplementação vitamínica;

Grupo 2 (intermediário) = suplementação com 1000 UI de vitamina E durante 30 dias antes do parto previsto e 30 dias após o parto;

Grupo 3 (alta) = suplementação com 1000 UI de vitamina E de 30 a 15 dias antes do parto previsto e 3000 UI de 15 dias antes do parto a 30 dias após o parto.

Todas as propriedades continham os três grupos, sendo que uma propriedade colaborou com 1/5 dos animais e as demais com 2/5 cada uma. As vacas foram sorteadas para cada grupo de acordo com a ordem de lactação, a data prevista para o parto e o grau de sangue para que ficassem homogeneamente distribuídas.

Os partos ocorreram no período entre 20/01/99 a 16/05/99.

4.2 Preparação e administração da vitamina E

A vitamina E¹ foi pesada para se obter uma medida para a embalagem (Figura 1). Esta foi acondicionada em pequenos pacotes de papel (15cm x 8cm) que eram colocados diariamente na boca dos animais a serem suplementados, como pode ser observado na Figura 2.

Conforme a demanda, foram sendo efetuadas as embalagens do suplemento para no máximo três dias de fornecimento, evitando-se, assim, possíveis deteriorações do produto. Os pacotes com doses de 1000 UI e 3000 UI de vitamina E continham, respectivamente, 2g e 6g do produto (1mg vitamina E = 1 UI , produto fornecido possuía 50% de vitamina E).

¹ M. Cassab Comércio e Indústria Ltda.

Figura 1 – Doses e embalagens da vitamina E.

Figura 2 – Administração da vitamina E por via oral.

4.3 Características das propriedades

As propriedades são localizadas no sudoeste de Minas Gerais distantes umas das outras no máximo por 25 Km. As três propriedades produzem leite tipo B, com instalações para ordenha em salas do tipo espinha de peixe.

A produção diária de leite nas fazendas, no período experimental, esteve em torno de 1000 a 2000 litros, com médias de produção de rebanho variando entre 18 a 32 litros (Tabela 1) .

Tabela 1 – Produção média diária de leite dos animais, em cada mês, nas três fazendas.

	Jan	Fev	Mar	Abr	Maio	Jun	Jul	Ago	Set	Out
Faz 1	24,0	18,7	17,6	19,8	20,3	26,0	22,3	22,7	24,5	25,9
Faz 2	17,4	20,6	25,5	26,1	28,1	25,1	24,0	21,6	19,6	18,0
Faz 3	25,0	29,5	29,7	30,8	32,3	32,6	32,1	30,6	30,2	30,7

Faz = fazenda.

Produção em litros de leite.

As medidas gerais de higiene utilizadas na ordenha consistiram em lavagem dos tetos e secagem com papel toalha antes da ordenha e pós *dipping* com anti-séptico. A detecção diária de mastite clínica foi feita através do teste da caneca de fundo escuro antes da ordenha do animal.

Na secagem dos animais, na lactação que antecedeu o experimento, foi efetuado o tratamento com antibióticos formulados especificamente para o tratamento de vacas secas em todas as propriedades.

Na composição dos rebanhos a raça predominante era holandesa preto e branca, com animais puros e cruzados com grau de sangue acima de $\frac{3}{4}$ holandês, sendo que em todas as propriedades os rebanhos eram constituídos pelos diversos cruzamentos.

A alimentação foi baseada em silagem de milho (30 a 40kg / animal) e concentrado fornecido no pré parto (2kg / animal) e na lactação (aproximadamente 50% da ingestão de

matéria seca). A mistura mineral comercial², cuja formulação está apresentada na Tabela 2, foi oferecida à vontade, sendo distribuída em cochos próprios. O consumo foi de aproximadamente 100g/animal/dia. Os resultados das análises dos alimentos utilizados nas fazendas estão apresentados na Tabela 3 e a composição final das dietas fornecidas aos animais está apresentada na Tabela 4.

Tabela 2 – Composição da mistura mineral utilizada nas três fazendas

Níveis de garantia por kg do produto	
Cálcio (Ca)	106,057 g
Fósforo (P)	83,001 g
Enxofre (S)	26,000 g
Magnésio (Mg)	16,500 g
Sódio (Na)	171,505 g
Cobre (Cu)	2700,000 mg
Cobalto (Co)	140,040 mg
Zinco (Zn)	4600,460 mg
Iodo (I)	188,800 mg
Selênio (Se)	31,950 mg
Flúor (F) máx.	0,830 g

² Cooperativa Regional de Cafeicultores em Guaxupé Ltda. (Cooxupé)

Tabela 3 – Composição dos alimentos utilizados nas três fazendas.

	MS (%)	PB (%)	FB (%)	EE (%)	MM (%)	Ca (%)	P (%)	Se (ppm)
Fazenda 1								
Silagem de milho	95,99	7,10	24,02	2,46	2,36	0,11	0,10	0,033
Concentrado	89,30	23,21	4,96	2,96	6,70	1,38	0,48	0,283
Fazenda 2								
Silagem de milho	96,26	5,90	27,56	1,76	4,13	0,11	0,12	0,033
Concentrado	88,16	29,67	4,18	3,37	9,32	2,02	0,68	0,476
Fazenda 3								
Silagem de milho	95,81	6,66	21,54	1,79	3,74	0,28	0,11	0,030
Concentrado	87,50	28,99	3,96	2,65	7,94	1,78	0,63	0,381
Caroço de algodão	92,00	23,00	24,00	20,00	4,80	0,21	0,64	-----

Análises das silagens de milho e dos concentrados foram feitas no Laboratório de Nutrição do Depto. de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Eng^a. de Alimentos da USP.

MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FB = fibra bruta; EE = extrato etéreo;

MM = matéria mineral; Ca = cálcio; P = fósforo; Se = selênio.

Obs: valores dos nutrientes do caroço de algodão são da tabela do NRC (1989).

Tabela 4 - Níveis nutricionais das dietas utilizadas nas fazendas.

	IMS (kg)	Composição da dieta (% MS)		PB (%)	NDT (%)	EL _{lac} (Mcal/kg)	FB (%)	EE (%)	MM (%)	Ca (%)	P (%)	Se (ppm)
PRE-PARTO		Conc.	Vol.									
FAZENDA 1	11,0	18	82	10,03	66,63	1,48	20,55	2,55	3,15	0,44	0,24	0,36
FAZENDA 2	12,0	18	82	10,35	67,71	1,50	23,17	2,06	5,10	0,56	0,29	0,38
FAZENDA 3	12,0	18	82	10,84	67,71	1,50	18,24	1,95	4,50	0,65	0,28	0,36
PÓS-PARTO												
FAZENDA 1	19,5	50	50	15,30	69,48	1,55	14,51	2,70	4,52	0,80	0,33	0,32
FAZENDA 2	20,0	48	52	17,30	71,94	1,62	16,30	2,50	6,60	1,07	0,43	0,40
FAZENDA 3	21,0	48	52	17,50	73,58	1,65	14,20	3,90	5,60	0,97	0,42	0,33

Cálculos feitos estimando a ingestão de matéria seca (IMS) pelos animais e usando resultados de análises dos alimentos.

PB = proteína bruta; FB = fibra bruta; EE = extrato etéreo; MM = matéria mineral; Ca = cálcio; P = fósforo; Se = selênio.

Obs.: Cálculos do NDT (nutrientes digestíveis totais) e EL_{lac} (energia líquida para lactação) foram estimados usando valores da tabela do NRC (1989).

Em todas as propriedades, os animais, no período seco, permaneceram em piquetes onde eram também alimentados. Após o parto, a alimentação era fornecida em estábulos com cochos cobertos e com livre acesso para piquetes de descanso.

4.4 Métodos

4.4.1 Diagnóstico de mastite

Os 77 animais foram acompanhados por um período de 9 meses, sendo que neste período, foram realizadas 9247 análises, incluindo as 2880 análises feitas em todos animais em lactação dos rebanhos envolvidos.

Os exames para a detecção de mastite foram realizados logo após a fase colostrar e uma vez por mês durante no mínimo cinco meses de lactação. Ao se examinar o animal, efetuava-se o exame de Tamis (exame da peneira ou caneca de fundo escuro), o CMT (“California Mastitis Test” - SCHALM & NOORLANDER, 1957) e colhiam-se amostras de leite para os exames microbiológicos.

O exame de Tamis consiste em retirar os primeiros jatos de leite do quarto mamário sobre uma caneca de fundo preto ou telada para a visualização de alterações no leite, como a presença de filamentos, de grumos, de soro e de mudanças na coloração, caracterizando assim a mastite clínica (RADOSTITS, 1994).

O exame CMT é realizado em uma bandeja apropriada, com quatro compartimentos correspondentes a cada quarto mamário, onde se coloca os jatos de leite ordenhados, adicionando-se o detergente aniônico (alquil-lauril sulfato de sódio) que atua sobre as células presentes no leite rompendo suas membranas e liberando o material nuclear. A liberação deste material resulta numa viscosidade que caracteriza a reação. Esta viscosidade é classificada em cinco escores conforme sua intensidade: negativo, traço, +, ++ e +++. Esta prova permite o diagnóstico da mastite subclínica através da detecção da ocorrência de um processo inflamatório, pelo aumento de células somáticas, sendo considerados positivos os quartos que apresentarem +, ++ ou +++.

O exame microbiológico foi realizado com o objetivo de detectar a presença de infecção na glândula mamária. As amostras de leite foram colhidas assepticamente de todos os quartos mamários, independente dos resultados apresentados nos exames anteriores. Os tetos eram lavados com água e solução desinfetante, secos com papel toalha descartável e submetidos à desinfecção com algodão embebido em álcool iodado (1000ml de álcool 70% : 20ml iodo 2,5%). As mãos do pesquisador também eram desinfetadas. Em seguida, o leite era colhido em frascos estéreis e encaminhado ao laboratório sob refrigeração.

No laboratório, as amostras foram cultivadas em ágar sangue³ de carneiro, incubadas em aerobiose a 37°C por 72 horas com leituras 24, 48 e 72 horas e em ágar Sabouraud⁴ com cloranfenicol (100mg/l) e ágar MacConkey⁵, sendo incubadas a 37°C por 48 horas. As técnicas microbiológicas para a identificação das bactérias foram empregadas conforme descrito por MURRAY et al. (1999). As provas mais utilizadas foram: produção de catalase, coloração de Gram, coagulação de plasma de coelho, urease⁶, indol, motilidade em ágar semi-sólido⁷, esculina⁸, acidificação de carboidratos, oxidação e fermentação em meio de Hugh & Leifson⁹, produção de H₂S, crescimento em TSI¹⁰, ágar citrato de Simmons¹¹, “Camp Test”, Sistema API¹². As bactérias isoladas foram classificadas de acordo com o Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology (KRIEG & HOLT, 1994).

A identificação de *Nocardia* sp foi baseada na sua morfologia macro e microscópica, tendo sido realizados testes de Gram, Kinyoun modificado, liquefação de gelatina, fragmentação de hifa, hidrólise de caseína, xantina, tirosina¹³ e urease, de acordo com BENEKE & ROGERS (1970).

No caso de isolamento de alga do gênero *Prototheca* sp., procedeu-se a identificação segundo CAMARGO & FISCHMAN (1979) e MELVILLE (1995) sendo realizadas observações de micro e de macromorfologia e coloração de Gram.

³ Blood Agar Base – Difco – Detroit - USA

⁴ Sabouraud – 4% glucose – agar – Merk - Alemanha

⁵ MacConkey agar nº3 – Oxoid - England

⁶ Urea Agar Base - Difco – Detroit - USA

⁷ Motility Test Medium – Difco – Detroit - USA

⁸ Edwards Medium (modified) - Oxoid - England

⁹ OF Basal Medium – Difco – Detroit - USA

¹⁰ Triple Sugar Iron Agar - Difco – Detroit - USA

¹¹ Simmons Citrate Agar - Difco – Detroit - USA

¹² API Staph, API Strep, API Coryne *in vitro* diagnostic, Biomerieux- França

¹³ Tyrosine - Difco – Detroit - USA

As leveduras foram identificadas de acordo com KREEGER VAN RIJ (1984).

4.4.2 Análise de selênio

As amostras dos concentrados e silagens de milho fornecidos aos animais nas três propriedades envolvidas no experimento foram remetidas ao laboratório¹⁴, assim como as amostras de soro para análise de selênio.

Dentro de cada grupo e de cada propriedade foram sorteados aproximadamente 20% dos animais para a análise de selênio no soro. Para cada animal sorteado, duas amostras de soro foram analisadas (uma colhida 30 dias antes da previsão para o parto e outra no dia do parto). O selênio foi determinado pelo método de fluorimetria (OLSON et al., 1975). A análise deste foi realizada para certificar apenas se a dieta continha o elemento nos níveis adequados à manutenção da saúde dos animais e se as concentrações séricas estavam dentro dos padrões recomendados na literatura.

Nos alimentos foram analisados também matéria seca, proteína bruta, fibra bruta, extrato etéreo, matéria mineral, Ca e P (dados apresentados na Tabela 3).

4.4.3 Análises estatísticas

Na análise estatística dos resultados dos exames Tamis, CMT e microbiológico foi realizado o teste Fisher utilizando-se o “software” GRAPHPAD INSTAT (1990-1993). A análise dos resultados microbiológicos foi feita para cada agente etiológico separadamente.

As análises dos resultados das concentrações séricas de selênio foram feitas usando o teste de Wilcoxon para as comparações entre o pré e o pós parto e o de Mann Whitney para as comparações entre os grupos e entre as fazendas em cada período separadamente.

¹⁴ Laboratório de Nutrição do Depto. de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Eng^a. de Alimentos da USP.

5 RESULTADOS

Os resultados relacionados ao comportamento dos grupos estão apresentados nas tabelas de 5 a 13 e ilustrados pelas figuras de 3 a 9.

Foram efetuados exames de tamis, CMT e microbiológicos antes da secagem, na lactação que antecedeu o experimento, exceto nas novilhas e em alguns animais que haviam interrompido a lactação há mais tempo, perfazendo um total de 45 animais examinados.

Tabela 5 - Resultados dos exames de tamis, CMT e microbiológicos realizados em 45 animais dos três grupos experimentais antes da secagem, na lactação que antecedeu o experimento .

	Tamis			CMT			Microbiológico		
	N	Pos	%	N	Pos	%	N	Pos	%
Grupo 1	62	9	14,52	62	40	64,45	61	49	80,32 ^a
Grupo 2	64	6	9,37	64	45	70,31	63	52	82,25 ^a
Grupo 3	52	7	13,46	52	39	75,00	52	51	98,07 ^b

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b} = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Pela análise da Tabela 5, verificou-se que antes da secagem, na lactação que antecedeu o experimento, o grupo G3 (alta) apresentou maior ($p < 0,05$) ocorrência de infecções que os demais grupos, sendo que entre os grupos G1 (controle) e G2 (intermediário) não foram detectadas diferenças. Não foram detectadas diferenças estatísticas entre os grupos, neste mesmo período, quanto à ocorrência de mastite clínica e de mastite subclínica.

Tabela 6 - Resultados dos exames de tamis, CMT e microbiológicos realizados em 45 animais dos três grupos experimentais após o parto.

	Tamis			CMT			Microbiológico		
	N	Pos	%	N	Pos	%	N	Pos	%
Grupo 1	62	8	12,90 ^b	62	35	56,45	61	32	52,45
Grupo 2	64	3	4,68 ^{a, b}	64	38	59,37	64	35	54,68
Grupo 3	51	1	1,96 ^a	51	29	56,86	48	24	50,00

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b}, = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

A Tabela 6 apresenta o resultado dos exames realizados nestes mesmos animais, na primeira colheita após o parto. Foram detectadas diferenças estatísticas entre os grupos apenas na ocorrência de mastite clínica, sendo que no grupo G1 foi maior ($p < 0,05$) que no grupo G3. O grupo G2 não apresentou diferenças na ocorrência de mastite clínica em relação aos demais grupos. Quanto à ocorrência de mastite subclínica e infecções não foram detectadas diferenças entre os três grupos.

Foi efetuada também, a análise estatística para comparar a ocorrência de mastite antes da secagem e após o parto, dentro de cada grupo. Houve uma tendência para a redução da ocorrência de mastite clínica e de mastite subclínica em todos os grupos na primeira colheita após o parto. A ocorrência de infecções foi significativamente menor ($p < 0,05$) na primeira colheita após o parto do que na que foi realizada antes da secagem, em todos os grupos (Tabela 5 e 6).

Tabela 7 - Resultados dos exames de tamis, CMT e microbiológicos realizados em os todos animais dos três grupos experimentais na primeira semana de lactação.

	Tamis			CMT			Microbiológico		
	N	Pos	%	N	Pos	%	N	Pos	%
Grupo 1	106	21	19,81 ^b	106	60	56,60	105	47	44,76
Grupo 2	103	6	5,83 ^a	103	63	61,17	103	49	47,57
Grupo 3	94	6	6,38 ^a	94	49	52,13	90	41	45,56

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b}, = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados dos exames de tamis, CMT e microbiológicos realizados em todos animais dos três grupos experimentais, na primeira semana de lactação. A ocorrência de mastite clínica, na primeira semana de lactação, foi maior ($p < 0,05$) no grupo G1 do que nos grupos G2 e G3, sendo que não foram detectadas diferenças entre os grupos G2 e G3. Em relação à ocorrência de mastite subclínica e infecções não foram detectadas diferenças estatísticas entre os grupos neste período da lactação. A Figura 3 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 8 - Resultados dos exames de tamis realizados nos animais dos três grupos experimentais durante a lactação.

	Tamis		
	N	Pos	%
Grupo 1	708	73	10,31 ^b
Grupo 2	747	49	6,56 ^a
Grupo 3	671	46	6,86 ^a

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b} = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 8 estão apresentados os resultados dos exames de tamis realizados nos animais dos três grupos experimentais, durante a lactação. Pela análise desta tabela verificou-se que no grupo G1 a ocorrência de mastite clínica foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que nos grupos G2 e G3. Não foram detectadas diferenças entre G2 e G3. A Figura 4 ilustra os resultados dos exames de tamis obtidos por colheita (Anexo 1).

Tabela 9 - Resultados dos exames de CMT realizados nos animais dos três grupos experimentais durante a lactação.

	CMT		
	N	Pos	%
Grupo 1	708	437	61,72
Grupo 2	747	463	61,98
Grupo 3	671	391	58,27

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

Na Tabela 9 estão apresentados os resultados dos exames de CMT realizados nos animais dos três grupos experimentais. Pela análise da mesma não foram verificadas diferenças na ocorrência de mastite subclínica entre os grupos. A Figura 5 ilustra os resultados dos exames de CMT obtidos por colheita (Anexo 3).

Tabela 10 - Resultados dos exames microbiológicos realizados nos animais dos três grupos experimentais durante a lactação.

	Microbiológico		
	N	Pos	%
Grupo 1	705	292	41,42 ^a
Grupo 2	744	368	49,46 ^b
Grupo 3	666	380	57,06 ^c

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c} = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados nos animais dos três grupos experimentais. Verificou-se que no grupo G1 a ocorrência de infecção foi significativamente menor ($p < 0,05$) do que nos grupos G2 e G3, sendo que no grupo G2 foi menor ($p < 0,05$) que no grupo G3. A Figura 6 ilustra os resultados dos exames microbiológicos obtidos por colheita (Anexo 5).

Tabela 11 – Ocorrência de infecções por *Staphylococcus* sp, *Staphylococcus* C+ e *Staphylococcus* C- nos três grupos experimentais.

	N	<i>Staphylococcus</i> sp		<i>Staphylococcus</i> C+		<i>Staphylococcus</i> C-	
		Pos	%	Pos	%	Pos	%
Grupo 1	705	93	13,19 ^a	50	7,09 ^a	38	5,39 ^a
Grupo 2	744	121	16,26 ^a	56	7,53 ^a	59	7,93 ^{a, b}
Grupo 3	666	141	21,17 ^b	79	11,86 ^b	59	8,86 ^b

C- = coagulase negativo; C+ = coagulase positivo.

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a, b} = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados nos animais nos três grupos experimentais. Em relação às mastites por *Staphylococcus* sp verificou-se que no grupo G3 a ocorrência foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que nos demais. Entre os grupos G2 e G1 não foram detectadas diferenças. A Figura 7 ilustra os resultados dos exames microbiológicos quanto à ocorrência de infecções por *Staphylococcus* sp obtidos por colheita (Anexo 7).

Quanto às infecções por *Staphylococcus* coagulase positivo verificou-se que no grupo G3 a ocorrência foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que nos grupos G1 e G2, sendo que não foram detectadas diferenças entre os dois últimos. A ocorrência de infecções por *Staphylococcus* coagulase negativo foi maior ($p < 0,05$) no grupo G3 do que no grupo G1, sendo que entre o grupo G2 e os demais grupos não foram detectadas diferenças estatísticas.

Tabela 12 - Ocorrência de infecções por *Streptococcus* sp, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* nos três grupos experimentais.

		<i>Streptococcus</i> sp		<i>Streptococcus agalactiae</i>		<i>Streptococcus dysgalactiae</i>		<i>Streptococcus uberis</i>	
	N	Pos	%	Pos	%	Pos	%	Pos	%
Grupo 1	705	100	14,18	27	3,83 ^b	51	7,23 ^b	18	2,55 ^{a, b}
Grupo 2	744	96	12,90	11	1,48 ^a	50	6,72 ^{a, b}	31	4,16 ^b
Grupo 3	666	101	15,17	49	7,36 ^c	30	4,50 ^a	13	1,95 ^a

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c}, = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 12 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados nos animais dos três grupos experimentais. Em relação às mastites por *Streptococcus* sp não foram detectadas diferenças entre os três grupos. A Figura 8 ilustra os resultados dos exames microbiológicos quanto à ocorrência de infecções por *Streptococcus* sp obtidos por colheita (Anexo 9).

A ocorrência de infecções por *Streptococcus agalactiae* foi maior ($p<0,05$) no grupo G3 do que nos grupos G1 e G2 e maior ($p<0,05$) no grupo G1 do que no grupo G2, enquanto que para *Streptococcus dysgalactiae* a ocorrência de infecções foi maior ($p<0,05$) no grupo G1 do que no grupo G3, sendo que o grupo G2 não apresentou diferenças em relação aos demais grupos. Quanto à ocorrência de infecções por *Streptococcus uberis*, no grupo G2 foi maior ($p<0,05$) do que no grupo G3, sendo que não foram detectadas diferenças entre o grupo G1 e os grupos G2 e G3.

Tabela 13 - Ocorrência de infecções por *Corynebacterium* sp nos três grupos experimentais.

	<i>Corynebacterium</i> sp		
	N	Pos	%
Grupo 1	705	134	19,01 ^a
Grupo 2	744	165	22,18 ^{a, b}
Grupo 3	666	161	24,17 ^b

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a, b} = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p<0,05$.

Na Tabela 13 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados nos animais dos três grupos experimentais. Em relação às mastites por *Corynebacterium* sp foi verificado que no grupo G3, a ocorrência foi significativamente maior ($p<0,05$) que no grupo G1. Em relação ao grupo G2 não foram detectadas diferenças entre esse e os demais grupos. A Figura 9 ilustra os resultados dos exames microbiológicos quanto à ocorrência de infecções por *Corynebacterium* sp obtidos por colheita (Anexo 11).

Os resultados relacionados ao comportamento dos grupos, em cada fazenda, separadamente, estão agrupados e apresentados nas tabelas de 14 a 21 e ilustrados pelas figuras de 10 a 16.

Tabela 14 – Resultados dos exames de tamis realizados nos três grupos experimentais, nas três fazendas.

	Faz 1 (Tamis)			Faz 2 (Tamis)			Faz 3 (Tamis)		
	N	Pos	%	N	Pos	%	N	Pos	%
Grupo 1	157	9	5,73	280	44	15,71 ^c	271	20	7,38
Grupo 2	128	7	5,47	296	7	2,36 ^a	323	35	10,84
Grupo 3	129	6	4,65	288	22	7,64 ^b	254	18	7,09
Total	414	22	5,31	864	73	8,45	848	73	8,61

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c}, = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 14 estão apresentados os resultados dos exames de tamis realizados nas fazendas 1, 2 e 3. Nas fazendas 1 e 3 não foram verificadas diferenças estatísticas na ocorrência de mastite clínica entre os grupos. Na fazenda 2, no grupo G1 (controle) a ocorrência de mastite clínica foi maior ($p < 0,05$) do que nos demais grupos, sendo que no grupo G3 (alta) a ocorrência de mastite clínica foi maior ($p < 0,05$) do que no grupo G2 (intermediário). A Figura 10 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 15 - Resultados dos exames CMT realizados nos três grupos experimentais, nas três fazendas.

	Faz 1 (CMT)			Faz 2 (CMT)			Faz 3 (CMT)		
	N	Pos	%	N	Pos	%	N	Pos	%
Grupo 1	157	117	74,52	280	170	60,71 ^b	271	150	55,35 ^a
Grupo 2	128	96	75,00	296	149	50,34 ^a	323	218	67,49 ^b
Grupo 3	129	99	76,74	288	153	53,13 ^{a,b}	254	139	54,72 ^a
Total	414	312	75,36	864	472	54,63	848	507	59,79

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c}, , = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 15 estão apresentados os resultados dos exames de CMT realizados nas fazendas 1, 2 e 3. Pela análise desta tabela não foram verificadas diferenças na ocorrência de mastite subclínica entre os grupos na fazenda 1. Na fazenda 2, no grupo G1 a ocorrência de mastite subclínica foi maior ($p < 0,05$) do que no grupo G2. Não foram detectadas diferenças entre os grupos G1 e G3 e entre os grupos G2 e G3 na ocorrência de mastite subclínica. Na fazenda 3, verificou-se que no grupo G2 a ocorrência de mastite subclínica foi maior ($p < 0,05$) do que nos grupos G1 e G3. Entre os grupos G1 e G3 não foram detectadas diferenças na ocorrência de mastite subclínica. A Figura 11 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 16 – Resultados dos exames microbiológicos realizados nos três grupos experimentais, nas três fazendas.

	Faz 1 (Microbiológico)			Faz 2 (Microbiológico)			Faz 3 (Microbiológico)		
	N	Pos	%	N	Pos	%	N	Pos	%
Grupo 1	157	80	50,96 ^a	279	112	40,14 ^a	269	100	37,17 ^a
Grupo 2	127	80	62,99 ^{a,b}	296	117	39,53 ^a	321	171	53,27 ^b
Grupo 3	129	96	74,42 ^b	287	146	50,87 ^b	250	138	55,20 ^b
Total	413	256	61,99	862	375	43,50	840	409	48,69

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c}, = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 16 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados nas fazendas 1, 2 e 3. A ocorrência de infecções foi maior ($p < 0,05$) no grupo G3 do que no grupo G1 em todas as fazendas. Na fazenda 1, a ocorrência de infecções no grupo G2 não foi estatisticamente diferente dos demais grupos. Na fazenda 2, no grupo G2 a ocorrência de infecção foi significativamente menor ($p < 0,05$) do que no grupo G3 e não foram detectadas diferenças estatísticas entre os grupos G1 e G2. Na fazenda 3, a ocorrência de infecções no grupo G2 foi significativamente maior ($p < 0,05$) que no grupo G1, sendo que não foram verificadas diferenças entre os grupos G2 e G3. A Figura 12 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 17 – Resultados dos exames microbiológicos realizados nas três fazendas. Microrganismos isolados.

Agentes	Faz 1	Faz 2	Faz 3
	N= 413	N=862	N=840
	%	%	%
<i>Staphylococcus</i> sp	39,95 ^c	7,31 ^a	15,12 ^b
<i>Staphylococcus</i> C+	32,45 ^b	3,02 ^a	2,98 ^a
<i>Staphylococcus</i> C-	6,54 ^b	3,83 ^a	11,43 ^c
<i>Streptococcus</i> sp	15,74 ^b	10,9 ^a	16,43 ^b
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2,66 ^a	1,28 ^a	7,74 ^b
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	8,96 ^b	5,45 ^a	5,60 ^a
<i>Streptococcus uberis</i>	3,15 ^{a, b}	4,06 ^b	1,66 ^a
<i>Corynebacterium</i> sp	15,74 ^a	27,38 ^b	18,93 ^a
<i>Prototheca</i> sp	0	0,46	2,50
<i>Nocardia</i> sp	0	0	1,20
Levedura	0	0,23	0,24
Enterobacteriaceae	0,24	0,58	0,36
<i>Escherichia coli</i>	0	0,46	0,24
<i>Klebsiella</i> sp	0,24	0,12	0,12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,24	0,12	0
<i>Alcaligenes</i> sp	0	0	0,12
<i>Levinea</i> sp	0	0	0,12
<i>Cromobacterium</i> sp	0,24	0	0,24

N = número de quartos mamários examinados.

% = % de quartos infectados.

Faz = fazenda.

C- = coagulase negativo; C+ = coagulase positivo.

^{a b c}, , = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 17 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados quanto aos microrganismos isolados nas três fazendas. Em relação à ocorrência de infecções por *Staphylococcus* sp, incluindo *Staphylococcus* coagulase positivo, na fazenda 1, esta foi maior ($p < 0,05$) do que nas demais fazendas. A ocorrência de infecções por *Staphylococcus* coagulase negativo, nessa fazenda, foi maior ($p < 0,05$) do que na fazenda 2 e menor ($p < 0,05$) do que na fazenda 3. Na fazenda 3, a ocorrência de infecções por *Staphylococcus* sp foi maior ($p < 0,05$) do que na fazenda 2, sendo que para *Staphylococcus* coagulase positivo não foram detectadas diferenças entre estas duas fazendas. Quanto à ocorrência de infecções por

Staphylococcus coagulase negativo, na fazenda 3 ela foi maior ($p<0,05$) que na fazenda 2.

A fazenda 2 apresentou menor ($p<0,05$) ocorrência de infecções por *Streptococcus* sp e maior ($p<0,05$) ocorrência de infecções por *Corynebacterium* sp que as fazendas 1 e 3. Entre as fazendas 1 e 3 não foram detectadas diferenças estatísticas na ocorrência de infecções por estes microrganismos. Em relação às infecções por *Streptococcus agalactiae*, na fazenda 3, a ocorrência de infecções foi maior ($p<0,05$) do que nas fazendas 1 e 2, sendo que entre essas não foram detectadas diferenças para este microrganismo. Na fazenda 1, a ocorrência de infecções por *Streptococcus dysgalactiae* foi maior ($p<0,05$) que nas fazendas 2 e 3 e entre essas últimas não foram detectadas diferenças na ocorrência das infecções em questão. Quanto às infecções por *Streptococcus uberis*, a fazenda 1 não apresentou diferenças comparada às fazendas 2 e 3, a fazenda 3 apresentou menor ($p<0,05$) ocorrência que a fazenda 2. A Figura 13 ilustra os resultados em questão.

Tabela 18 – Ocorrência de infecções por *Staphylococcus* sp, *Staphylococcus* C+, *Staphylococcus* C- nos três grupos experimentais, nas três fazendas.

Faz 1	N	<i>Staphylococcus</i> sp		<i>Staphylococcus</i> C+		<i>Staphylococcus</i> C-	
		Pos	%	Pos	%	Pos	%
Grupo 1	157	46	29,30 ^a	38	24,20 ^a	6	3,80 ^a
Grupo 2	127	53	41,73 ^b	46	36,22 ^b	6	4,72 ^{a,b}
Grupo 3	129	66	51,16 ^b	50	38,75 ^b	15	11,62 ^b
Total	413	165	39,95	134	32,45	27	6,54
Faz 2							
Grupo 1	279	23	8,24 ^b	3	1,07 ^a	18	6,40 ^b
Grupo 2	296	12	4,05 ^a	3	1,01 ^a	7	2,36 ^a
Grupo 3	287	28	9,76 ^b	20	6,96 ^b	8	2,78 ^a
Total	862	63	7,31	26	3,00	33	3,80
Faz 3							
Grupo 1	269	24	8,92 ^a	9	3,34	14	5,20 ^a
Grupo 2	321	56	17,45 ^b	7	2,18	46	14,33 ^b
Grupo 3	250	47	18,80 ^b	9	3,60	36	14,40 ^b
Total	840	127	15,12	25	2,98	96	11,43

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c}, = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 18 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados nos três grupos experimentais nas três fazendas. Em relação às infecções por *Staphylococcus* sp, nas fazendas 1 e 3, no grupo G1 a ocorrência de infecções foi menor ($p < 0,05$) do que nos demais grupos, sendo que não foram detectadas diferenças entre os grupos G2 e G3. Na fazenda 2, o grupo G2 apresentou menor ($p < 0,05$) ocorrência de infecções por este microrganismo que os grupos G1 e G3 e entre esses últimos não foram detectadas diferenças estatísticas. A Figura 14 ilustra estes resultados.

Quanto às infecções por *Staphylococcus* coagulase positivo, na fazenda 1, o grupo G1 apresentou menor ($p < 0,05$) ocorrência que os grupos G2 e G3, sendo que entre os dois últimos não foram detectadas diferenças estatísticas. Na fazenda 2, o grupo G3 apresentou maior ($p < 0,05$) ocorrência de infecções que os grupos G1 e G2 que não diferiram entre si, enquanto que na fazenda 3 não foram detectadas diferenças estatísticas entre os grupos.

A ocorrência de infecções por *Staphylococcus* coagulase negativo na fazenda 1 foi maior ($p < 0,05$) no grupo G3 do que no grupo G1, sendo que não foram detectadas diferenças entre o grupo G2 e os demais grupos. Na fazenda 2, o grupo G1 apresentou maior ($p < 0,05$) ocorrência de infecções por *Staphylococcus* coagulase negativo comparado aos demais grupos, sendo que na fazenda 3 o grupo G1 apresentou menor ($p < 0,05$) ocorrência de infecções por este microrganismo do que os grupos G2 e G3. Não foram detectadas diferenças estatísticas entre os grupos G2 e G3 nas fazendas 2 e 3.

Tabela 19 – Ocorrência de infecções por *Streptococcus* sp nos três grupos experimentais, nas três fazendas.

	Faz 1 (<i>Streptococcus</i> sp)			Faz 2 (<i>Streptococcus</i> sp)			Faz 3 (<i>Streptococcus</i> sp)		
	N	Pos	%	N	Pos	%	N	Pos	%
Grupo 1	157	42	26,75 ^b	279	12	4,30 ^a	269	46	17,10 ^b
Grupo 2	127	13	10,24 ^a	296	49	16,55 ^b	321	34	10,59 ^a
Grupo 3	129	10	7,75 ^a	287	33	11,50 ^b	250	58	23,20 ^b
Total	413	65	15,74	862	94	10,90	840	138	16,43

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c}, = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

A Tabela 19 apresenta os resultados dos exames microbiológicos realizados nas três fazendas nos três grupos experimentais. A ocorrência de infecções por *Streptococcus* sp, na fazenda 1, foi maior ($p < 0,05$) no grupo G1 do que nos demais. Na fazenda 2, a ocorrência de infecções por *Streptococcus* sp foi menor ($p < 0,05$) no grupo G1 do que nos demais, sendo que não foram detectadas diferenças entre os grupos G2 e G3 nas fazendas 1 e 2. Na fazenda 3, o grupo G2 apresentou menor ($p < 0,05$) ocorrência de infecções por *Streptococcus* sp que os grupos G1 e G3, sendo que entre esses não foram detectadas diferenças estatísticas. A Figura 15 ilustra os resultados descritos.

Tabela 20 – Ocorrência de infecções por *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* nos três grupos experimentais, nas três fazendas.

Faz 1	N	<i>Streptococcus agalactiae</i>		<i>Streptococcus dysgalactiae</i>		<i>Streptococcus uberis</i>	
		Pos	%	Pos	%	Pos	%
Grupo 1	157	4	2,55	25	15,92 ^b	12	7,64 ^b
Grupo 2	127	5	3,94	5	3,94 ^a	1	0,79 ^a
Grupo 3	129	2	1,55	7	5,43 ^a	0	0 ^a
Total	413	11	2,66	37	8,96	13	3,15
Faz 2							
Grupo 1	279	1	0,36 ^a	6	2,15 ^a	5	1,79 ^a
Grupo 2	296	2	0,67 ^{a, b}	29	9,80 ^b	18	6,08 ^b
Grupo 3	287	8	2,79 ^b	12	4,18 ^a	12	4,18 ^{a, b}
Total	862	11	1,28	47	5,45	35	4,06
Faz 3							
Grupo 1	269	22	8,17 ^b	20	7,43	1	0,37 ^a
Grupo 2	321	4	1,25 ^a	16	4,98	12	3,74 ^b
Grupo 3	250	39	15,60 ^c	11	4,40	1	0,40 ^a
Total	840	65	7,74	47	5,60	14	1,66

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c}, = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p < 0,05$.

Na Tabela 20 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados nos três grupos nas três fazendas em relação à ocorrência de infecções por *Streptococcus* separados por espécies. Quanto às infecções por *Streptococcus agalactiae*, na fazenda 1 não foram detectadas diferenças entre os grupos. Na fazenda 2, o grupo G1 apresentou menor ($p < 0,05$) ocorrência de infecções que o grupo G3, sendo que não foram detectadas diferenças entre os grupos G2 e G3 e entre G2 e G1. Na fazenda 3, o grupo G3 apresentou maior ($p < 0,05$) ocorrência de infecções que os grupos G1 e G2, sendo que no grupo G2 a ocorrência foi menor ($p < 0,05$) do que no grupo G1.

Com relação às infecções por *Streptococcus dysgalactiae*, na fazenda 1, a ocorrência de infecções foi maior ($p < 0,05$) no grupo G1 do que nos grupos G2 e G3, sendo que não foram detectadas diferenças entre os mesmos. Na fazenda 2, a ocorrência de infecções foi maior ($p < 0,05$) no grupo G2 do que nos grupos G1 e G3 que não

diferiram entre si. Na fazenda 3 não foram detectadas diferenças estatísticas entre os grupos quanto à ocorrência de infecções por este microrganismo.

A ocorrência de infecções por *Streptococcus uberis*, na fazenda 1, foi maior no grupo G1 do que nos grupos G2 e G3, sendo que não foram detectadas diferenças entre os dois últimos, enquanto que na fazenda 2, foi maior ($p<0,05$) no grupo G2 do que no grupo G1, sendo que entre o grupo G3 e os demais não foram detectadas diferenças. Na fazenda 3, o grupo G2 apresentou maior ($p<0,05$) ocorrência de infecções por *Streptococcus uberis* que os grupos G1 e G3. Não foram detectadas diferenças entre os grupos G1 e G3.

Tabela 21 – Ocorrência de infecções por *Corynebacterium* sp nos três grupos experimentais, nas três fazendas.

	Faz 1 (<i>Corynebacterium</i> sp)			Faz 2 (<i>Corynebacterium</i> sp)			Faz 3 (<i>Corynebacterium</i> sp)		
	N	Pos	%	N	Pos	%	N	Pos	%
Grupo 1	157	16	10,19 ^a	279	78	27,96 ^{a, b}	269	40	14,87 ^a
Grupo 2	127	25	19,69 ^b	296	63	21,28 ^a	321	77	23,99 ^b
Grupo 3	129	24	18,60 ^{a, b}	287	95	33,10 ^b	250	42	16,80 ^a
Total	413	65	15,74	862	236	27,38	840	159	18,93

N = número de quartos mamários examinados.

Pos = número de quartos que apresentaram resultados positivos.

% = porcentagem de quartos positivos.

^{a b c}, , = letras diferentes ressaltam diferenças estatísticas para $p<0,05$.

Na Tabela 21 estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados nos três grupos, nas três fazendas, quanto à ocorrência de infecções por *Corynebacterium* sp. Na fazenda 1, o grupo G1 apresentou menor ($p<0,05$) ocorrência que o grupo G2, sendo que não foram detectadas diferenças entre o grupo G3 e os demais grupos. Na fazenda 2, o grupo G2 apresentou menor ($p<0,05$) ocorrência que o grupo G3, sendo que não foram detectadas diferenças entre o grupo G1 e os demais grupos, enquanto na fazenda 3, a ocorrência de infecções por *Corynebacterium* sp foi maior ($p<0,05$) no grupo G2 do que nos grupos G1 e G3 e entre os dois últimos não foram detectadas diferenças. A Figura 16 ilustra os resultados obtidos.

Tabela 22- Análises sorológicas de selênio.

	Pré-parto		Pós -parto	
	Média	DP	Média	DP
Grupo 1	0,047	0,0113	0,035	0,0018
Grupo 2	0,054	0,0200	0,065	0,0180
Grupo 3	0,052	0,0082	0,048	0,0114
Fazenda 1	0,054	0,0077	0,060	0,0230
Fazenda 2	0,045	0,0110	0,048	0,0097
Fazenda 3	0,056	0,0200	0,050	0,0190
Total	0,052	0,0140	0,053	0,0177

DP= desvio padrão.

Amostra = 20 % dos animais.

Resultados expressos em ppm.

Na Tabela 22 estão os resultados dos exames das análises sorológicas de selênio. Pela análise desses resultados não foram detectadas diferenças estatísticas entre as concentrações séricas pré e pós-parto de todos os animais amostrados, pré e pós-parto dentro de cada grupo experimental e entre os grupos no período pré-parto e no período pós-parto.

6 DISCUSSÃO

Com o intuito de avaliar a situação da mastite nos animais que participariam do experimento, foram feitos exames nos animais antes da secagem, na lactação que antecedeu a suplementação com vitamina E. Neste período, foram detectadas diferenças estatísticas somente em relação às infecções intramamárias, sendo que o grupo G3 apresentou maior ($p<0,05$) ocorrência que os demais grupos. Os animais em questão foram tratados com antibióticos formulados especificamente para o tratamento de vacas secas, no momento da interrupção da lactação, e já na primeira colheita pós-parto não foram detectadas diferenças estatísticas na ocorrência de infecções entre os grupos.

Comparando-se os resultados dos exames realizados antes da secagem com os do pós-parto, observou-se uma tendência de menor ocorrência de mastite clínica e de mastite subclínica e uma ocorrência de infecções significativamente menor ($p<0,05$) nos exames realizados pós-parto, em todos os grupos. Esses resultados mostram não ter havido interferências da ocorrência de mastite na lactação que antecedeu a suplementação no comportamento dos grupos durante o experimento (Tabelas 5 e 6).

Os resultados obtidos no presente estudo, com relação aos exames de tamis nos animais dos três grupos experimentais, demonstraram que a ocorrência de mastite clínica, durante toda a lactação, no grupo controle foi 57% e 50% maior ($p<0,05$) do que no grupo G2 e no grupo G3, respectivamente, sendo que não foram detectadas diferenças entre os grupos suplementados. SMITH et al. (1984) encontraram uma redução de 37% na mastite clínica, durante a lactação, com a suplementação de 0,74g de vitamina E.

Com a possível inibição da produção de superóxidos, pode ter ocorrido, consequentemente, uma inibição da cascata do ácido aracdônico que se encontra esterificado nas membranas celulares sendo que, na deficiência de vitamina E, devido à maior presença de oxidantes intracelulares, há uma maior liberação e ativação da cascata do ácido

aracdônico (SMITH et al., 1997; COSTA, 1999). Tal ativação ocorre por duas vias principais: cicloxagenase e lipoxagenase.

A via cicloxagenase determina a liberação de metabólitos, as prostaglandinas, os tromboxanos e os leucotrienos que são potentes mediadores de inflamação com ação local e sistêmica. A resposta inflamatória, muito embora constitua uma reação de defesa do organismo, pode induzir a redução da habilidade secretora da glândula. Evitando-se a liberação do ácido aracdônico, previne-se ou, pelo menos, reduz-se a inflamação e os sintomas da mastite: edema, dor, calor, rubor ou ainda comprometimento sistêmico e alteração visível no leite (COSTA, 1999), o que explicaria a menor ocorrência de mastite clínica nos animais suplementados.

A vitamina E parece ser especialmente importante para a saúde da glândula mamária durante o período periparto. As concentrações plasmáticas de α -tocoferol começam a cair do 7º ao 10º dia antes do parto e permanecem baixas do 3º ao 5º dia depois do parto e, a partir deste período, começam a aumentar (HOGAN et al., 1990; SMITH et al., 1997).

Da mesma forma, os resultados dos exames tamis na primeira semana de lactação mostraram que a ocorrência de mastite clínica foi 70% menor ($p < 0,05$) nos grupos suplementados comparados ao grupo controle, sendo que não foram detectadas diferenças entre os grupos G2 e G3. WEISS et al. (1997) observaram uma redução de 88% na mastite clínica nos animais suplementados com vitamina E em doses elevadas (1000 UI de 60 a 16 dias antes do parto, 4000 UI desse dia até o parto e 2000 UI no pós-parto) comparados aos do grupo controle que receberam 100 UI/dia durante este período. Estes resultados refletem, provavelmente, a ação da suplementação da vitamina E na defesa das membranas, reduzindo a ativação do ácido aracdônico e, conseqüentemente, os sinais de inflamação. Nos estudos de BATRA et al. (1992) e ERSKINE et al. (1997) não foram detectadas diferenças na ocorrência da mastite clínica entre os grupos com ou sem suplementação.

Por outro lado, a via lipoxagenase é a responsável pela resposta imune como, por exemplo, na mastite infecciosa, durante a qual, seguindo-se à invasão do tecido glandular por microrganismos, células fagocitárias provenientes da corrente circulatória dirigem-se

para a glândula mamária para combater os microrganismos pela fagocitose. Estas células são predominantemente polimorfonucleares neutrófilos (THIERS, 1999). Os metabólitos do ácido aracdônico são importantes para o funcionamento dos polimorfonucleares neutrófilos e, portanto, para a ampliação da resposta imunitária (COSTA, 1999).

A inibição da via lipoxagenase poderia constituir uma explicação plausível para os resultados obtidos com os exames de CMT em relação à ocorrência de mastite subclínica, uma vez que o CMT representa o nível de células somáticas. Como visto na Tabela 9, não se verificaram diferenças entre os grupos experimentais na ocorrência de mastite subclínica. ZANETTI et al. (1998) também não encontraram diferenças na ocorrência de mastite subclínica com a suplementação de 500 UI de vitamina E. BATRA et al. (1992) verificaram uma redução na CCS somente no 112º dia da lactação no grupo suplementado e não encontraram diferenças no nível de quartos CMT positivos, confirmando assim nossos resultados. JUKOLA et al. (1996) não detectaram associações entre concentrações séricas de vitamina E e CCS.

Os resultados dos exames microbiológicos realizados nos animais dos três grupos experimentais demonstraram que no grupo controle a ocorrência de infecção foi significativamente menor ($p < 0,05$) do que nos grupos G2 e G3, sendo que no G2 foi menor que no G3 (Tabela 10). Como a inibição da via lipoxagenase leva a uma diminuição da resposta imune na glândula mamária, a maior ocorrência de infecções poderia ser explicada pela quantidade insuficiente de células aptas a destruírem os microrganismos. Comparando-se os resultados em relação à ocorrência de mastite subclínica com a ocorrência de infecções, podemos observar que não houve um aumento correspondente de células somáticas ao de infecções, reforçando assim a hipótese em questão.

WEISS et al. (1997) observaram que a ocorrência de infecções intramamárias foi menor nos animais que receberam alta suplementação de vitamina do que nos da suplementação intermediária e nos do controle, contrariando nossos resultados. Estes autores não encontraram diferenças na incidência de infecção entre o controle e a suplementação intermediária. JUKOLA et al. (1996) não encontraram associações entre as concentrações séricas de vitamina E e a ocorrência de infecções intramamárias.

Em relação às mastites por *Staphylococcus* sp, verificou-se que no grupo G3 a ocorrência foi significativamente maior ($p < 0,05$) que nos demais, isto é, 30% e 60% maior que em G2 e G1, respectivamente. Entre os grupos G2 e G1 não foram detectadas diferenças (Tabela 11). O grupo com alta suplementação também apresentou maior ocorrência de infecções por *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus* coagulase negativo que o grupo controle.

NDIWENI & FINCH (1996) verificaram *in vitro* que concentrações muito altas de vitamina E apresentaram um efeito inibitório na produção de superóxido, o que explicaria a maior ocorrência de infecções observada no grupo com alta suplementação, por *Staphylococcus* sp que, muitas vezes, apresentam-se como intracelulares facultativos, com alta viabilidade no interior dos fagócitos. Os autores observaram também que, até certo nível de concentração, a vitamina E aumenta a fagocitose de *Staphylococcus aureus*, sendo que altas doses não apresentaram diferenças quando comparadas à ausência de suplementação.

Em contraposição, HOGAN et al. (1990) observaram que a vitamina E aumentou a lise intracelular de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* por ação dos neutrófilos. Segundo estes autores, quando as concentrações plasmáticas de α -tocoferol são mantidas durante o período periparto por injeções de α -tocoferol, a lise intracelular de patógenos pelos neutrófilos sangüíneos é ampliada.

POLITIS et al. (1996) comparando o grupo não suplementado com o grupo recebendo uma suplementação de 3000 UI de vitamina E, durante quatro semanas antes do parto e oito semanas após o parto, não detectaram diferenças na produção de superóxido, sendo que foram equivalentes em ambos os grupos. O fato dos níveis de superóxido produzidos pelos fagócitos não diferirem com a suplementação poderia explicar a não diminuição da incidência de infecções, uma vez que este é um dos mecanismos de destruição dos microrganismos.

BATRA et al. (1992) utilizando doses semelhantes às do grupo G2 do presente estudo (1000 UI/dia), no período pré-parto, não encontraram diferenças no nível de infecção, inclusive por *Staphylococcus aureus*, em relação ao grupo controle. WEISS et al.

(1997) observaram um menor nível de infecção por *Staphylococcus* sp para o grupo intermediário (suplementado com 1000 UI/dia pré-parto e 500 UI/dia pós-parto) comparado ao controle sendo que, as infecções causadas por outros patógenos foram maiores no grupo intermediário quando comparado ao controle. No presente estudo, entre o grupo G2 e o grupo G1 não foram detectadas diferenças na ocorrência de infecções por *Staphylococcus* sp, por *Streptococcus* sp e por *Corynebacterium* sp.

Em relação às mastites por *Streptococcus* sp, não se detectaram diferenças entre os três tratamentos. Quanto às mastites por *Streptococcus agalactiae*, o grupo controle apresentou menor ocorrência do que o grupo G3 e maior ocorrência frente ao grupo G2, sendo que para *Streptococcus dysgalactiae*, o grupo controle apresentou maior ocorrência do que o grupo G3 e para *Streptococcus uberis*, o grupo com suplementação intermediária apresentou maior ocorrência de infecções quando comparado ao grupo G3. BATRA et al. (1992) isolaram *Streptococcus* sp somente no grupo suplementado e WEISS et al. (1997) observaram uma alta ocorrência de infecções por tal microrganismo em primíparas suplementadas com doses intermediárias.

Em relação às mastites por *Corynebacterium* sp, verificou-se que no grupo que recebeu alta suplementação a ocorrência foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que no grupo controle, correspondendo a um aumento de 27%.

Ao analisar as fazendas separadamente, observou-se que a ocorrência de mastite clínica foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo controle em relação aos demais somente na fazenda 2 (Tabela 14), sendo que nas outras fazendas não foram detectadas diferenças entre os grupos, sugerindo que influências da suplementação de vitamina E na ocorrência de mastite podem ser obtidas quando todas as práticas adequadas de manejo são adotadas. Além disso, os diferentes resultados obtidos na literatura evidenciam que outros fatores, que não a suplementação de vitamina E, podem ter influência na incidência de mastite e no sucesso do controle da mesma, tal a complexidade desta doença.

Quanto às infecções intramamárias, no grupo com alta suplementação a ocorrência das mesmas foi maior ($p < 0,05$) do que no grupo controle em todas as fazendas, sendo que

entre os grupos G1 e G2 não foram detectadas diferenças nas fazendas 1 e 2. Estes resultados sugerem um efeito inibitório na resposta imune de altas doses de vitamina E. NDIWENI & FINCH (1996) verificaram, *in vitro*, que concentrações muito altas de vitamina E apresentaram efeito inibitório na produção de superóxido, o que explicaria a maior ocorrência de infecções observada no grupo com alta suplementação, já que um dos mecanismos celulares de destruição de patógenos é através da ação dos superóxidos.

Observando os resultados obtidos, não foi detectada maior ocorrência de mastite subclínica no grupo com alta suplementação vitamínica, em todas as fazendas, resultado que seria esperado devido à maior ocorrência de infecções no grupo em questão, que levaria ao aumento de células somáticas na glândula como resposta à invasão de patógenos.

Ao analisar a ocorrência de infecções pelos microrganismos, separadamente, podemos observar que houve uma predominância de menor ($p < 0,05$) ocorrência de infecções no grupo controle em relação ao grupo que recebeu alta suplementação: *Staphylococcus* coagulase positivo (fazendas 1 e 2), *Staphylococcus* coagulase negativo (fazendas 1 e 3), *Streptococcus agalactiae* (fazendas 2 e 3). O grupo controle apresentou maior ($p < 0,05$) ocorrência de infecções em relação aos grupos suplementados para: *Staphylococcus* coagulase negativo (fazenda 2), *Streptococcus agalactiae* (fazenda 3), *Streptococcus dysgalactiae* (fazenda 1), *Streptococcus uberis* (fazenda 1). O grupo que recebeu suplementação intermediária apresentou maior ($p < 0,05$) ocorrência de infecções em relação aos demais para: *Streptococcus dysgalactiae* (fazenda 2), *Streptococcus uberis* (fazendas 2 e 3) e *Corynebacterium* sp (fazendas 1 e 3). Pela análise destes resultados, confirmam-se os efeitos indesejáveis da alta dosagem quanto à ocorrência de infecções.

Quanto à distribuição dos microrganismos causadores de mastite nas fazendas, observou-se que na fazenda 1 a ocorrência de infecções por *Staphylococcus* sp foi maior que nas fazendas 2 e 3, inclusive por *Staphylococcus* coagulase positivo. Na primeira fazenda, tanto o grupo que recebeu suplementação intermediária, quanto o grupo que recebeu alta suplementação apresentaram maior ($p < 0,05$) ocorrência de infecções por tais microrganismos comparados ao grupo controle. Contrariando estes resultados, NDIWENI & FINCH (1996) observaram *in vitro*, que até certo nível de concentração, a vitamina E

aumentou a fagocitose de *Staphylococcus aureus*, sendo que altas doses não apresentaram diferenças quando comparadas à ausência de suplementação. HOGAN et al. (1990) observaram um aumento na lise intracelular de *Staphylococcus aureus* e não detectaram diferenças na habilidade fagocitária dos neutrófilos com a suplementação de 600 UI/dia de vitamina E.

Na fazenda 2, a ocorrência de infecções por *Staphylococcus* sp e por *Streptococcus* sp foi menor ($p < 0,05$) do que nas fazendas 1 e 3, enquanto a ocorrência de infecções por *Corynebacterium* sp ($p < 0,05$) foi maior do que nas demais. A fazenda em questão foi a única que apresentou, no grupo controle, maior nível de mastite clínica (em relação aos grupos G2 e G3) e subclínica (em relação ao grupo G2). Apesar do grupo controle não ter diferido dos demais grupos quanto à ocorrência de infecções por *Corynebacterium* sp, estes resultados indicam uma possível interferência da suplementação de vitamina E nas mastites por tal microrganismo, diminuindo os sinais clínicos das mesmas.

Em relação às possíveis interações entre vitamina E e selênio, em alguns estudos estas não foram detectadas, como o de SMITH et al. (1984) que não encontraram efeitos sinérgicos entre os mesmos na ocorrência de mastite clínica, o de HOGAN et al. (1990) que não observaram interações dos nutrientes em questão na lise intracelular de patógenos e na habilidade fagocitária dos neutrófilos e o de NDIWENI & FINCH (1996) que não detectaram os efeitos sinérgicos na quimiotaxia, na migração casualizada e na produção de superóxidos pelos polimorfonucleares.

Entretanto, a literatura cita que os requerimentos de vitamina E e de selênio são dependentes da concentração de cada um deles na dieta. A vitamina E é conhecida por reduzir o requerimento de selênio, prevenindo a destruição das membranas lipídicas, reduzindo a quantidade de glutathione peroxidase necessária à destruição de peróxidos formados no citosol, mantendo, assim, a capacidade celular de destruir patógenos. O selênio é conhecido por poupar a vitamina E através da glutathione peroxidase, reduzindo a quantidade requerida da mesma para a manutenção da integridade das membranas lipídicas (SMITH et al., 1997).

Devido às interações entre estes nutrientes foram feitas as análises das concentrações de selênio no soro e nos alimentos fornecidos aos animais.

Segundo GERLOFF (1992) e o NRC (1989) é necessária uma ingestão diária de 0,3 mg de selênio/kg de matéria seca para se obter uma concentração sérica adequada do elemento. As dietas fornecidas nas fazendas onde foi conduzido o experimento continham concentrações um pouco maiores que 0,3 ppm (Tabela 4), suficientes para suprir as exigências dos animais.

O selênio plasmático ou sérico é considerado um bom indicador do elemento no organismo se o animal for mantido sob constante ingestão do mineral, sendo considerado crítico para bovinos quando as concentrações forem menores do que 0,03-0,04 µg/ml (Mc DOWELL et al., 1996). No presente estudo os níveis séricos médios de selênio foram de 0,052 ppm e de 0,053 ppm no 30º dia antes do parto previsto e no dia do parto, respectivamente (Tabela 22), sendo similares aos níveis encontrados nos animais suplementados no trabalho feito por ZANETTI et al. (1998) onde foi observado um aumento significativo no dia do parto para os níveis séricos de selênio de vacas suplementadas com 5mg do mineral, 30 dias antes do parto e durante a lactação, comparadas aos grupos não suplementados (0,057 e 0,068 ppm e 0,029 e 0,028 ppm, respectivamente). Os resultados obtidos demonstram um nível sérico adequado de selênio nos animais experimentais.

WEISS et al. (1997) alimentando vacas com dietas contendo 0,1 ppm de selênio, encontraram concentrações plasmáticas de 0,05 ppm, similares às encontradas neste trabalho. Com a mesma suplementação, BATRA et al. (1992) encontraram valores inferiores, quais sejam, o de 0,035 ppm e o de 0,027 ppm para vacas secas e em lactação, respectivamente. GERLOFF (1992) discute, em sua revisão, as variações nas respostas à suplementação de selênio. Comparando-se três estudos que utilizaram concentrações de 0,2 ppm do elemento na dieta, foram observadas concentrações séricas que variaram de 0,04 ppm a concentrações maiores que 0,1 ppm. Em outro estudo, citado pelo mesmo autor, envolvendo sete rebanhos onde os animais foram suplementados com 6 mg de selenito de

sódio/animal/dia, foram encontradas concentrações séricas de selênio médias que variaram de 0,058 a 0,091 ppm.

A avaliação do conjunto de resultados obtidos aliada ao fato de que vários autores têm referido que os prejuízos causados pela mastite subclínica podem ser superiores aos da clínica, levam a considerar que a redução na sintomatologia da infecção, com consequente diminuição dos casos clínicos, sem que haja a correspondente diminuição da mastite subclínica e a da ocorrência de infecções, poderá mascarar a real situação desta doença no rebanho, aumentando ainda mais os custos.

7 CONCLUSÕES

- Com relação à ocorrência de mastite clínica, a suplementação de vitamina E apresentou um efeito favorável, uma vez que o grupo não suplementado apresentou uma maior ocorrência desta.
- Com relação à ocorrência de mastite subclínica, a suplementação com vitamina E não apresentou qualquer efeito, sendo que não foram detectadas diferenças entre os três grupos avaliados.
- A suplementação de vitamina E em alta concentração apresentou resultados negativos com relação ao nível de infecções, sendo que a maior ocorrência de infecções intramamárias foi detectada no grupo que recebeu a suplementação de vitamina E em dose mais elevada.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDASSI, L.; FILHO, M.F.; HIPÓLITO, M.; MOLIN, A.A.P.; CALIL, E.M.B.; PIRES, D.C. Etiologia da mastite subclínica na bacia leiteira de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 58, p. 29-36, 1991.
- BATRA, T.R.; HIDIROGLOU, M.; SMITH, M.W. Effect of vitamin E on incidence of mastitis in dairy cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 72, n. 2, p. 287-297, 1992.
- BARRET, J.J.; HOGAN, J.S.; WEISS, W.P.; SMITH, K.L.; SORDILLO, L.M. Concentrations of α -tocoferol after intramammary infusion of *Escherichia coli* or lipopolysaccharide. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2826-2832, 1997.
- BENEKE, E.S.; ROGERS, A.L. **Medical micology manual**. 3. ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1970. 226 p.
- BRAMLEY, A.J.; DODD, F.H. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control progress and prospects. **Journal Dairy Research**, v. 51, p. 481-512, 1984.
- BRAMLEY, A.J. Mastitis. In: ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H.; EDDY, R.G. **Bovine medicine diseases and husbandry of cattle**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1992. p. 289-300.
- CAMARGO, Z.P.; FISCHMAN, O. Use of morphophysiological characteristics for differentiation of the species of *Prototheca*. **Sabouraudia**, v. 17, p. 275-278, 1979.
- CAPUCO, A.V.; PAAPE, M.J.; NICKERSON, S.C. In vitro study of polymorphonuclear leukocyte damage to mammary tissues of lactating cows. **Animal Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 3, p. 663-668, 1986.

- CHEW, N.K. Beta-carotene, other carotenoids push immunity defense. **Feedstuffs**, v. 66, n. 18, p. 17-20; 49-50, 1994.
- COSTA, E.O.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; TEIXEIRA, C.M.; GAMBALE, W.; GANDRA, C.R.P.; PIRES, M.F.C. Etiologia bacteriana da mastite bovina no Estado de São Paulo. **Revista de Microbiologia**, v. 17, p. 107-12, 1986.
- COSTA, E.O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 15, n. 1, p. 21-26, 1991.
- COSTA, E.O.; BENITES, N.R.; CARCIOFI, A.C.; MELVILLE, P.A.; PRADA, M.S.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Survey on the etiology of intramammary infections in dairy cattle. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 18., Bolonha, Itália, 1994a. **Proceedings**, p. 853-855.
- COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; WHITE, C.R.; PARDO, R.B.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Mastite bovina: índices de mastite clínica e subclínica. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 14., Acapulco, México, 1994b. **Anais**. p. 45.
- COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; WHITE, C.R.; PARDO, R.B. Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 17, n. 5, p. 215-217, 1995a.
- COSTA, E.O.; BENITES, N.R.; MELVILLE, P.A.; PARDO, R.B.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 156-158, 1995b.
- COSTA, E.O.; LUCCI, C.S.; ABE, S.Y.; WHITE, C.R.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; GABALDI, S.A.; SA FILHO, R. Influência da suplementação de selênio na

- incidência de mastite. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 169-172, 1997.
- COSTA, E.O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista Educação Continuada**, São Paulo, CRMV, v. 1, p. 3-9, 1998.
- COSTA, E.O.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; SILVA, J.A.B.; GARINO, J.R.F.; BENITES, N.R.; HORIUTI, A.M. Mastite subclínica: prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. **Revista NAPGAMA**, v. 2, n. 2, p. 16-20, 1999.
- COSTA, E.O. Tirando as dúvidas: antiinflamatórios hormonais e não hormonais. **Revista NAPGAMA**, v. 2, n. 3, p. 25-26, 1999.
- COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L.; SCHOEN, F.J. Environmental and nutrition diseases. In: **Robbins: pathologic basis of disease**. 5. ed., London: WB Saunders Company, 1994. p. 379-430.
- CULLOR, J.S. The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis. **Veterinary Medicine**, p. 571-579, jun. 1993.
- EBERHART, R.J. Management of dry cows to reduce mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 1721-1732, 1986.
- EBERHART, R.J. New infection in the dry period. In: ANNUAL MEETING NATIONAL MASTITES COUNCIL, 21., Louisville, USA, 1992. p.15-18.
- ERSKINE, R.J.; BARTLETT, P.C.; HERDT, T.; GASTON, P. Effects of parenteral administration of vitamin E on health of periparturient dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 211, n. 4, p. 466-469, 1997.
- GERLOFF, B.J. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. **Journal Animal Science**, v. 70, p. 3934-3940, 1992.
- GRAPHPAD INSTAT (1990-1993). "Software" empregado para análise estatística.

- HIDIROGLOU, M.; SINGH, K. Plasma α -tocopherol profiles in sheep after oral administration of dl- α -tocopherol acetate and d- α -tocopheryl succinate. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 8, p. 2718-2723, 1991.
- HIDIROGLOU, N.; LAFLAMME, L.F.; MC DOWELL, L.R. Blood plasma and tissue concentration of vitamin E in beef cattle as influenced by supplementation of various tocopherol compounds. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 3227-3234, 1988.
- HIDIROGLOU, N.; MC DOWELL, L.R.; PAPAS, A.M.; ANTAPLI, M.; WILKINSON, N.S. Bioavailability of vitamin E compounds in lambs. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 2556-2561, 1992.
- HOGAN, J.S.; SMITH, K.L.; WEIS, W.P.; TODHUNTER, D.A.; SHOCKEY, W.L. Relationships among vitamin E, selenium, and bovine blood neutrophils. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 2372-2378, 1990.
- HOGAN, J.S.; WEISS, W.P.; SMITH, K.L. Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 2795-2803, 1993a.
- HOGAN, J.S.; WEISS, W.P.; SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Vitamin E as an adjuvant in an *Escherichia coli* J5 vaccine. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 401-407, 1993b.
- HOGAN, J.S.; WEISS, W.P.; SMITH, K.L.; SORDILLO, L.M.; WILLIAMS, S.N. α -Tocopherol concentrations in milk and plasma during clinical *Escherichia coli* mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 1, p. 71-75, 1996.
- JUKOLA, E.; HAKKARAINEN, J.; SALONIEMI, H.; SANKARI, S. Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and β -carotene concentrations and udder health, fertility treatments, and fertility. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 5, p. 838-845, 1996.

- KIRK, J.H.; DEGRAVES, F; TYLER, J. Recent progress in treatment and control of mastitis in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 204, p. 1152-1158, 1994.
- KREEGER-VAN-RIG, N.J.W. **The yeasts: a taxonomic study**. 3. ed. New York: Elviesier, 1984.1082 p.
- KRIEG, N.R.; HOLT, J.C. **Bergey's manual of sistematic bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994. 2298 p.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; PINTO, M.P.; LISTONI, F.J.P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 43, p. 507-515, 1991.
- McDONALD, J.S. Streptococcal and staphylococcal mastitis. **Veterinary Clinical North American: large animal practice**, v. 6, p. 269-285, 1984.
- McDOWELL, L.R. Vitamina E. In: **Vitamins in animal nutrition**. San Diego: Academic Press, 1989. Cap. 4, p. 93-131.
- McDOWELL, L.R.; WILLIAMS, S.N.; HIDIROGLOU, N.; NJERU, C.A.; HILL, G.M.; OCHOA, L.; WILKINSON, N.S. Vitamin E supplementation for the ruminant. **Animal Feed Science Technology**, v. 60, p. 273-296, 1996.
- MELVILLE, P.A. **Estudos sobre algas do gênero *Prototheca* isoladas do leite e de infecções intramamárias em bovinos leiteiros**. São Paulo, 1995. 94 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- MILLER, G.Y.; BARTLETT, P.C.; ERSKINE, R.J.; SMITH, L.K. Factors affeting serum selenium and vitamin E concentrations in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 206, n. 9, p. 1369-1373, 1995.

- MILLER, J.K.; BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E.; MADSEN, F.C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 2812-2823, 1993.
- MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. **Manual of clinical microbiology**. 7. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999. 1773 p.
- NACIONAL MASTITIS COUNCIL. **Current concepts of bovine mastitis**. 2. ed. Washington, 1978. 47 p.
- NACIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington: National Academy of Sciences, 1989. 157 p.
- NACIONAL RESEARCH COUNCIL. **Vitamin tolerance of animals**. Washington: National Academy Press, 1987. p. 23-30.
- NADER FILHO, A.; SCHOKEN-ITURRINO, R.P.; ROSSI JUNIOR, O.D.; CEMBRANELLI, E.M. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, p. 53-56, 1985.
- NDIWENI, N.; FINCH, J.M. Effects of in vitro supplementation with α -tocoferol and seleniu on bovine neutrophil functions: implications for resistance to mastitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 51, p. 67-78, 1996.
- NICKERSON, S.C. Immunological aspects of mammary involution. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 1665-1678, 1989.
- NJERU, C.A.; McDOWELL, L.R.; WILKINSON, N.S.; LINDA, S.B.; WILLIAMS, S.N.; LENTZ, E.L. Serum α -tocoferol concentration in sheep after intramuscular injection de dl- α -tocoferol. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 2562-2567, 1992.

- NJERU, C.A.; McDOWELL, L.R.; WILKINSON, N.S.; WILLIAMS, S.N. Assessment of vitamin E nutritional status in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 3207-3212, 1994.
- NJERU, C.A.; McDOWELL, L.R.; SHIREMAN, R.M.; WILKINSON, N.S.; ROJAS, L.X.; WILLIAMS, S.N. Assessment of vitamin E nutritional status in yearling beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 1440-1448, 1995.
- NOCKELS, C.F. Antioxidants improve cattle immunity following stress. **Animal Feed Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 59-68, 1996.
- OCHOA, L.; McDOWELL, L.R.; WILLIAMS, S.N.; WILKINSON, N.; BOUCHER, J.; LENTZ, E.L. α -Tocoferol concentrations in serum and tissues of sheep fed different sources of vitamin E. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 2568-2573, 1992.
- OLSON, O.E.; PALMER, I.S.; CARY, E.E. Modification of de official fluometric method for selenium in plants. **Journal AOAC**, v. 58, p. 117-121, 1975.
- PANKEY, J.M.; DRECHSLER, P.A. Evolution of udder hygiene: premilking teat sanitation. **Veterinary Clinical North American**, v. 9, p. 519-530, 1993.
- PHILPOT, W.N. Economics of mastitis control. **Veterinary Clinical North American: large animal practice**, v. 6, p. 233-245, 1984.
- POLITIS, I.; HIDIROGLOU, N.; WHITE, J.H.; GILMORE, J.A.; WILLIAMS, S.N.; SCHERF, H.; FRIGG, M. Effects of vitamina E on mammary and blood leukocyte function, with emphasis on chemotaxis, in periparturient dairy cows. **Animal Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 4, p. 468-471, 1996.
- RADOSTITIS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. Mastitis control in dairy herds. In: **Head health food animal production medicine**, 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 229-276.

- RENEAU, J.K. Clinical mastitis records in production medicine programs. **Compendium on Continuing Education-Food Animal Practice**, v.15, p. 497-503, mar. 1993.
- SANDHOLM, M.; KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S. Bovine mastitis -why does antibiotic therapy not always work? an overview. **Journal Veterinary Pharmacol. Ther.**, v. 13, p. 248-260, 1990.
- SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.O. Experimental and observations leading to developing of California mastitis test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 139, p. 199-204, 1957.
- SHEPHERD, H. Milking machine testing and mastitis. In: WORLD BUIATRICS MASTITIS WORKSHOP & SEMINARS, 19., Edinburgh, 6-10 jul. 1996, p.16-18.
- SMITH, L.K.; HARRISON, J.H.; HANCOCK, D.D.; TODHUNTER, D.A.; CONRAD, H.R. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 6, p. 1293-1300, 1984.
- SMITH, K.L.; TODHUNTER, P.A.; SCHONBERGER, P.S. Environmental pathogens and intramammary infections during the dry period. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 402-404, 1985.
- SMITH, L.K.; HOGAN, J.S.; WEISS, W.P. Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1659-1665, 1997.
- SORDILLO, L.M.; NICKERSON, S.C. Morphologic changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. **Animal Journal of Veterinary Research**, v. 49, n. 7, p. 1112-1120, 1988.
- SORDILLO, L.M.; NICKERSON, S. C.; AKERS, R.M. Pathology of *Staphylococcus aureus* mastitis during lactogenesis: relationships with bovine mammary struture and function. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 228-240, 1989.

- SORDILLO, L.M.; SHAFER-WEAVER, K.; DeROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1851-1865, 1997.
- THIERS, F.O. **Análise do conteúdo de células somáticas de amostras de leite de bovinos leiteiros em diferentes fases da lactação e do tanque de expansão de propriedades produtoras de leite do estado de São Paulo e Minas Gerais.** São Paulo, 1999. 129 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- VAN SAUN, R.J. Rational approach to selenium supplementation essencial. **Feedstuffs**, v. 62, n. 3, p.15-17, 1990.
- WATTS, J.L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 16, p. 41-59, 1988.
- WEISS, W.P.; TODHUNTER, D.A.; HOGAN, J.S.; SMITH, K.L. Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 11, p. 3187-3194, 1990.
- WEISS, W.P.; HOGAN, J.S.; SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A. Effect of vitamin E in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1728-1737, 1997.
- WEISS, M.P.; HOGAN, J.S.; SMITH, K.L. Here's the latest on vitamin E and selenium. **Hoards Dairyman**, p.329, apr. 1998.
- ZANETTI, M.A.; NEUNHAUS, L.E.D.; SCHALCH, E.; MARTINS, J.H. Efeitos da suplementação de selênio e vitamina E em bovinos leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 2, p. 405-408, 1998.

ANEXOS - RESULTADOS DOS EXAMES EFETUADOS POR COLHEITA

Obs.: ordem de colheita 1= 1ª colheita após o parto, ordem de colheita de 2 a 9 = colheitas mensais efetuadas a partir do 1º mês de lactação.

Anexo 1 - Resultados dos exames de Tamis por grupo.

Grupo 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - positivo	1	2	4	0	2	0	0	0	0	9
Faz 2 - Grupo 1 - positivo	13	6	9	4	3	5	2	2	1	45
Faz 3 - Grupo 1 - positivo	7	2	1	4	3	0	3	0	0	20
Total - Grupo 1 - positivo	21	10	14	8	8	5	5	2	1	74
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1- total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz 2 - Grupo 1 - total	43	43	39	39	39	39	19	19	11	291
Faz 3 - Grupo 1 - total	40	40	40	40	35	28	24	24	12	283
Total - Grupo 1	106	106	102	99	94	87	59	55	27	735
% de quartos positivos - Grupo 1	20	9	14	8	9	6	8	4	4	10
Grupo 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - positivo	1	1	1	1	1	1	1	0	0	7
Faz 2 - Grupo 2 - positivo	1	1	1	2	1	0	1	0	0	7
Faz 3 - Grupo 2 - positivo	4	3	5	5	7	3	6	2	0	35
Total - Grupo 2 - positivo	6	5	7	8	9	4	8	2	0	49
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2- total	19	19	19	15	15	15	15	11	4	132
Faz 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz 3 - Grupo 2 - total	44	44	44	44	43	40	36	28	8	331
Total - Grupo 2	103	103	103	99	98	95	83	63	20	767
% de quartos positivos - Grupo 2	6	5	7	8	9	4	10	3	0	6
Grupo 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - positivo	0	2	1	2	0	1	0	0	0	6
Faz 2 - Grupo 3 - positivo	4	2	1	2	4	4	3	2	0	22
Faz 3 - Grupo 3 - positivo	2	2	1	1	5	3	2	2	1	19
Total - Grupo 3 - positivo	6	6	3	5	9	8	5	4	1	47
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3- total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	40	40	40	28	20	8	296
Faz 3 - Grupo 3 - total	35	35	35	35	35	35	28	16	16	270
Total - Grupo 3	94	94	94	94	94	94	67	40	24	695
% de quartos positivos - Grupo 3	6	6	3	5	10	9	7	10	4	7
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
% quartos pos. Grupo 1 - total	20	9	14	8	9	6	8	4	4	10
% quartos pos. Grupo 2 - total	6	5	7	8	9	4	10	3	0	6
% quartos pos. Grupo 3 - total	6	6	3	5	10	9	7	10	4	7

Anexo 2 - Resultados dos exames de Tamis por fazenda.

FAZENDA 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - % quartos pos.	4	9	17	0	10	0	0	0	0	6
Faz. 1 - Grupo 2 - % quartos pos.	5	5	5	7	7	7	7	0	0	5
Faz. 1 - Grupo 3 - % quartos pos.	0	11	5	11	0	5	0	0	-	5
Faz 1 - total - % quartos pos.	3	8	10	6	6	4	2	0	0	5
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - positivo	1	2	4	0	2	0	0	0	0	9
Faz. 1 - Grupo 2 - positivo	1	1	1	1	1	1	1	0	0	7
Faz. 1 - Grupo 3 - positivo	0	2	1	2	0	1	0	0	0	6
Faz 1 - total - positivo	2	5	6	3	3	2	1	0	0	22
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz. 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	15	15	15	15	11	4	132
Faz. 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 1 - total	61	61	61	54	54	54	42	27	8	422
FAZENDA 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - % quartos pos.	30	14	23	10	8	13	11	11	9	15
Faz. 2 - Grupo 2 - % quartos pos.	3	3	3	5	3	0	3	0	0	2
Faz. 2 - Grupo 3 - % quartos pos.	10	5	3	5	10	10	11	10	0	7
Faz 2 - total - % quartos pos.	15	7	9	7	7	8	8	6	4	8
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - positivo	13	6	9	4	3	5	2	2	1	45
Faz. 2 - Grupo 2 - positivo	1	1	1	2	1	0	1	0	0	7
Faz. 2 - Grupo 3 - positivo	4	2	1	2	4	4	3	2	0	22
Faz 2 - total - positivo	18	9	11	8	8	9	6	4	1	74
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - total	43	43	39	39	39	39	19	19	11	291
Faz. 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz. 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	40	40	40	28	20	8	296
Faz 2 - total	123	123	119	119	119	119	79	63	27	891
FAZENDA 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - % quartos pos.	18	5	3	10	9	0	13	0	0	7
Faz. 3 - Grupo 2 - % quartos pos.	9	7	11	11	16	8	17	7	0	11
Faz. 3 - Grupo 3 - % quartos pos.	6	6	3	3	14	9	7	13	6	7
Faz 3 - total - % quartos pos.	11	6	6	8	13	6	13	6	3	8
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - positivo	7	2	1	4	3	0	3	0	0	20
Faz. 3 - Grupo 2 - positivo	4	3	5	5	7	3	6	2	0	35
Faz. 3 - Grupo 3 - positivo	2	2	1	1	5	3	2	2	1	19
Faz 3 - total - positivo	13	7	7	10	15	6	11	4	1	74
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - total	40	40	40	40	35	28	24	24	12	283
Faz. 3 - Grupo 2 - total	44	44	44	44	43	40	36	28	8	331
Faz. 3 - Grupo 3 - total	35	35	35	35	35	35	28	16	16	270
Faz 3 - total	119	119	119	119	113	103	88	68	36	884

Anexo 3 - Resultados dos exames CMT por grupo.

Grupo 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - positivo	14	18	19	13	17	16	13	7	3	120
Faz 2 - Grupo 1 - positivo	20	20	23	20	27	28	15	17	11	181
Faz 3 - Grupo 1 - positivo	26	20	17	16	19	16	15	21	11	161
Total - Grupo 1 - positivo	60	58	59	49	63	60	43	45	25	462
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz 2 - Grupo 1 - total	43	43	39	39	39	39	19	19	11	291
Faz 3 - Grupo 1 - total	40	40	40	40	35	28	24	24	12	283
Total - Grupo 1	106	106	102	99	94	87	59	55	27	735
% de quartos positivos - Grupo 1	57	55	58	49	67	69	73	82	93	63
Grupo 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - positivo	9	10	15	12	13	13	13	11	4	100
Faz 2 - Grupo 2 - positivo	21	16	15	21	17	20	23	16	6	155
Faz 3 - Grupo 2 - positivo	33	22	31	30	24	27	28	23	7	225
Total - Grupo 2 - positivo	63	48	61	63	54	60	64	50	17	480
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	15	15	15	15	11	4	132
Faz 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz 3 - Grupo 2 - total	44	44	44	44	43	40	36	28	8	331
Total - Grupo 2	103	103	103	99	98	95	83	63	20	767
% de quartos positivos - Grupo 2	61	47	59	64	55	63	77	79	85	63
Grupo 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - positivo	11	14	17	13	15	16	9	4	0	103
Faz 2 - Grupo 3 - positivo	23	14	17	20	21	23	20	15	8	161
Faz 3 - Grupo 3 - positivo	15	16	15	16	27	23	16	11	15	154
Total - Grupo 3 - positivo	49	44	49	49	63	62	45	30	23	414
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	40	40	40	28	20	8	296
Faz 3 - Grupo 3 - total	35	35	35	35	35	35	28	16	16	270
Total - Grupo 3	94	94	94	94	94	94	67	40	24	695
% de quartos positivos - Grupo 3	52	47	52	52	67	66	67	75	96	60
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
% quartos pos. Grupo 1 - total	57	55	58	49	67	69	73	82	93	63
% quartos pos. Grupo 2 - total	61	47	59	64	55	63	77	79	85	63
% quartos pos. Grupo 3 - total	52	47	52	52	67	66	67	75	96	60

Anexo 4 - Resultados dos exames CMT por fazenda.

FAZENDA 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 -% quartos pos.	61	78	83	65	85	80	81	58	75	75
Faz. 1 - Grupo 2 -% quartos pos.	47	53	79	80	87	87	87	100	100	76
Faz. 1 - Grupo 3 -% quartos pos.	57	74	89	68	79	84	82	100	-	80
Faz 1 - total -% quartos pos.	55	69	84	70	83	83	83	81	88	75
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - positivo	14	18	19	13	17	16	13	7	3	120
Faz. 1 - Grupo 2 - positivo	9	10	15	12	13	13	13	11	4	100
Faz. 1 - Grupo 3 - positivo	11	14	17	13	15	16	9	4	0	99
Faz 1 - total - positivo	34	42	51	38	45	45	35	22	7	319
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz. 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	15	15	15	15	11	4	132
Faz. 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 1 - total	61	61	61	54	54	54	42	27	8	422
FAZENDA 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 -% quartos pos.	47	47	59	51	69	72	79	89	100	62
Faz. 2 - Grupo 2 -% quartos pos.	53	40	38	53	43	50	72	67	75	51
Faz. 2 - Grupo 3 -% quartos pos.	58	35	43	50	53	58	71	75	100	54
Faz 2 - total -% quartos pos.	52	41	46	51	55	60	73	76	93	56
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - positivo	20	20	23	20	27	28	15	17	11	181
Faz. 2 - Grupo 2 - positivo	21	16	15	21	17	20	23	16	6	155
Faz. 2 - Grupo 3 - positivo	23	14	17	20	21	23	20	15	8	161
Faz 2 - total - positivo	64	50	55	61	65	71	58	48	25	497
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - total	43	43	39	39	39	39	19	19	11	291
Faz. 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz. 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	40	40	40	28	20	8	296
Faz 2 - total	123	123	119	119	119	119	79	63	27	891
FAZENDA 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 -% quartos pos.	65	50	43	40	54	57	63	88	92	57
Faz. 3 - Grupo 2 -% quartos pos.	75	50	70	68	56	68	78	82	88	68
Faz. 3 - Grupo 3 -% quartos pos.	43	46	43	46	77	66	57	69	94	57
Faz 3 - total -% quartos pos.	62	49	53	52	62	64	67	81	92	61
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - positivo	26	20	17	16	19	16	15	21	11	161
Faz. 3 - Grupo 2 - positivo	33	22	31	30	24	27	28	23	7	225
Faz. 3 - Grupo 3 - positivo	15	16	15	16	27	23	16	11	15	154
Faz 3- total - positivo	74	58	63	62	70	66	59	55	33	540
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - total	40	40	40	40	35	28	24	24	12	283
Faz. 3 - Grupo 2 - total	44	44	44	44	43	40	36	28	8	331
Faz. 3 - Grupo 3 - total	35	35	35	35	35	35	28	16	16	270
Faz 3 - total	119	119	119	119	113	103	88	68	36	884

Anexo 5 - Resultados dos exames microbiológicos por grupo.

Grupo 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - positivo	10	13	11	8	10	11	12	5	2	82
Faz 2 - Grupo 1 - positivo	21	13	10	19	21	11	9	8	7	119
Faz 3 - Grupo 1 - positivo	16	11	12	15	13	7	11	15	8	108
Total - Grupo 1 - positivo	47	37	33	42	44	29	32	28	17	309
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz 2 - Grupo 1 - total	43	43	38	39	39	39	19	19	11	290
Faz 3 - Grupo 1 - total	39	40	40	39	35	28	24	24	12	281
Total - Grupo 1	105	106	101	98	94	87	59	55	27	732
% de quartos positivos - Grupo 1	44	35	33	43	47	33	54	51	63	42
Grupo 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - positivo	14	12	17	7	10	7	9	4	0	80
Faz 2 - Grupo 2 - positivo	17	15	12	17	15	19	13	9	4	121
Faz 3 - Grupo 2 - positivo	18	23	20	21	25	26	20	18	7	178
Total - Grupo 2 - positivo	49	50	49	45	50	52	42	31	11	379
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	14	15	15	15	11	4	131
Faz 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz 3 - Grupo 2 - total	44	43	44	44	42	40	36	28	8	329
Total - Grupo 2	103	102	103	98	97	95	83	63	20	764
% de quartos positivos - Grupo 2	47	49	48	46	52	55	51	49	55	50
Grupo 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - positivo	10	17	13	17	13	14	10	2	0	96
Faz 2 - Grupo 3 - positivo	16	20	19	19	20	24	15	13	7	153
Faz 3 - Grupo 3 - positivo	15	18	19	18	23	21	15	9	14	152
Total - Grupo 3 - positivo	41	55	51	54	56	59	40	24	21	401
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	39	40	40	28	20	8	295
Faz 3 - Grupo 3 - total	31	35	35	35	35	35	28	16	16	266
Total - Grupo 3	90	94	94	93	94	94	67	40	24	690
% de quartos positivos - Grupo 3	45	59	54	58	60	63	60	60	88	58
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
% quartos pos. Grupo 1 - total	45	35	33	43	47	33	54	51	63	42
% quartos pos. Grupo 2 - total	48	49	48	46	52	55	51	49	55	50
% quartos pos. Grupo 3 - total	46	59	54	58	60	63	60	60	88	58

Anexo 6 - Resultados dos exames microbiológicos por fazenda.

FAZENDA 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 -% quartos pos.	43	57	48	40	50	55	75	42	50	51
Faz. 1 - Grupo 2 -% quartos pos.	74	63	89	50	67	47	60	36	0	61
Faz. 1 - Grupo 3 -% quartos pos.	53	89	68	89	68	74	91	50	-	74
Faz 1 - total -% quartos pos.	56	69	67	60	61	59	74	41	25	61
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - positivo	10	13	11	8	10	11	12	5	2	82
Faz. 1 - Grupo 2 - positivo	14	12	17	7	10	7	9	4	0	80
Faz. 1 - Grupo 3 - positivo	10	17	13	17	13	14	10	2	0	96
Faz 1 - total - positivo	34	42	41	32	33	32	31	11	2	258
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz. 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	14	15	15	15	11	4	131
Faz. 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 1 - total	61	61	61	53	54	54	42	27	8	421
FAZENDA 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 -% quartos pos.	49	30	26	49	54	28	47	42	64	41
Faz. 2 - Grupo 2 -% quartos pos.	43	38	30	43	38	48	41	38	50	40
Faz. 2 - Grupo 3 -% quartos pos.	40	50	48	49	50	60	54	65	88	52
Faz 2 - total -% quartos pos.	44	39	35	47	47	45	47	48	67	44
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - positivo	21	13	10	19	21	11	9	8	7	119
Faz. 2 - Grupo 2 - positivo	17	15	12	17	15	19	13	9	4	121
Faz. 2 - Grupo 3 - positivo	16	20	19	19	20	24	15	13	7	153
Faz 2 - total - positivo	54	48	41	55	56	54	37	30	18	393
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - total	43	43	38	39	39	39	19	19	11	290
Faz. 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz. 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	39	40	40	28	20	8	295
Faz 2 - total	123	123	118	118	119	119	79	63	27	889
FAZENDA 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 -% quartos pos.	41	28	30	38	37	25	46	63	67	38
Faz. 3 - Grupo 2 -% quartos pos.	41	53	45	48	60	65	56	64	88	54
Faz. 3 - Grupo 3 -% quartos pos.	48	51	54	51	66	60	54	56	88	57
Faz. 3 - total -% quartos pos.	43	44	43	46	54	52	52	62	81	50
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - positivo	16	11	12	15	13	7	11	15	8	108
Faz. 3 - Grupo 2 - positivo	18	23	20	21	25	26	20	18	7	178
Faz. 3 - Grupo 3 - positivo	15	18	19	18	23	21	15	9	14	152
Faz 3 - total - positivo	49	52	51	54	61	54	46	42	29	438
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - total	39	40	40	39	35	28	24	24	12	281
Faz. 3 - Grupo 2 - total	44	43	44	44	42	40	36	28	8	329
Faz. 3 - Grupo 3 - total	31	35	35	35	35	35	28	16	16	266
	114	118	119	118	112	103	88	68	36	876

Anexo 7 - Resultados dos exames microbiológicos, quanto as infecções por *Staphylococcus* sp, por grupo.

Grupo 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - positivo	4	5	7	6	6	8	6	4	0	46
Faz 2 - Grupo 1 - positivo	8	3	1	3	4	0	1	3	1	24
Faz 3 - Grupo 1 - positivo	5	2	3	3	3	1	5	2	3	27
Total - Grupo 1 - positivo	17	10	11	12	13	9	12	9	4	97
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz 2 - Grupo 1 - total	43	43	38	39	39	39	19	19	11	290
Faz 3 - Grupo 1 - total	39	40	40	39	35	28	24	24	12	281
Total - Grupo 1	105	106	101	98	94	87	59	55	27	732
% de quartos positivos - Grupo 1	16	9	11	12	14	10	20	16	15	13
Grupo 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - positivo	12	8	13	4	5	5	4	2	0	53
Faz 2 - Grupo 2 - positivo	6	0	3	2	1	0	0	0	0	12
Faz 3 - Grupo 2 - positivo	9	7	5	7	8	7	6	7	3	59
Total - Grupo 2 - positivo	27	15	21	13	14	12	10	9	3	124
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	14	15	15	15	11	4	131
Faz 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz 3 - Grupo 2 - total	44	43	44	44	42	40	36	28	8	329
Total - Grupo 2	103	102	103	98	97	95	83	63	20	764
% de quartos positivos - Grupo 2	26	15	20	13	14	13	12	14	15	16
Grupo 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - positivo	8	9	12	9	9	9	8	2	0	66
Faz 2 - Grupo 3 - positivo	8	4	5	2	3	3	2	1	1	29
Faz 3 - Grupo 3 - positivo	11	5	8	4	8	7	2	2	7	54
Total - Grupo 3 - positivo	27	18	25	15	20	19	12	5	8	149
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	39	40	40	28	20	8	295
Faz 3 - Grupo 3 - total	31	35	35	35	35	35	28	16	16	266
Total - Grupo 3	90	94	94	93	94	94	67	40	24	690
% de quartos positivos - Grupo 3	30	19	27	16	21	20	18	13	33	22
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
% quartos pos. Grupo 1 - total	16	9	11	12	14	10	20	16	15	13
% quartos pos. Grupo 2 - total	26	15	20	13	14	13	12	14	15	16
% quartos pos. Grupo 3 - total	30	19	27	16	21	20	18	13	33	22

Anexo 8 - Resultados dos exames microbiológicos, quanto as infecções por *Staphylococcus* sp, por fazenda.

FAZENDA 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 -% quartos pos.	17	22	30	30	30	40	38	33	0	29
Faz. 1 - Grupo 2 -% quartos pos.	63	42	68	29	33	33	27	18	0	40
Faz. 1 - Grupo 3 -% quartos pos.	42	47	63	47	47	47	73	50	-	51
Faz 1 - total -% quartos pos.	39	36	52	36	37	41	43	30	0	39
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - positivo	4	5	7	6	6	8	6	4	0	46
Faz. 1 - Grupo 2 - positivo	12	8	13	4	5	5	4	2	0	53
Faz. 1 - Grupo 3 - positivo	8	9	12	9	9	9	8	2	0	66
Faz 1 - total - positivo	24	22	32	19	20	22	18	8	0	165
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz. 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	14	15	15	15	11	4	131
Faz. 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 1 - total	61	61	61	53	54	54	42	27	8	421
FAZENDA 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 -% quartos pos.	19	7	3	8	10	0	5	16	9	8
Faz. 2 - Grupo 2 -% quartos pos.	15	0	8	5	3	0	0	0	0	4
Faz. 2 - Grupo 3 -% quartos pos.	20	10	13	5	8	8	7	5	13	10
Faz 2 - total -% quartos pos.	18	6	8	6	7	3	4	6	7	7
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - positivo	8	3	1	3	4	0	1	3	1	24
Faz. 2 - Grupo 2 - positivo	6	0	3	2	1	0	0	0	0	12
Faz. 2 - Grupo 3 - positivo	8	4	5	2	3	3	2	1	1	29
Faz 2 - total - positivo	22	7	9	7	8	3	3	4	2	65
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - total	43	43	38	39	39	39	19	19	11	290
Faz. 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz. 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	39	40	40	28	20	8	295
Faz 2 - total	123	123	118	118	119	119	79	63	27	889
FAZENDA 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 -% quartos pos.	13	5	8	8	9	4	21	8	25	10
Faz. 3 - Grupo 2 -% quartos pos.	20	16	11	16	19	18	17	25	38	18
Faz. 3 - Grupo 3 -% quartos pos.	35	14	23	11	23	2	7	13	44	20
Faz 3 - total -% quartos pos.	22	12	13	12	17	15	15	16	36	16
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - positivo	5	2	3	3	3	1	5	2	3	27
Faz. 3 - Grupo 2 - positivo	9	7	5	7	8	7	6	7	3	59
Faz. 3 - Grupo 3 - positivo	11	5	8	4	8	7	2	2	7	54
Faz 3- total - positivo	25	14	16	14	19	15	13	11	13	140
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - total	39	40	40	39	35	28	24	24	12	281
Faz. 3 - Grupo 2 - total	44	43	44	44	42	40	36	28	8	329
Faz. 3 - Grupo 3 - total	31	35	35	35	35	35	28	16	16	266
Faz 3 - total	114	118	119	118	112	103	88	68	36	876

Anexo 9 - Resultados dos exames microbiológicos, quanto as infecções por *Streptococcus* sp, por grupo.

Grupo 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - positivo	5	7	7	5	6	6	3	3	0	42
Faz 2 - Grupo 1 - positivo	3	2	1	2	3	0	1	0	0	12
Faz 3 - Grupo 1 - positivo	5	6	7	10	6	2	4	6	3	49
Total - Grupo 1 - positivo	13	15	15	17	15	8	8	9	3	103
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz 2 - Grupo 1 - total	43	43	38	39	39	39	19	19	11	290
Faz 3 - Grupo 1 - total	39	40	40	39	35	28	24	24	12	281
Total - Grupo 1	105	106	101	98	94	87	59	55	27	732
% de quartos positivos - Grupo 1	12	14	15	17	16	9	14	16	11	14
Grupo 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - positivo	3	1	1	2	2	1	3	0	0	13
Faz 2 - Grupo 2 - positivo	6	3	3	5	5	10	9	8	3	52
Faz 3 - Grupo 2 - positivo	4	4	6	6	4	5	3	2	0	34
Total - Grupo 2 - positivo	13	8	10	13	11	16	15	10	3	99
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	14	15	15	15	11	4	131
Faz 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz 3 - Grupo 2 - total	44	43	44	44	42	40	36	28	8	329
Total - Grupo 2	103	102	103	98	97	95	83	63	20	764
% de quartos positivos - Grupo 2	13	8	10	13	11	17	18	16	15	13
Grupo 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - positivo	1	2	1	2	2	2	0	0	0	10
Faz 2 - Grupo 3 - positivo	3	4	6	5	5	5	3	2	3	36
Faz 3 - Grupo 3 - positivo	3	6	7	7	13	8	9	5	5	63
Total - Grupo 3 - positivo	7	12	14	14	20	15	12	7	8	109
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	39	40	40	28	20	8	295
Faz 3 - Grupo 3 - total	31	35	35	35	35	35	28	16	16	266
Total - Grupo 3	90	94	94	93	94	94	67	40	24	690
% de quartos positivos - Grupo 3	8	13	15	15	21	16	18	18	33	16
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
% quartos pos. Grupo 1 - total	12	14	15	17	16	9	14	16	11	14
% quartos pos. Grupo 2 - total	13	8	10	13	11	17	18	16	15	13
% quartos pos. Grupo 3 - total	8	13	15	15	21	16	18	18	33	16

Anexo 10 - Resultados dos exames microbiológicos, quanto as infecções por *Streptococcus* sp, por fazenda.

FAZENDA 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 -% quartos pos.	22	30	30	25	30	30	19	25	0	26
Faz. 1 - Grupo 2 -% quartos pos.	16	5	5	14	13	7	20	0	0	10
Faz. 1 - Grupo3 -% quartos pos.	5	11	5	11	11	11	0	0	-	8
Faz 1 - total -% quartos pos.	15	16	15	17	19	17	14	11	0	15
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - positivo	5	7	7	5	6	6	3	3	0	42
Faz. 1 - Grupo 2 - positivo	3	1	1	2	2	1	3	0	0	13
Faz. 1 - Grupo 3 - positivo	1	2	1	2	2	2	0	0	0	10
Faz 1 - total - positivo	9	10	9	9	10	9	6	3	0	65
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz. 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	14	15	15	15	11	4	131
Faz. 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 1 - total	61	61	61	53	54	54	42	27	8	421
FAZENDA 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 -% quartos pos.	7	5	3	5	8	0	5	0	0	4
Faz. 2 - Grupo 2 -% quartos pos.	15	8	8	13	13	25	28	33	38	17
Faz. 2 - Grupo 3 -% quartos pos.	8	10	15	13	13	13	11	10	38	12
Faz 2 - total -% quartos pos.	10	7	8	10	11	13	16	16	22	11
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - positivo	3	2	1	2	3	0	1	0	0	12
Faz. 2 - Grupo 2 - positivo	6	3	3	5	5	10	9	8	3	52
Faz. 2 - Grupo 3 - positivo	3	4	6	5	5	5	3	2	3	36
Faz 2 - total - positivo	12	9	10	12	13	15	13	10	6	100
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - total	43	43	38	39	39	39	19	19	11	290
Faz. 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz. 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	39	40	40	28	20	8	295
Faz 2 - total	123	123	118	118	119	119	79	63	27	889
FAZENDA 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 -% quartos pos.	13	15	18	26	17	7	17	25	25	17
Faz. 3 - Grupo 2 -% quartos pos.	9	9	14	14	10	13	8	7	0	10
Faz. 3 - Grupo 3 -% quartos pos.	10	17	20	20	37	23	32	31	31	24
Faz 3 - total -% quartos pos.	11	14	17	19	21	15	18	19	22	17
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - positivo	5	6	7	10	6	2	4	6	3	49
Faz. 3 - Grupo 2 - positivo	4	4	6	6	4	5	3	2	0	34
Faz. 3 - Grupo 3 - positivo	3	6	7	7	13	8	9	5	5	63
Faz 3- total - positivo	12	16	20	23	23	15	16	13	8	146
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - total	39	40	40	39	35	28	24	24	12	281
Faz. 3 - Grupo 2 - total	44	43	44	44	42	40	36	28	8	329
Faz. 3 - Grupo 3 - total	31	35	35	35	35	35	28	16	16	266
Faz 3 - total	114	118	119	118	112	103	88	68	36	876

Anexo 11 - Resultados dos exames microbiológicos, quanto as infecções por *Corynebacterium* sp, por grupo.

Grupo 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - positivo	2	3	1	0	2	2	5	1	2	18
Faz 2 - Grupo 1 - positivo	6	7	8	16	17	10	9	5	6	84
Faz 3 - Grupo 1 - positivo	11	5	5	4	2	5	2	6	3	43
Total - Grupo 1 - positivo	19	15	14	20	21	17	16	12	11	145
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz 2 - Grupo 1 - total	43	43	38	39	39	39	19	19	11	290
Faz 3 - Grupo 1 - total	39	40	40	39	35	28	24	24	12	281
Total - Grupo 1	105	106	101	98	94	87	59	55	27	732
% de quartos positivos - Grupo 1	18	14	14	20	22	20	27	22	41	20
Grupo 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - positivo	3	7	4	1	4	1	3	2	0	25
Faz 2 - Grupo 2 - positivo	6	12	6	13	10	8	7	1	1	64
Faz 3 - Grupo 2 - positivo	7	11	9	7	10	15	12	6	2	79
Total - Grupo 2 - positivo	16	30	19	21	24	24	22	9	3	168
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	14	15	15	15	11	4	131
Faz 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz 3 - Grupo 2 - total	44	43	44	44	42	40	36	28	8	329
Total - Grupo 2	103	102	103	98	97	95	83	63	20	764
% de quartos positivos - Grupo 2	16	29	18	21	25	25	27	14	15	22
Grupo 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - positivo	4	7	0	6	2	3	2	0	0	24
Faz 2 - Grupo 3 - positivo	7	14	9	12	15	16	12	10	3	98
Faz 3 - Grupo 3 - positivo	5	7	7	7	5	6	3	2	2	44
Total - Grupo 3 - positivo	16	28	16	25	22	25	17	12	5	166
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	39	40	40	28	20	8	295
Faz 3 - Grupo 3 - total	31	35	35	35	35	35	28	16	16	266
Total - Grupo 3	90	94	94	93	94	94	67	40	24	690
% de quartos positivos - Grupo 3	18	30	17	27	23	27	25	30	21	24
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
% quartos pos. Grupo 1 - total	18	14	14	20	22	20	27	22	41	20
% quartos pos. Grupo 2 - total	16	29	18	21	25	25	27	14	15	22
% quartos pos. Grupo 3 - total	18	30	17	27	23	27	25	30	21	24

Anexo 12 - Resultados dos exames microbiológicos, quanto as infecções por *Corynebacterium* sp, por fazenda.

FAZENDA 1										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 -% quartos pos.	9	13	4	0	10	10	31	8	50	11
Faz. 1 - Grupo 2 -% quartos pos.	16	37	21	7	27	7	20	18	0	19
Faz. 1 - Grupo 3 -% quartos pos.	21	37	0	32	11	16	18	0	-	19
Faz 1 - total -% quartos pos.	15	28	8	13	15	11	24	11	25	16
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - positivo	2	3	1	0	2	2	5	1	2	18
Faz. 1 - Grupo 2 - positivo	3	7	4	1	4	1	3	2	0	25
Faz. 1 - Grupo 3 - positivo	4	7	0	6	2	3	2	0	0	24
Faz 1 - total - positivo	9	17	5	7	8	6	10	3	2	67
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 1 - Grupo 1 - total	23	23	23	20	20	20	16	12	4	161
Faz. 1 - Grupo 2 - total	19	19	19	14	15	15	15	11	4	131
Faz. 1 - Grupo 3 - total	19	19	19	19	19	19	11	4	0	129
Faz 1 - total	61	61	61	53	54	54	42	27	8	421
FAZENDA 2										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 -% quartos pos.	14	16	21	41	44	26	47	26	55	29
Faz. 2 - Grupo 2 -% quartos pos.	15	30	15	33	25	20	22	4	13	21
Faz. 2 - Grupo 3 -% quartos pos.	18	35	23	31	38	40	43	50	38	33
Faz 2 - total -% quartos pos.	15	27	19	35	35	29	35	25	37	28
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - positivo	6	7	8	16	17	10	9	5	6	84
Faz. 2 - Grupo 2 - positivo	6	12	6	13	10	8	7	1	1	64
Faz. 2 - Grupo 3 - positivo	7	14	9	12	15	16	12	10	3	98
Faz 2 - total - positivo	19	33	23	41	42	34	28	16	10	246
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 2 - Grupo 1 - total	43	43	38	39	39	39	19	19	11	290
Faz. 2 - Grupo 2 - total	40	40	40	40	40	40	32	24	8	304
Faz. 2 - Grupo 3 - total	40	40	40	39	40	40	28	20	8	295
Faz 2 - total	123	123	118	118	119	119	79	63	27	889
FAZENDA 3										
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 -% quartos pos.	28	13	13	10	6	18	8	25	25	15
Faz. 3 - Grupo 2 -% quartos pos.	16	26	20	16	24	38	33	21	25	24
Faz. 3 - Grupo 3 -% quartos pos.	16	20	20	20	14	17	11	13	13	17
Faz 3 - total -% quartos pos.	20	19	18	15	15	25	19	21	19	19
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - positivo	11	5	5	4	2	5	2	6	3	43
Faz. 3 - Grupo 2 - positivo	7	11	9	7	10	15	12	6	2	79
Faz. 3 - Grupo 3 - positivo	5	7	7	7	5	6	3	2	2	44
Faz 3- total - positivo	23	23	21	18	17	26	17	14	7	166
Ordem de colheita	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
Faz. 3 - Grupo 1 - total	39	40	40	39	35	28	24	24	12	281
Faz. 3 - Grupo 2 - total	44	43	44	44	42	40	36	28	8	329
Faz. 3 - Grupo 3 - total	31	35	35	35	35	35	28	16	16	266
Faz 3 - total	114	118	119	118	112	103	88	68	36	876